

Ανοσολογία των αρθριτίδων: Γιατί δεν έχουμε θεραπεία για την Οστεοαρθρίτιδα;

Παναγιώτης Βλαχογιαννόπουλος

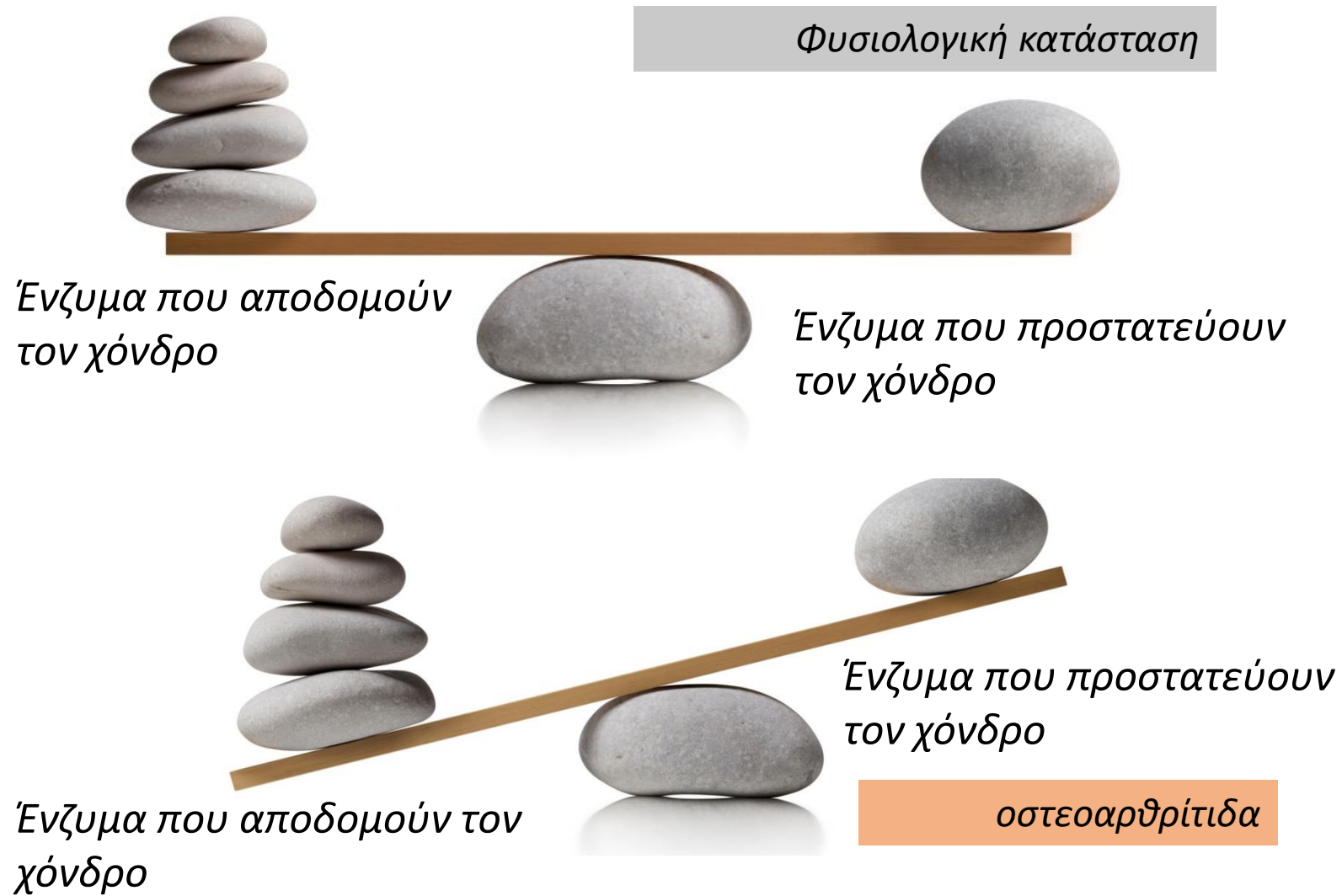
ΕΚΠΑ

15^ο Συνέδριο ΕΠΕΜΥ Ηράκλειο Κρήτης Σεπτέμβριος 2023

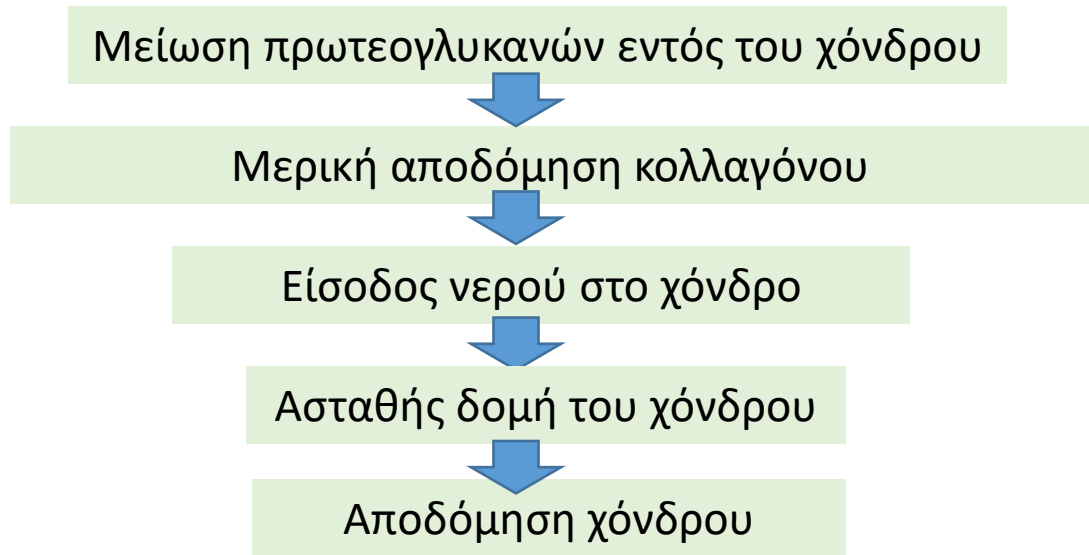
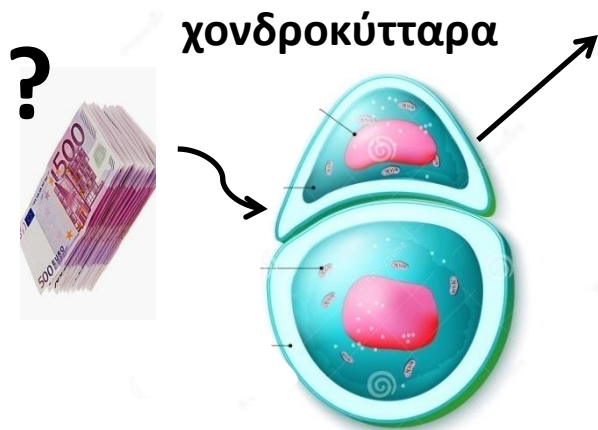
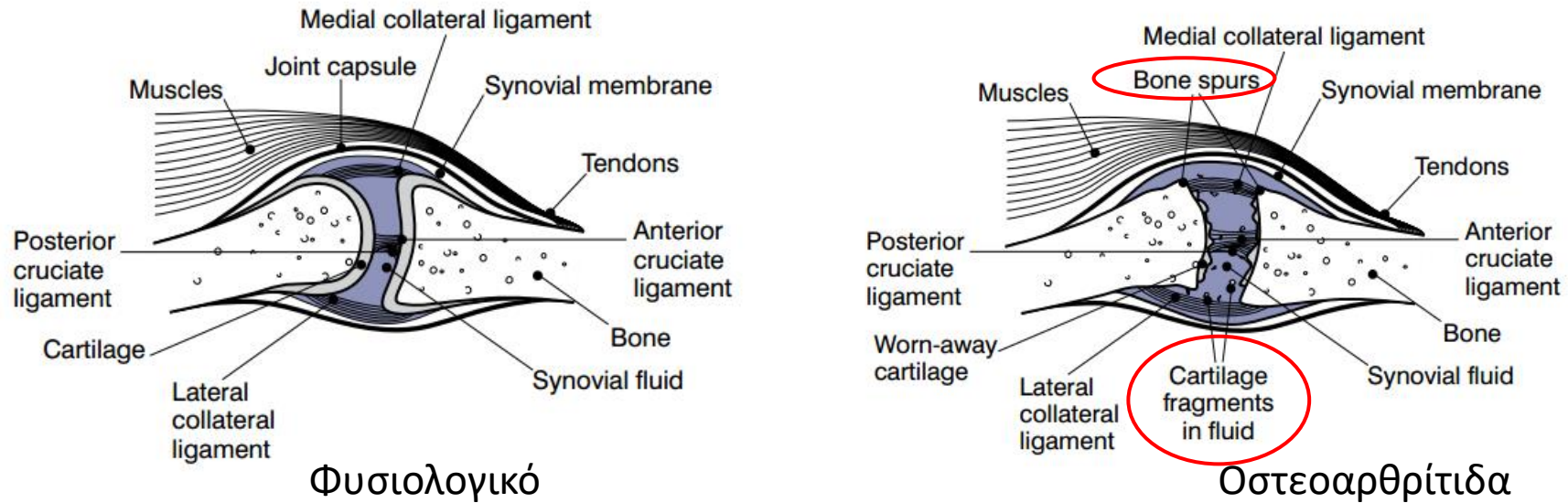
Σύγκρουση συμφερόντων

- Όχι

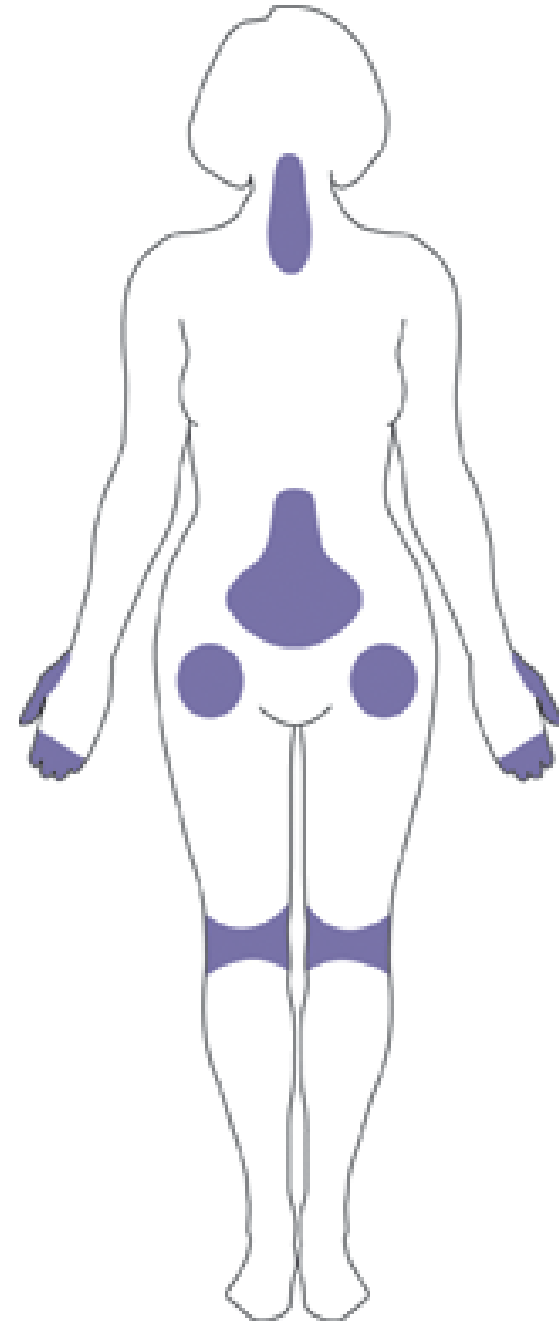
Η οστεοαρθρίτιδα είναι μια μεταβολική νόσος του οστού και του χόνδρου



Οστεοαρθρίτιδα: Χρόνια νόσος από φθορά και ρωγμή (wear and tear) του χόνδρου



Η οστεοαρθρίτιδα
συνήθως προσβάλλει
αρθρώσεις που
«σηκώνουν» βάρος



Η δομή της εξωκυτάριας θεμέλιας ουσίας

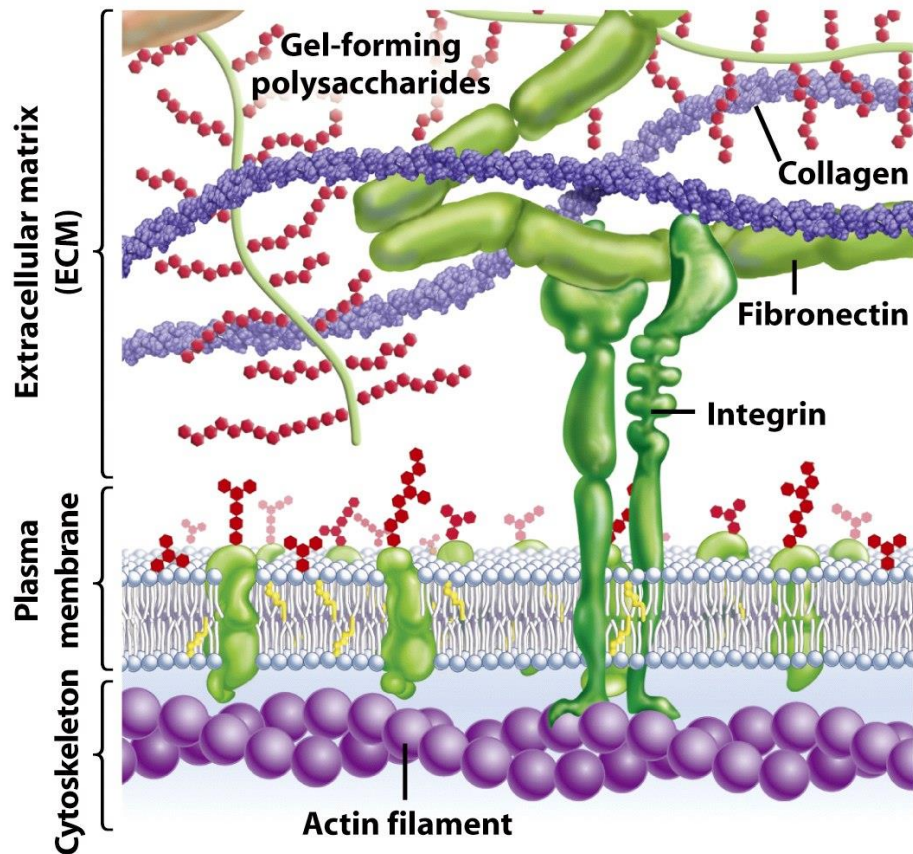


Figure 8-4 Biological Science, 2/e

© 2005 Pearson Prentice Hall, Inc.

- Πρωτεογλυκάνες
 - Θεική ηπαράνη
 - Θεική χονδροϊτίνη
 - Θεική κερατάνη
- Μη πρωτεογλυκανικοί πολυσακχαρίτες
 - Υαλουρονικό οξύ
- Ίνες
 - Κολλαγόνα
 - Ελαστίνες
- Άλλες ουσίες
 - Ινονεκτίνες
 - Λαμινίνες

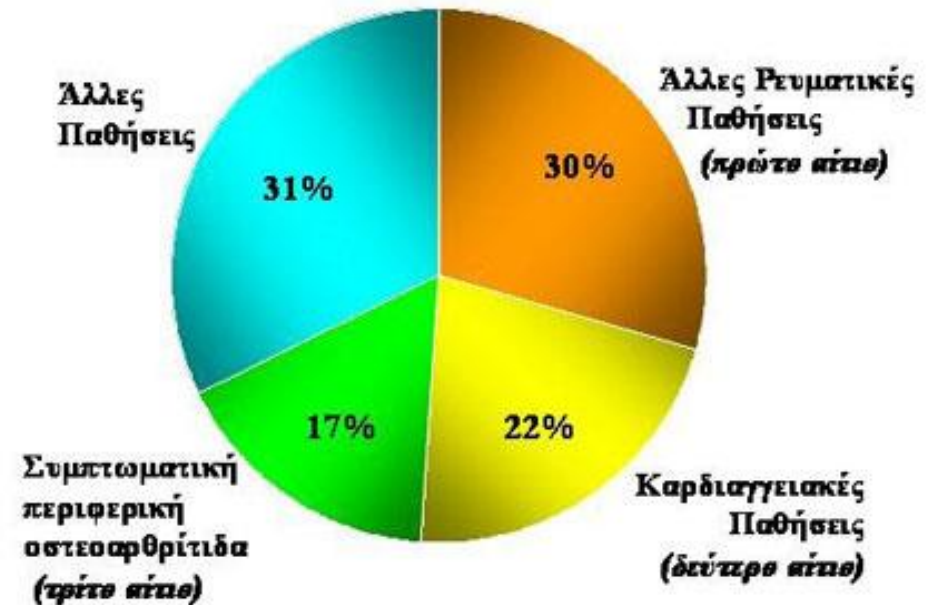
Οστεοαρθρίτιδα-Επιδημιολογία

USA: 2012: .52.5 εκατομμύρια άτομα

2040 (πρόβλεψη). >70.0 εκατομμύρια άτομα

2012: 11^η νόσος σχετιζόμενη με αναπηρία στον παγκόσμιο πληθυσμό κατά ΠΟΥ

Ελλάδα



Εικόνα 32. Αίτια μακροχρόνιας λειτουργικής αναπηρίας στο γενικό πληθυσμό ενηλίκων της Ελλάδος. Η συμπτωματική οστεοαρθρίτιδα των αρθρώσεων των άνω και κάτω άκρων είναι το τρίτο κατά σειρά συχνότητας αίτιο μακροχρόνιας λειτουργικής αναπηρίας.

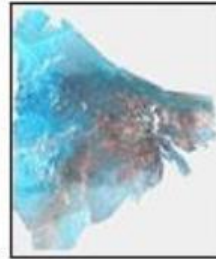
A. Ανδριανάκος, Ελληνικό Ίδρυμα Ρευματολογίας

Παθογένεση της Οστεοαρθρίτιδας-Μια νόσος με χρόνια, χαμηλής εντάσεως, φλεγμονή

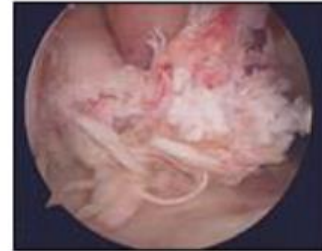
Η ΟΑ προσβάλλει όλους τους ιστούς της άρθρωσης

- Μηνίσκους (γόνατο)
- Συνδέσμους
- Αρθρικό υμένα
- Χόνδρο
- Οστό

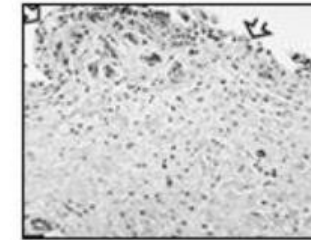
Meniscal damage



Ligament tears



Synovitis



Cytokines, chemokines, growth factors, MMPs

Βλάβη χόνδρου προκαλεί

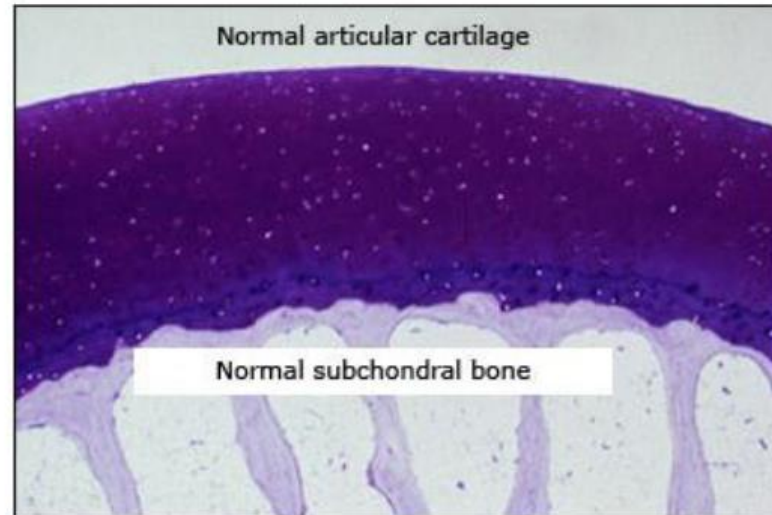
Αλλαγή της μηχανικής της άρθρωσης

- Φλεγμονή του υμένα
- Προφλεγμονώδεις παράγοντες

π παράγοντες

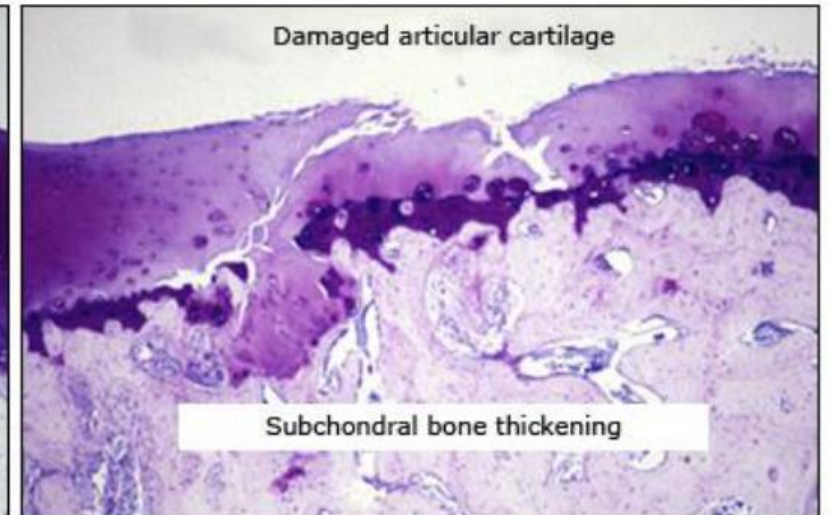
Ένζυμα αποδόμησης της θεμέλιας ουσίας

Απόπτωση και μικρός αριθμός χονδροκυττάρων



Normal articular cartilage

Normal subchondral bone



Damaged articular cartilage

Subchondral bone thickening

Φλεγμονώδεις αρθρίτιδες: Πολλά φάρμακα που στοχεύουν μηχανισμούς-Οστεοαρθρίτιδα: Κανένα φάρμακο-Γιατί;

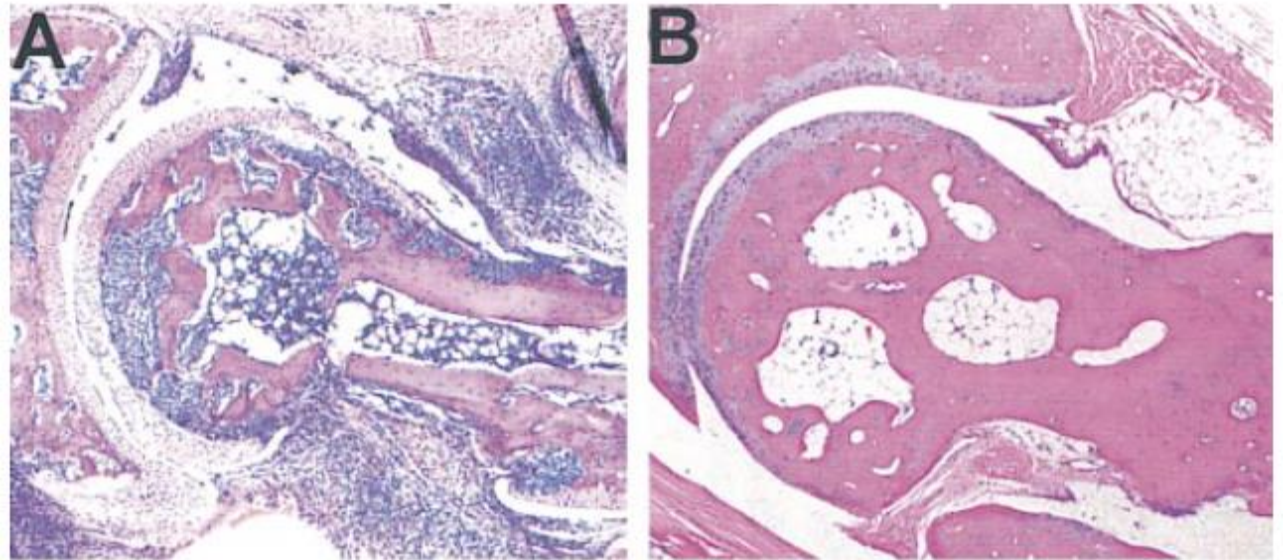
Φλεγμονώδεις αρθρίτιδες (Ρευματοειδής, ψωριασική, αγκυλοποιητική, εντεροπαθητικές, αντιδραστικές αρθρίτιδες)	Οστεοαρθρίτιδα
Προδιαθεσικοί παράγοντες λίγοι στενά συνδεδεμένοι με την παθογένεια της νόσου και μεταξύ τους	Προδιαθεσικοί παράγοντες πολλοί, ασύνδετοι εν πολλοίς μεταξύ τους (ή, δεν έχουμε ανακαλύψει τον κατάλληλο σύνδεσμο)
Μόρια-στόχοι που η δραστηριότητα ή η υπερέκφραση τους πυροδοτεί νόσο	Πολλά μόρια στόχοι αλλά κανένα αποφασιστικής σημασίας για την έναρξη της νόσου
Μόρια-στόχοι που η δέσμευσή τους σταματά την πρόοδο της νόσου	Δέσμευση μορίων-στόχων δύσκολη επειδή σχετίζεται με θεμελιώδεις λειτουργίες του οργανισμού
Συνεπή με την ανθρώπινη νόσο ζωικά μοντέλα	Πολύπλοκα και ακριβά ζωικά μοντέλα, τα οποία δεν παράγουν νόσο γρήγορα, ώστε να είναι παρατηρήσιμη
Γνωστή παθογένεια και παθοφυσιολογία	Παθογένεια και παθοφυσιολογία εν πολλοίς άγνωστη



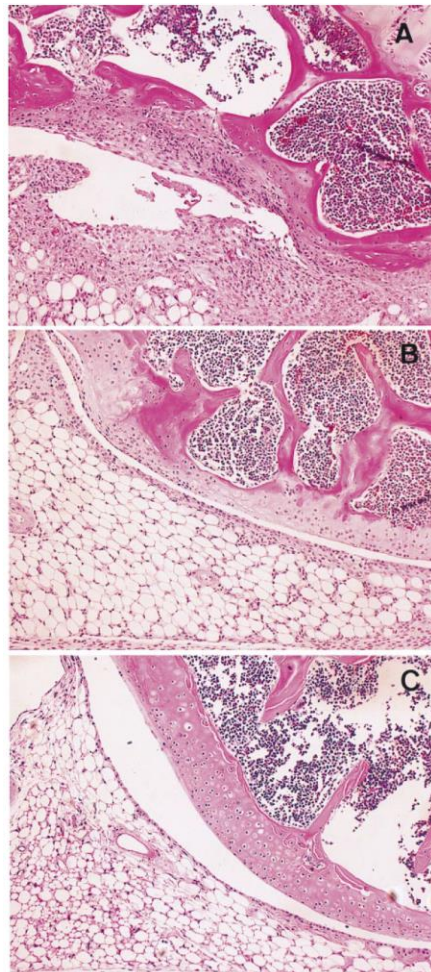
Διαγονιδιακά ποντίκια για τον ανθρώπινο TNF-α αναπτύσσουν ρευματοειδή αρθρίτιδα

- Ο ευφυής κ. Γ. Κόλλιας....
 - Εισήγαγε το γονίδιο του ανθρώπινου TNF-α (με κατάλληλο υποκινητή για ινοβλάστες)
 - Original inbred CBA, C57B1/6 and outbred NMRI mice.
 - Στόχος: Να θεραπεύσει τον καρκίνο!!!

*Τα ποντίκια ανέπτυξαν αρθρίτιδα,
μη διακρινόμενη από την
ρευματοειδή του ανθρώπου!!!*



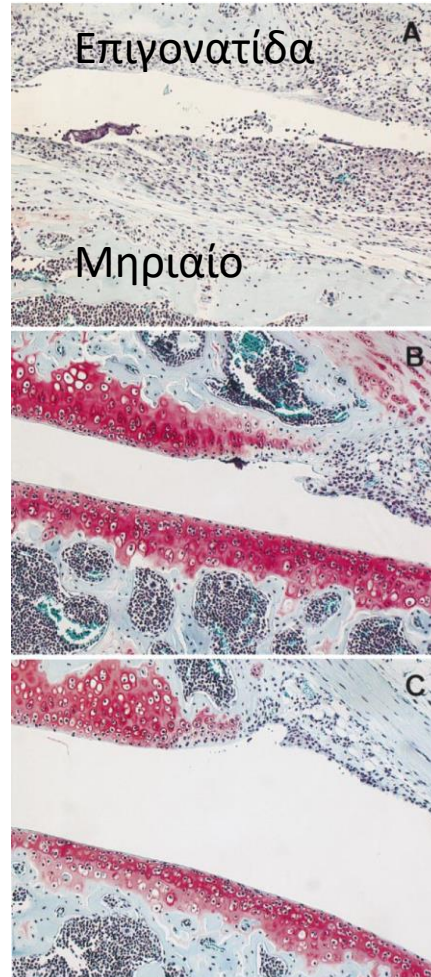
Η πειραματική αρθρίτιδα μέσω έγχυσης αντιγόνου είναι περισσότερο ήπια σε ζώα με απαλοιφή (knocked out) του γονίδιου της IL-6



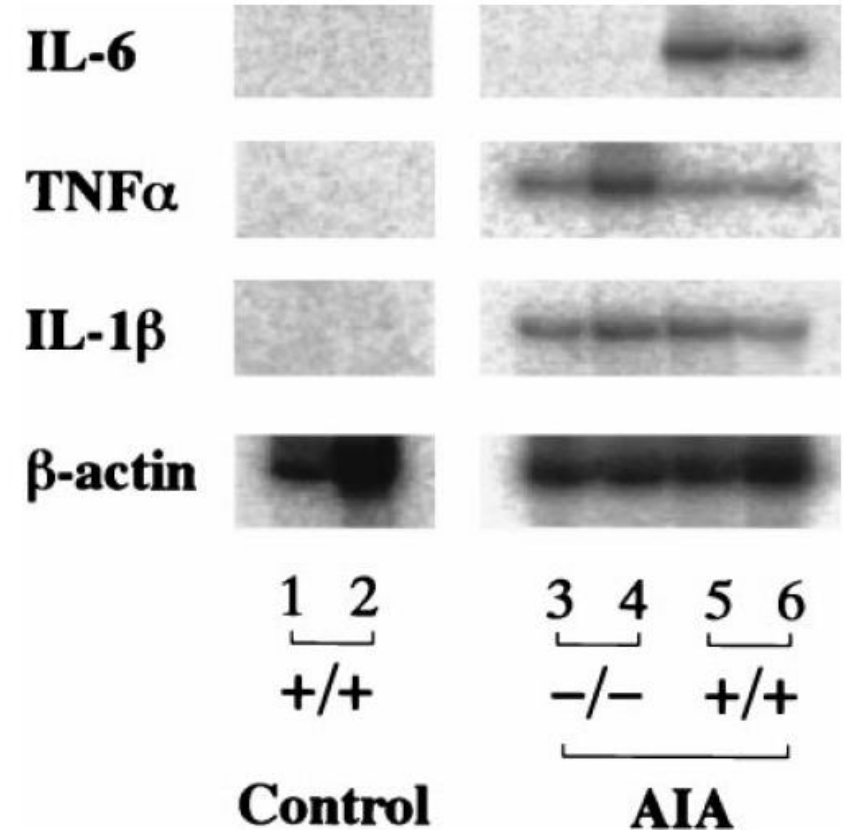
A. IL-6 +/+
(πειραματική αρθρίτιδα μέσω έγχυσης αντιγόνου)

B. IL-6 -/-
(πειραματική αρθρίτιδα μέσω έγχυσης αντιγόνου)

C. IL-6 +/+
injected with saline
(control)

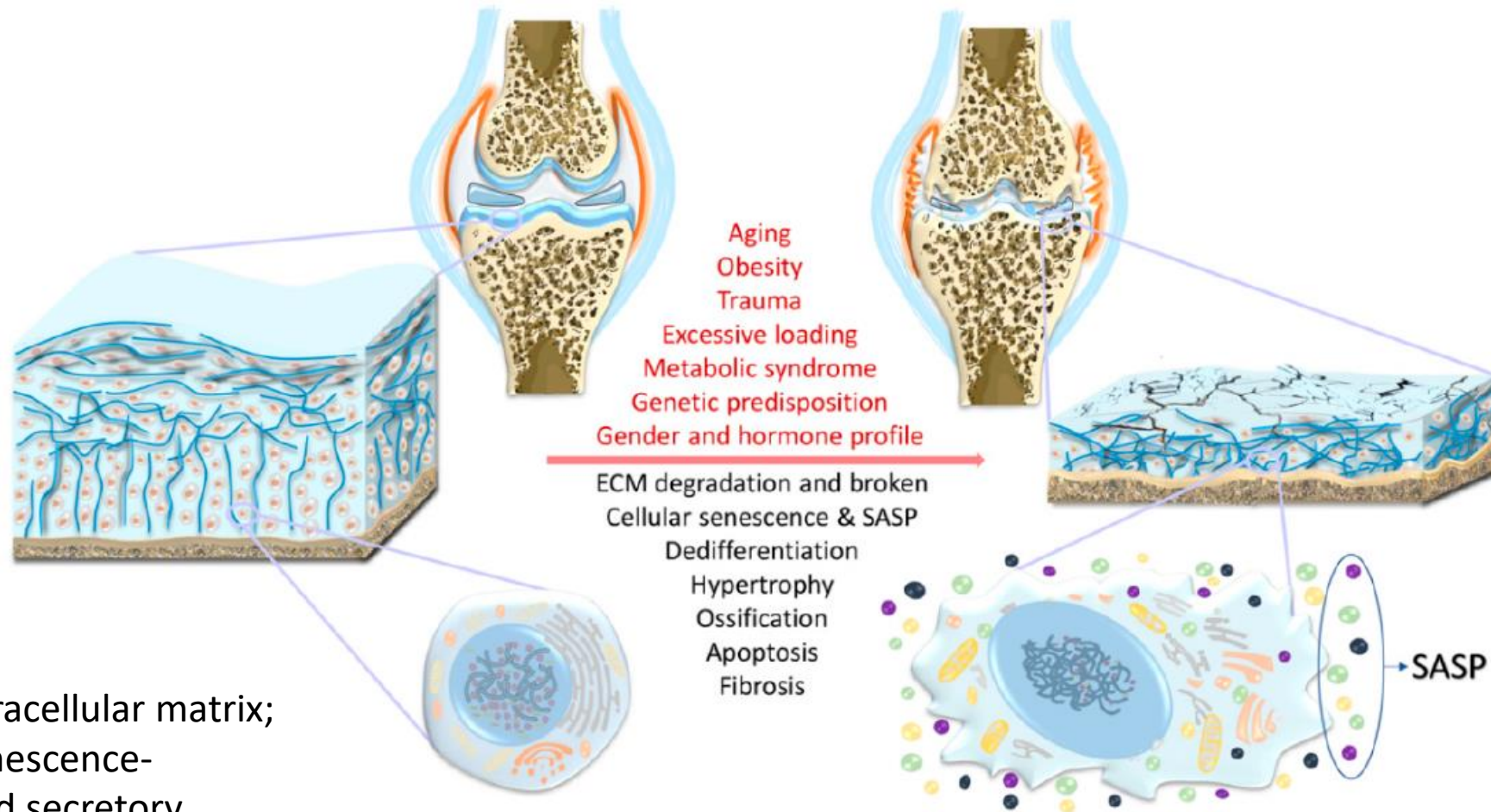


Επιγονατιδομηριαία συμβολή



(Antigen-induced arthritis)

Προδιαθεσικοί παράγοντες οστεοαρθρίτιδας

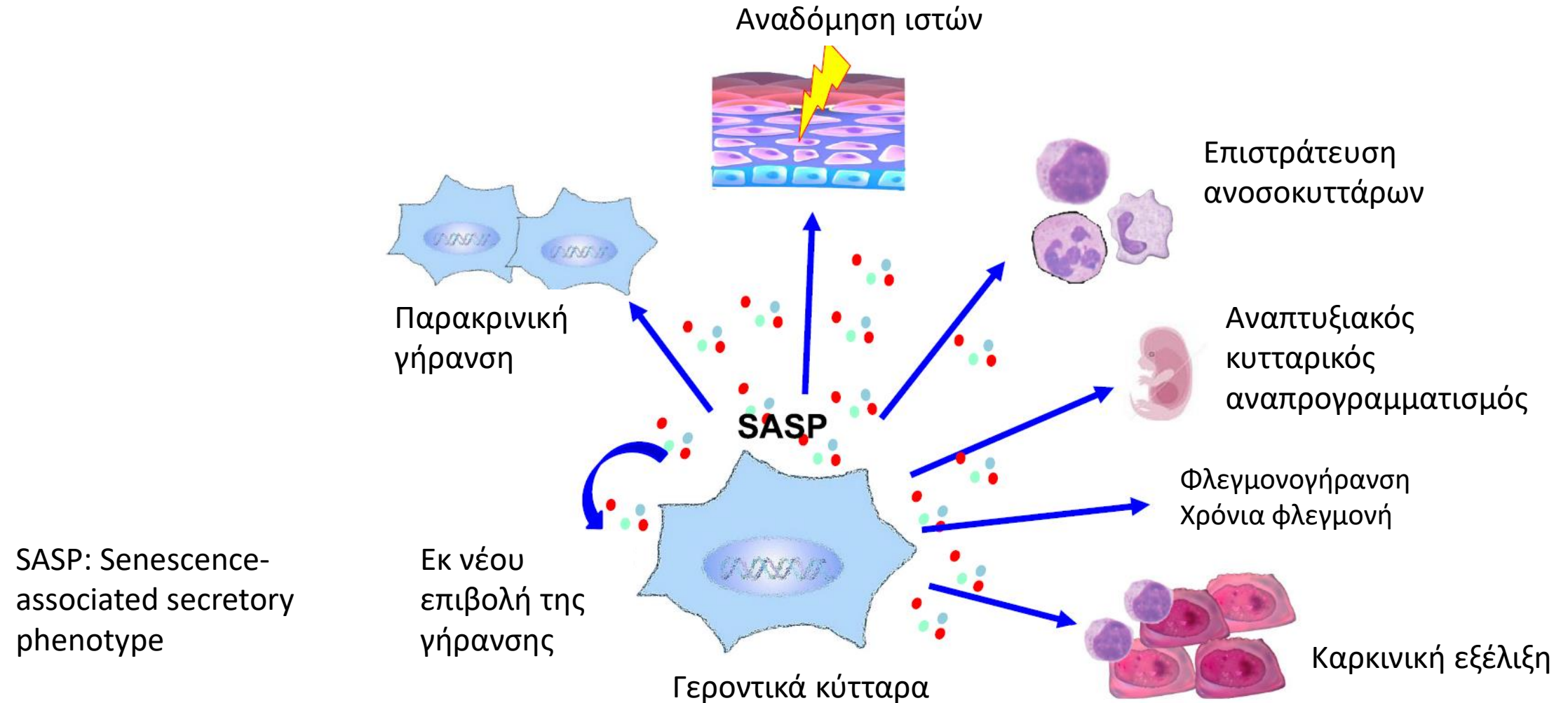


ECM: Extracellular matrix;
SASP: Senescence-
associated secretory
phenotype

Τα χονδροκύτταρα στην Οστεοαρθρίτιδα

- Υπερτροφικά
- Αποκτούν γεροντικό εκκριτικό φαινότυπο (senescence-associated secretory phenotype)(SASP)
 - Εκκρίνουν κυτταροκίνες φλεγμονής
 - Εκκρίνουν χυμοκίνες
 - Εκκρίνουν παράγοντες αναδόμησης της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας
 - Δυσλειτουργία μιτοχονδρίων
 - Απώλεια δομής και λειτουργίας ενδοπλασματικού δικτύου και Golgi
 - Μικρότερη ικανότητα συνθέσεως πρωτεϊνών
 - Μεγάλοι πυρήνες-συμπυκνωμένη χρωματίνη
 - Ανθεκτικά κύτταρα στην απόπτωση
- Ενδογενής μηχανισμός της παραγωγής του γεροντικού/εκκριτικού φαινοτύπου (SASP):
 - Ενεργοποίηση του μονοπατιού cGAS-STING (cyclic GMP-AMP synthase-stimulator of interferon genes)

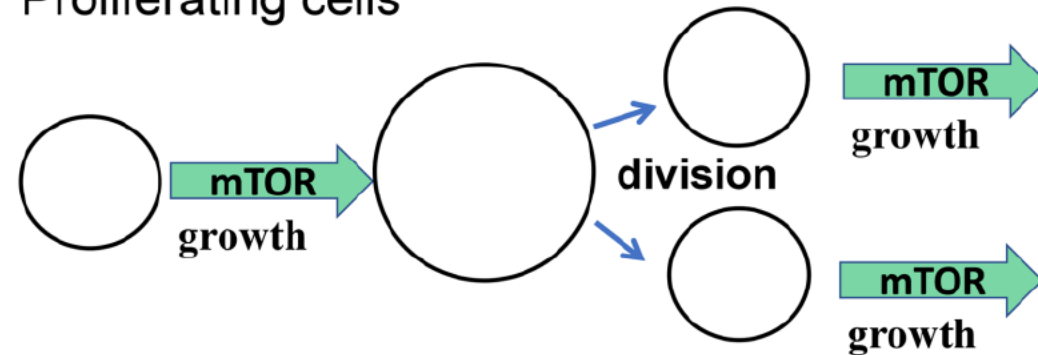
Επιπτώσεις του γεροντικού-εκκριτικού φαινότυπου σε όργανα και ιστούς



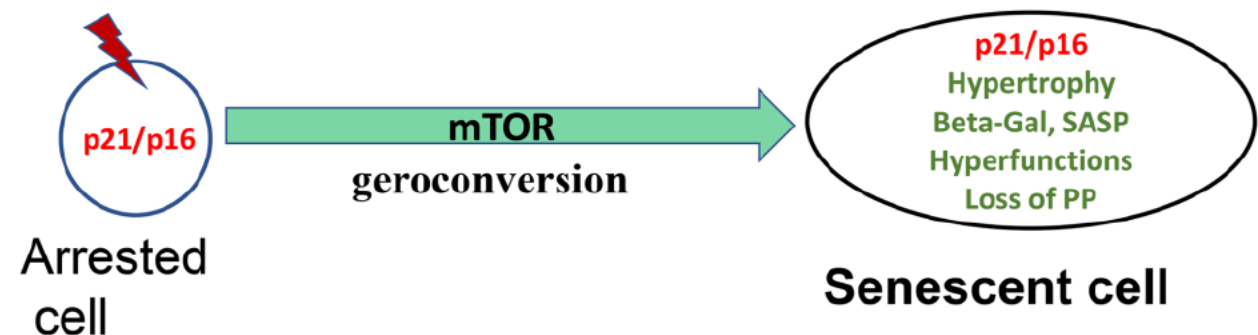
Η μετατροπή ενός κυττάρου σε γεροντικό απαιτεί να έχει διακοπεί ο κυτταρικός κύκλος και ακολούθως να επαχθεί ένα αυξητικό μήνυμα

- ✓ Κυτταρική υπερτροφία
- ✓ Επίπεδη μορφολογία
- ✓ Υπερλειτουργία λυσοσωματίων (χρώση β-Gal)
- ✓ Υπερλειτουργία SASP
- ✓ Αύξηση ιστοειδικών λειτουργιών

A Proliferating cells

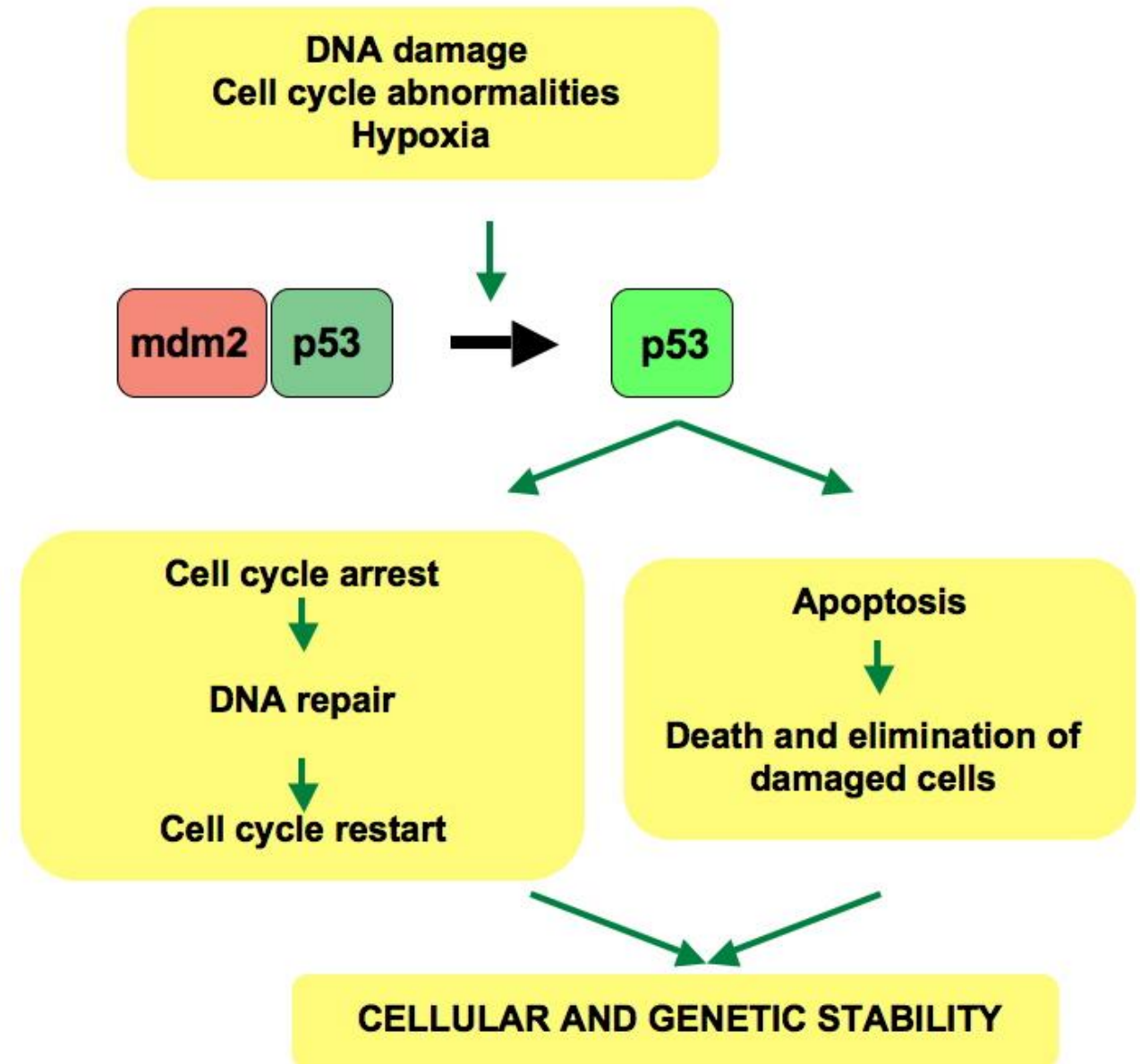


B Arrest



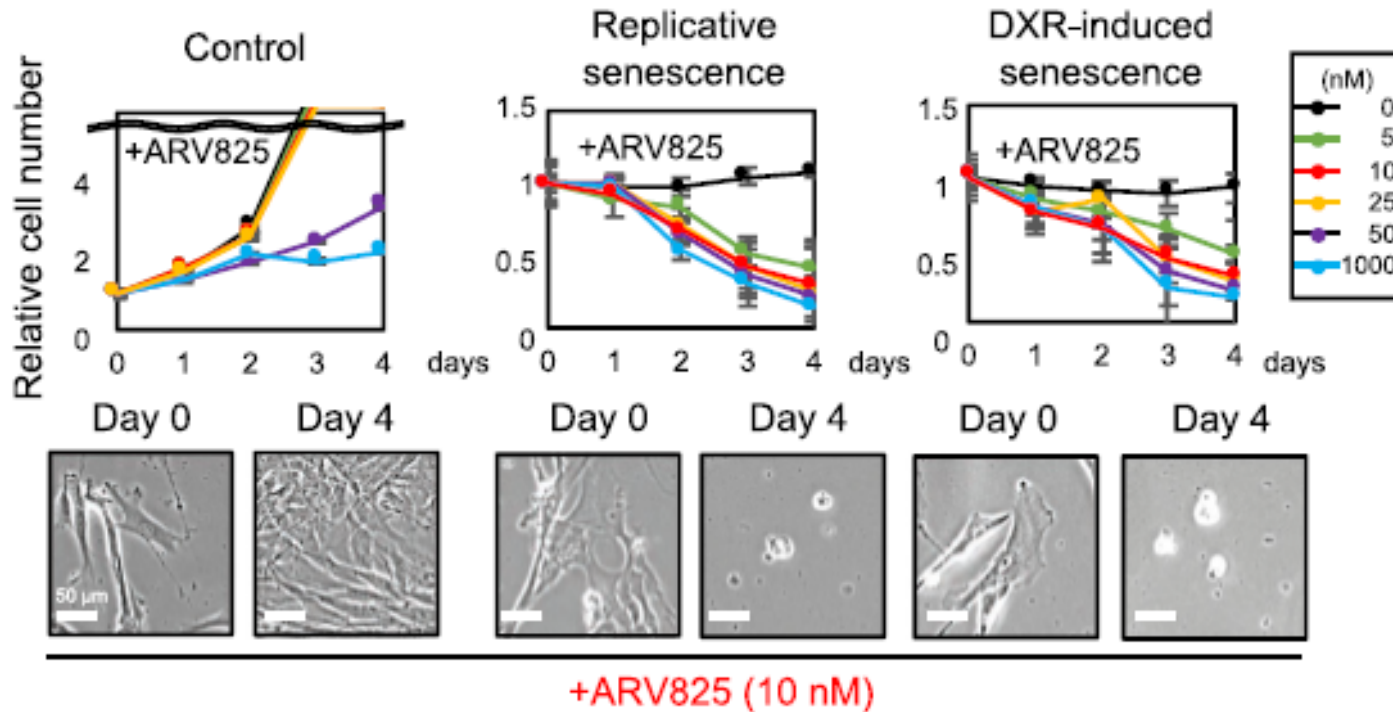
Η πρωτεΐνη p53 ενεργοποιείται από βλάβες του DNA και συμβάλλει στην επιδιόρθωση του και στην γενετική ευστάθεια του κυττάρου

Το πρώτο φαινόμενο που προκαλεί είναι διακοπή του κυτταρικού κύκλου και αυτό επιτελείται με ενεργοποίηση της μεταγραφής των γονιδίων των πρωτεϊνών p21 και p16

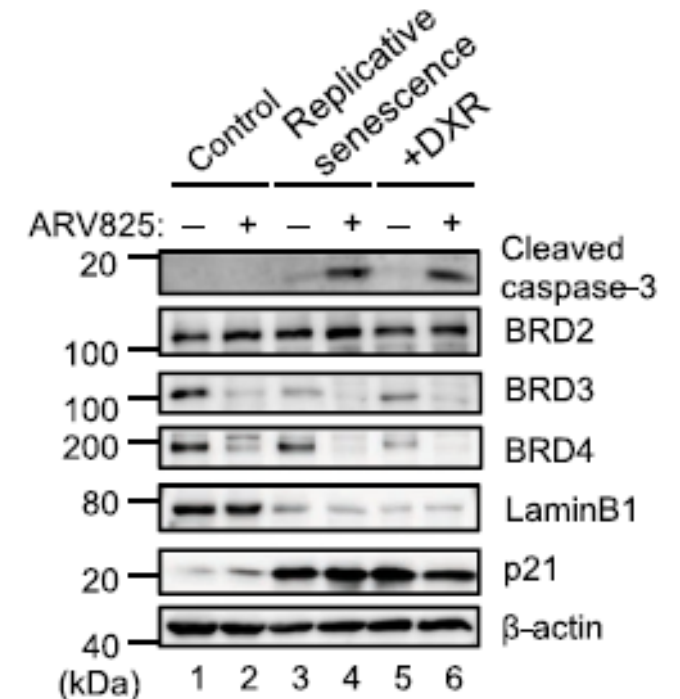


Το μόριο ARV825 μειώνει δραστικά τα γηρασμένα κύτταρα

b TIG-3 [infection with retrovirus encoding oncogenic Ras (+HRasV12)]

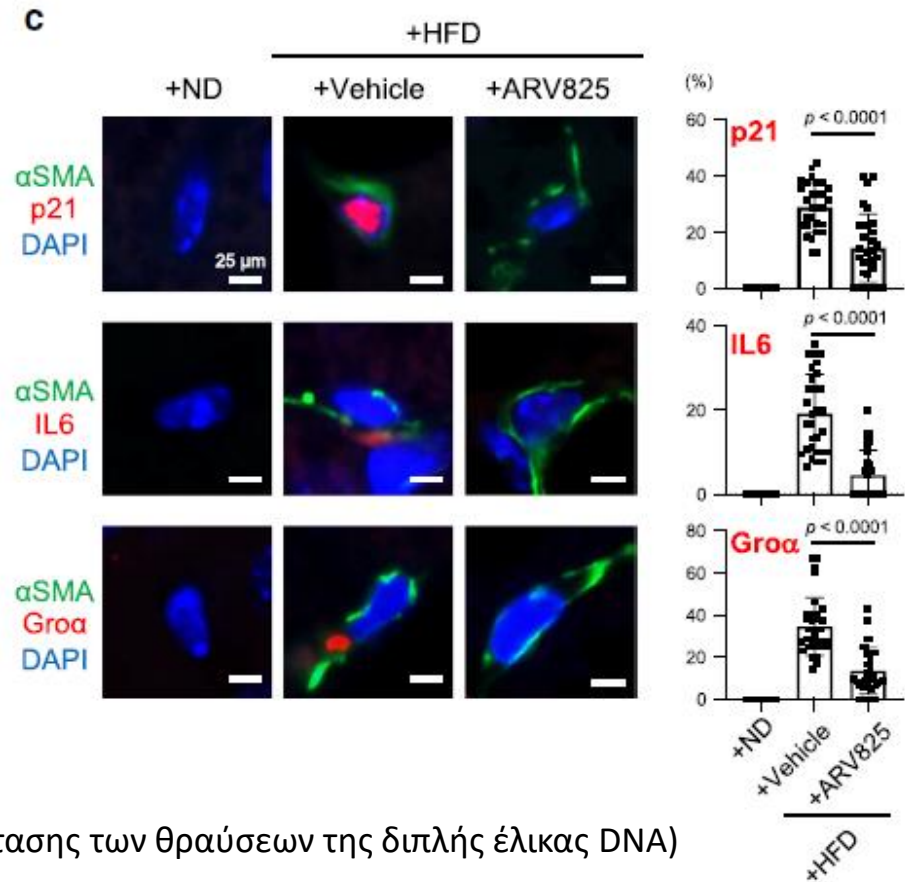
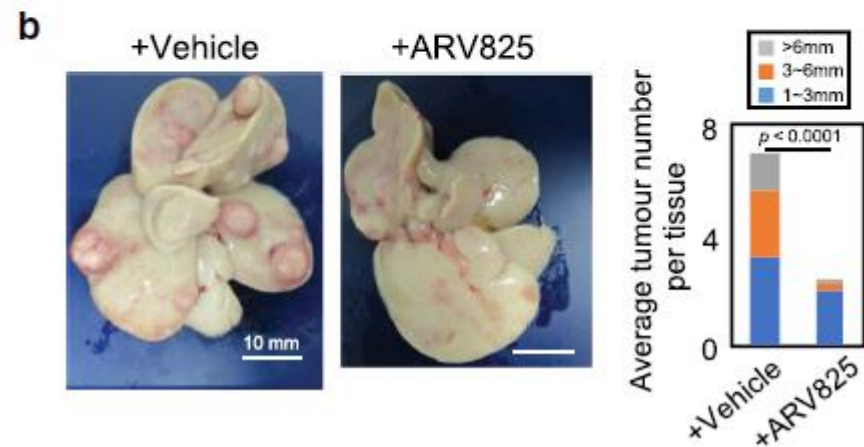


c



Replicative senescence: Το φαινόμενο κατά το οποίο τα κύτταρα παύουν να πολλαπλασιάζονται μετά 5 διαιρέσεις. Το φαινόμενο αυτό οφείλεται σε σμίκρυνση των τελομερών. **TIG-3 cells:** human diploid fibroblasts

Ένας αποικοδομητής πρωτεΐνης της οικογένειας BET προκαλεί λύση γερασμένων κυττάρων στοχεύοντας το NHEJ και την αυτοφαγία σε γερασμένα κύτταρα



ARV825: Ισχυρός αποικοδομητής της πρωτεΐνης της οικογένειας BET

NHEJ: Mammalian non-homologous DNA end joining (ο κύριος δρόμος της αποκατάστασης των θραύσεων της διπλής έλικας DNA)

Groα: Ανάλογη της IL-8 χημειοτακτική χυμοκίνη

HFD: High-fat diets, **DMBA:** 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene (συνθετικό χημικό που προκαλεί καρκίνο μαστού στα τρωκτικά)

BET (bromodomain and extra-terminal domain)

Senolysis (καταστροφή των γερασμένων χονδροκυττάρων): Μια λύση για την θεραπεία της ΟΑ;

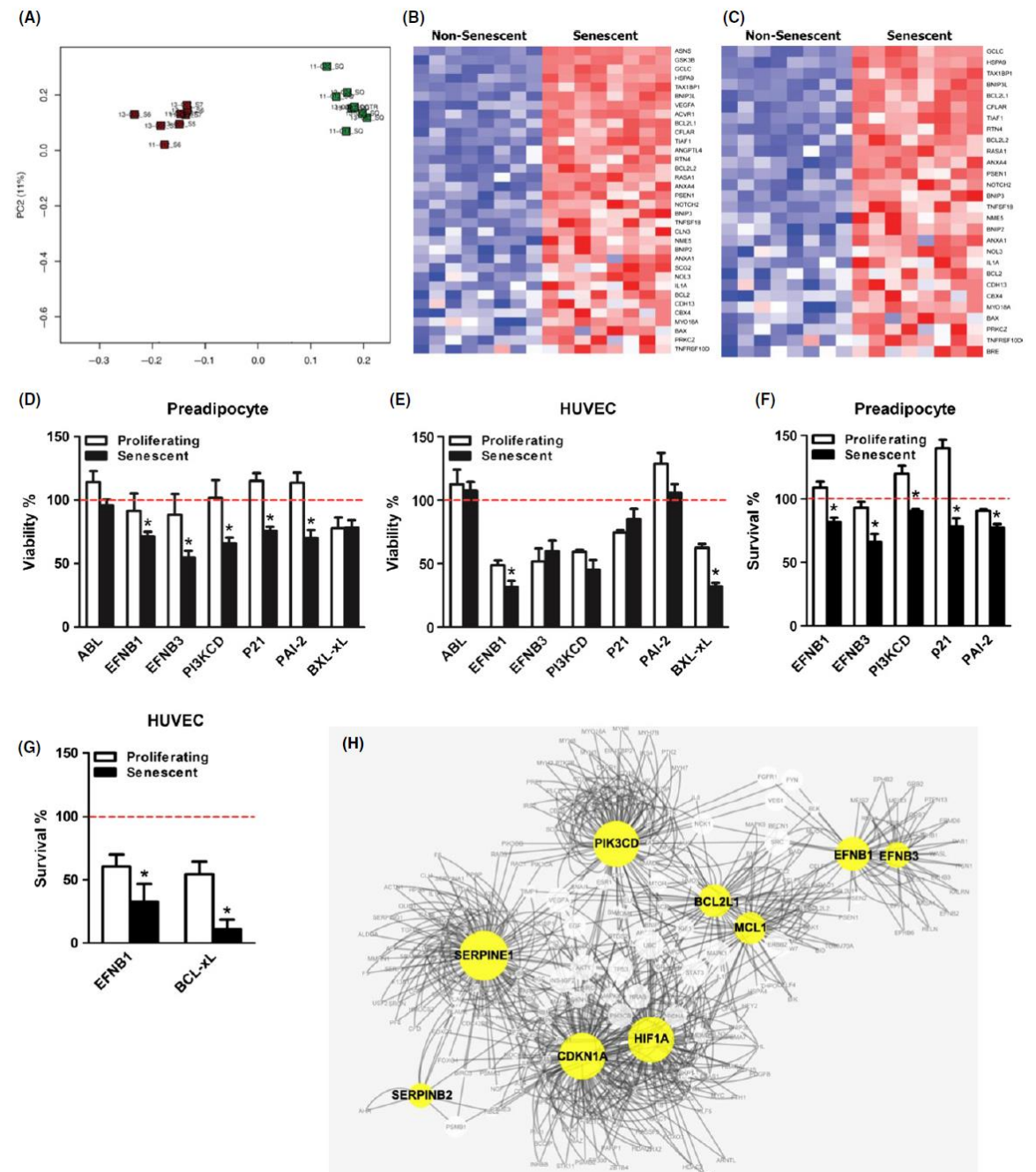
➤Βιβλιοθήκες mRNA σε γερασμένα και πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα

➤Αναγνώριση διαφόρων γονιδίων με διαφορετική έκφραση

➤Τα γονίδια εντάσσονται σε ορισμένους μεταβολικούς δρόμους (εικονίδιο Η)

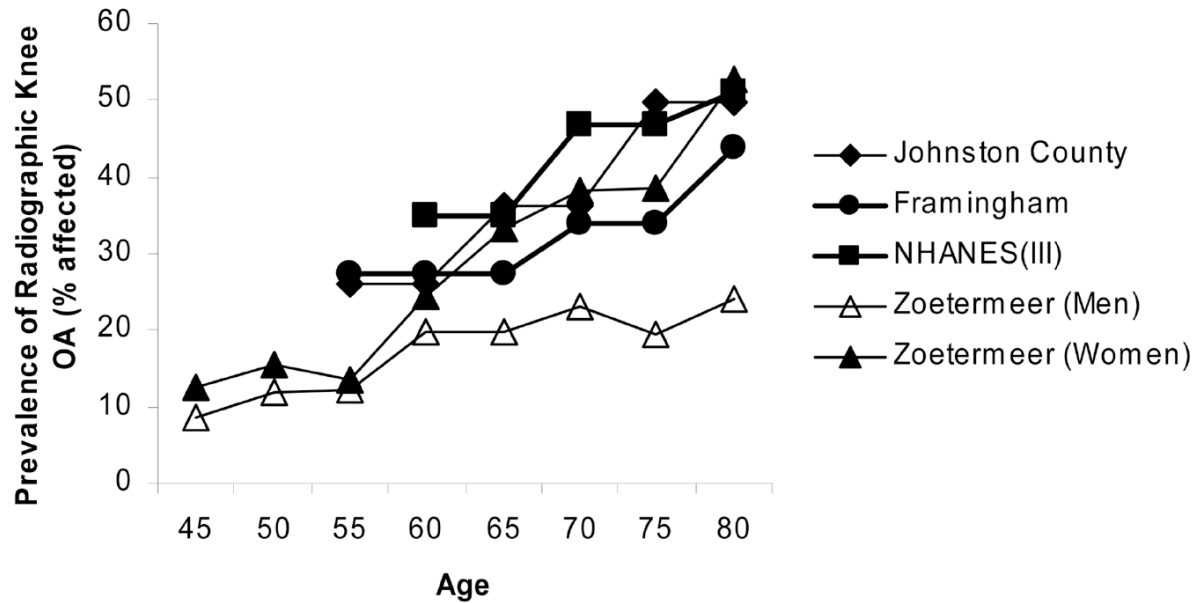
➤Τα γερασμένα κύτταρα (HUVECs) ήταν πολύ ευαίσθητα στη στόχευση των γονιδίων EFNB1 (**Eph receptors (Ephs, after erythropoietin-producing human hepatocellular receptors)**) και BCL-xL μέσω siRNAs

➤Φάρμακα για προ-κλινικά πειράματα: **dasatinib** (παρεμποδίζει τη δράση της κινάσης BCR-ABL και των κινασών της οικογένειας SRC) και **κουερσετίνη** ή **κερκετίνη** ή **κβερκετίνη** ή **βαλανοκετόνη** ([αγγλ.](#): *quercetin*) είναι μια [φλαβονόλη](#) που βρίσκεται σε πολλά φρούτα, λαχανικά, φύλλα και σπόρους

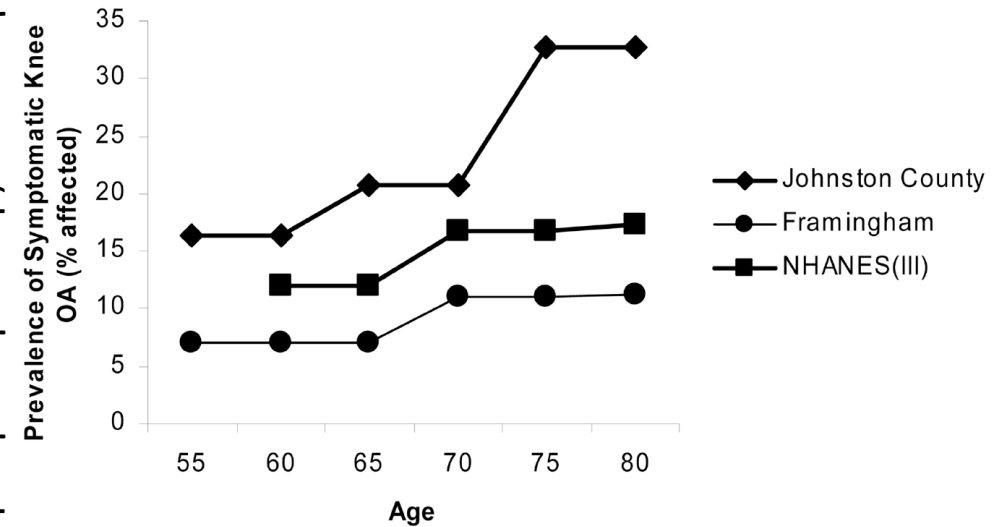


Γήρας και οστεοαρθρίτιδα (ΟΑ): Η ΟΑ είναι νόσος των μεγάλων ηλικιών

Επίπτωση ακτινολογικής ΟΑ του γόνατος



Επίπτωση συμπτωματικής ΟΑ του γόνατος



Σχέση μεταξύ της γήρανσης του μυοσκελετικού και της ανάπτυξης ΟΑ

Η γήρανση επηρεάζει την λειτουργία της άρθρωσης

- ✓Σαρκοπενία
- ✓Απώλεια ιδιοδεκτικότητας και ισορροπίας
- ✓Αυξημένη χαλάρωση των αρθρώσεων



Μυοσκελετική γήρανση
Αυξημένη επιρρέπεια για ΟΑ

Οστεοαρθρίτιδα

Η γήρανση επηρεάζει τους ιστούς της άρθρωσης

- ✓Ο χόνδρος είναι περισσότερο εύθραυστος και τα χονδροκύτταρα έχουν περισσότερο καταβολική, παρά αναβολική δραστηριότητα
- ✓Απώλεια φυσιολογικής δομής του οστού
- ✓Αυξημένη δυσκαμψία συνδέσμων και τενόντων
- ✓Αποδόμηση των μηνίσκων

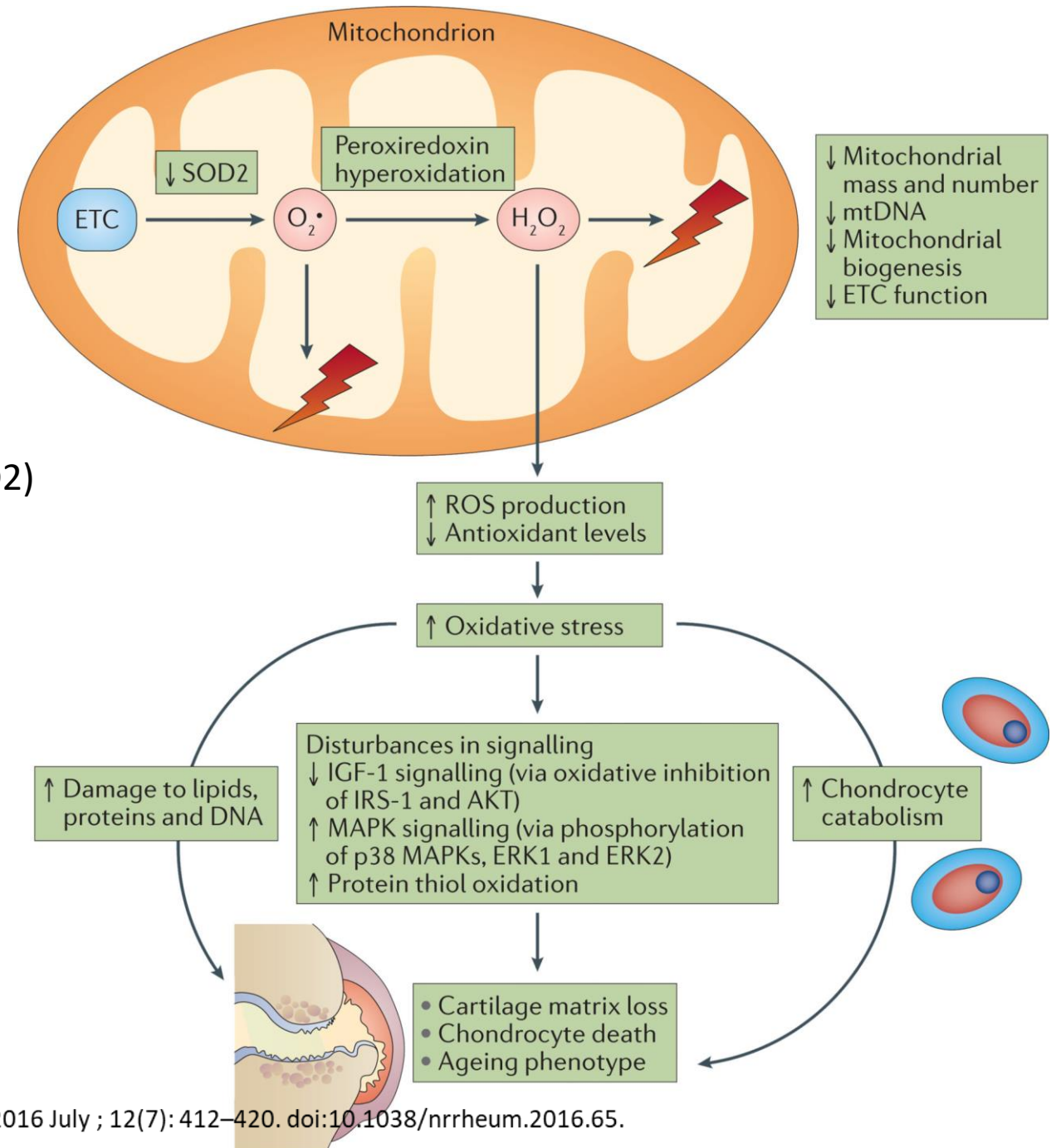
Προδιαθεσικοί παράγοντες ΟΑ
Παχυσαρκία
Βλάβη/αστάθεια της άρθρωσης
Γενετικοί παράγοντες
Ανατομία

Γήρας και Οστεοαρθρίτιδα

ETC: Electron transport chain

Superoxide dismutase 2, mitochondrial (SOD2)

Μιτοχονδριακή
δυσλειτουργία,
οξειδωτικό στρες και
αλλαγές στη φυσιολογική
κυτταρική σηματοδότηση



Τα χονδροκύτταρα από αρθρώσεις ατόμων μεγάλης ηλικίας παράγουν μεγαλύτερες ποσότητες μεταλλοπρωτεΐνης-13 [matrix metalloproteinase-13 (MMP-13)] σε σχέση με αυτά νεαρών ατόμων

K: Knee

A: Ankle

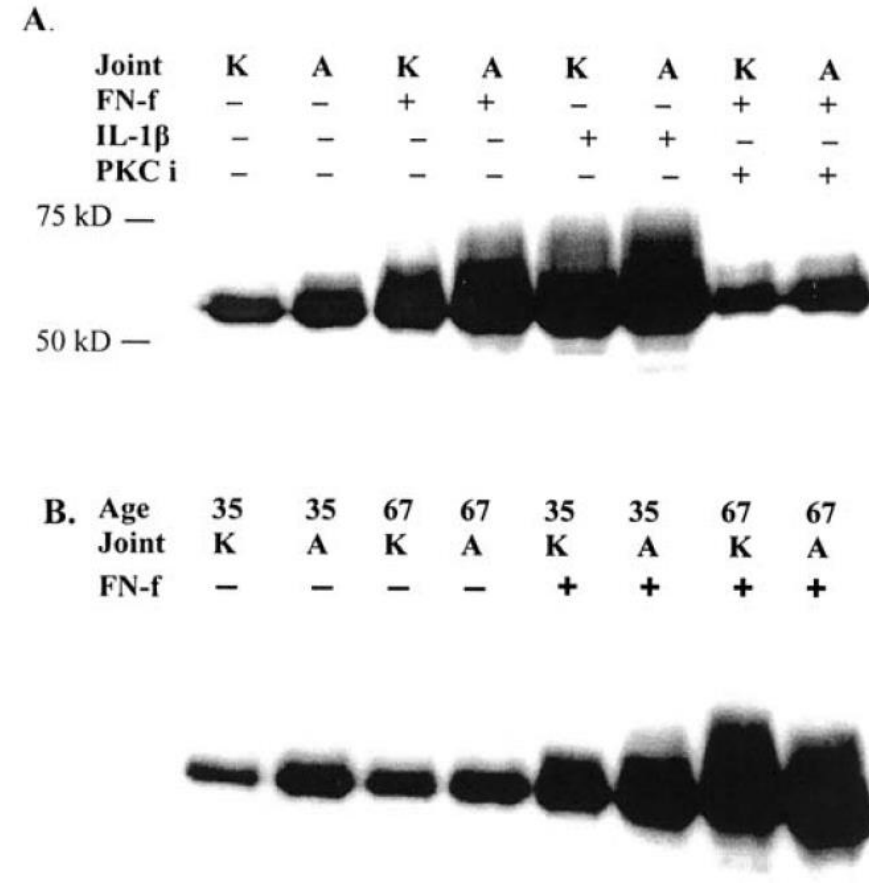
FN-f: fibronectin fragment (αυξάνει την παραγωγή MMP13 μέσω διέγερσης της $\alpha 5\beta 1$ ιντεγκρίνης)

IL-1 β : Interleukin 1 β

PKCi: protein kinase C (PKC) inhibitor [rottlerin]

MMP-13 (collagenase 3): Η ενεργοποίησή της απαιτεί κόψιμο σε δύο κομμάτια, την καταλυτική υπομονάδα και την υπομονάδα ομοιάζουσε με αιμοπηξίνη. Η δεύτερη καταλύει το κολλαγόνο

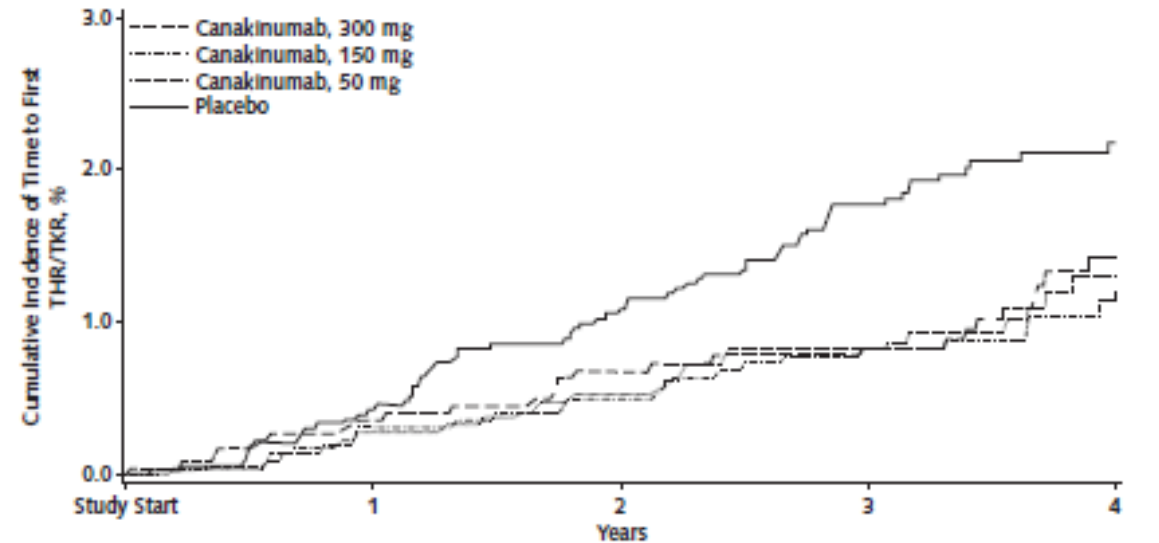
Η παραγωγή MMP-13 από τα χονδροκύτταρα αυξάνεται μετά επίδραση με IL-1 β ή/και FN-f



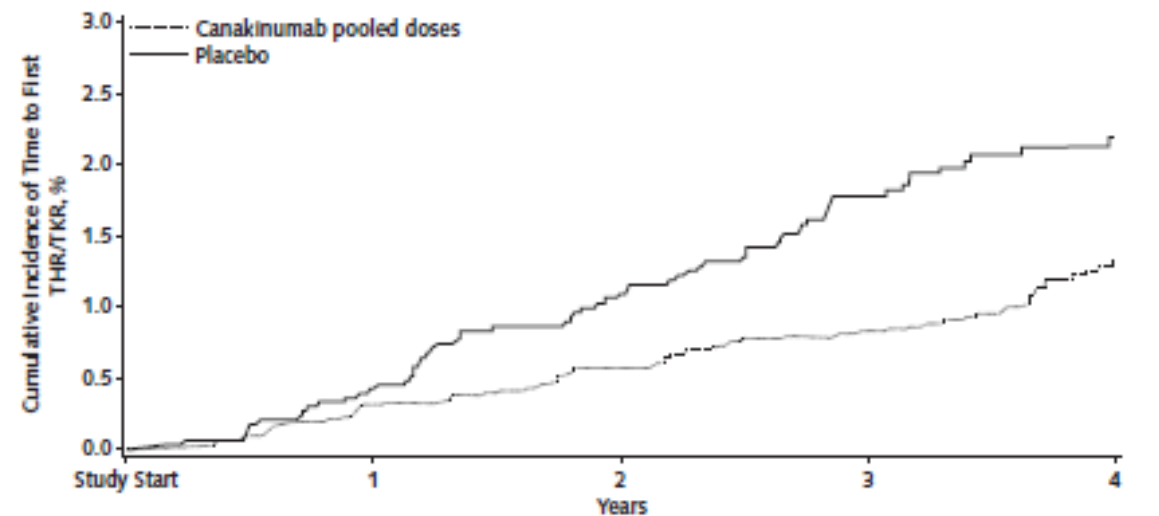
Ο Αναστολέας της IL-1β
Canakinumab
επιβραδύνει την
σωρευτική επίπτωση
χρόνου μέχρι την πρώτη
αντικατάσταση ισχίου ή
γόνατος

*Cumulative Incidence of Time to First hip
or knee replacement*

*Σωρευτική επίπτωση χρόνου έως την
πρώτη αντικατάσταση ισχίου ή γόνατος*

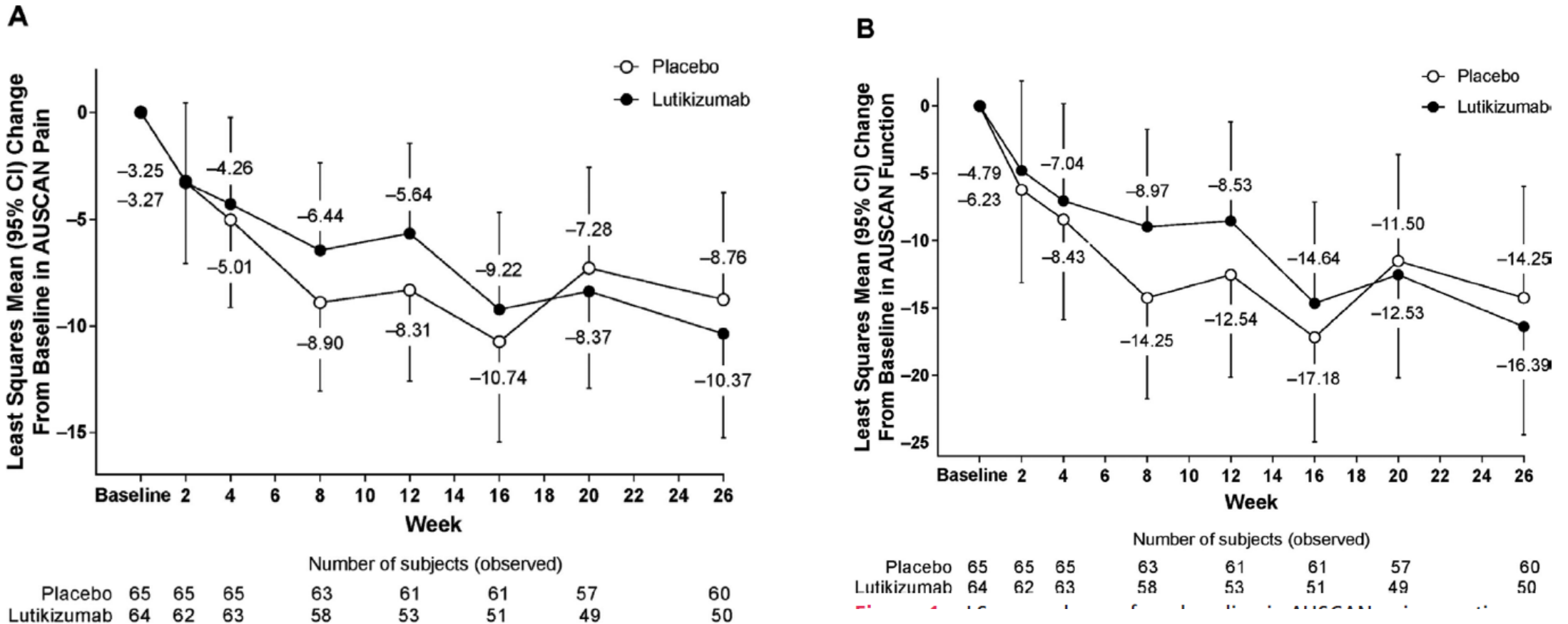


Patients at Risk, n	Study Start	1	2	3	4
300 mg	2263	2196	2124	1931	997
150 mg	2284	2214	2152	1956	983
50 mg	2170	2111	2044	1929	833
Placebo	3344	3241	3129	2819	1397



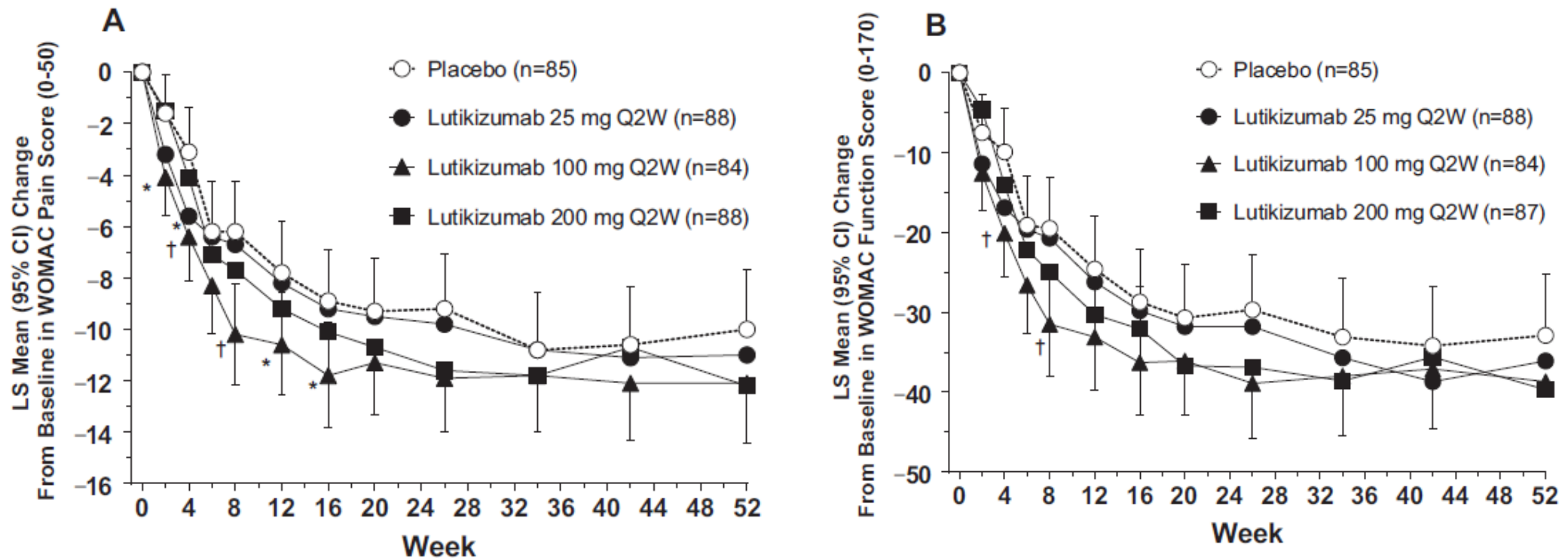
Patients at Risk, n	Study Start	1	2	3	4
Pooled doses	6717	6521	6320	5866	2813
Placebo	3344	3241	3129	2819	1397

Το Lutikizumab, ένας διπλός αναστολέας κατά IL-1α και IL-1β δεν υπερείχε του placebo στην αντιμετώπιση της διαβρωτικής ΟΑ των χεριών



AUSCAN, Australian/Canadian Osteoarthritis Hand Index; LS, least squares.

Το Lutikizumab, ένας διπλός αναστολέας κατά IL-1α και IL-1β δεν υπερείχε του placebo στην αντιμετώπιση ΟΑ του γόνατος με υμενίτιδα



Least squares (LS) mean change in the Western Ontario and McMaster Universities Index (WOMAC) pain score

Η Παχυσαρκία αυξάνει την πιθανότητα ΟΑ

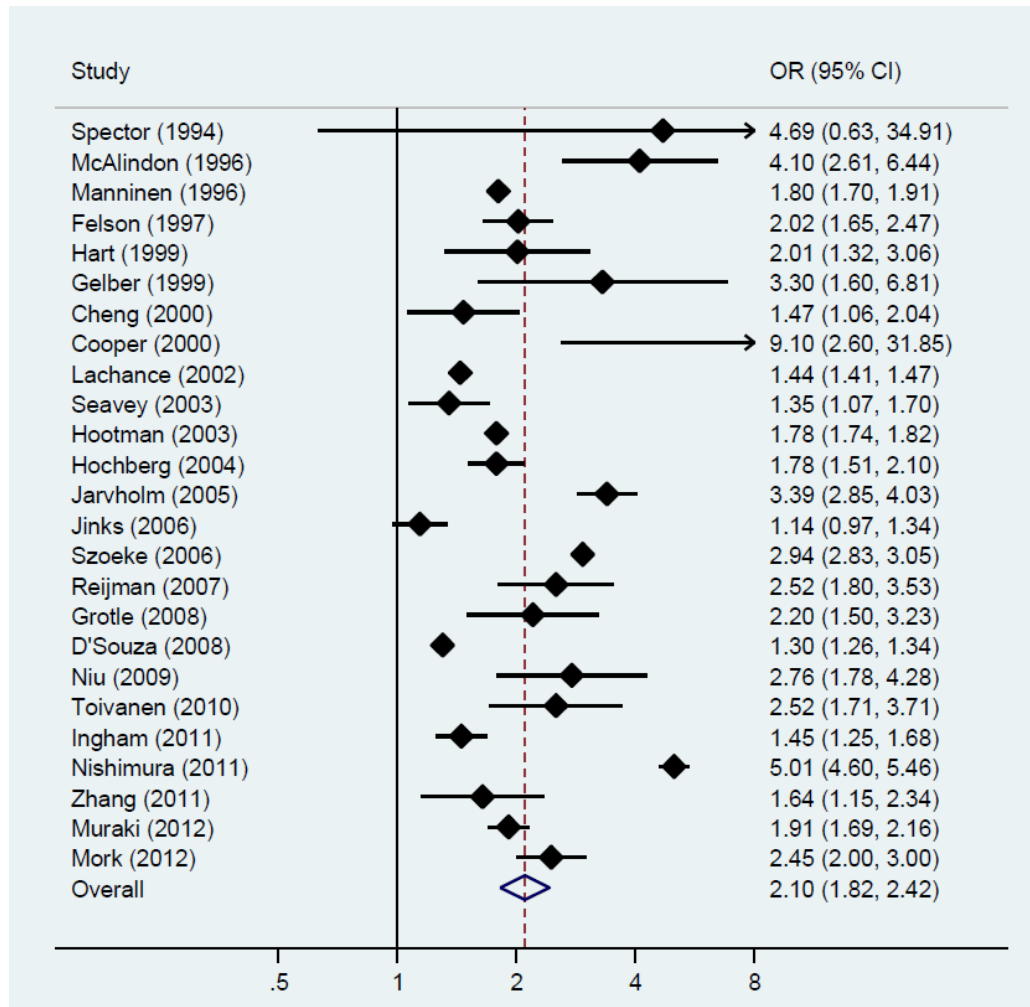


Table 3. Weight Loss and Gain and the Risk for Symptomatic Knee Osteoarthritis, over 10 Years before Current Examination

Variable	Adjusted Odds Ratio per 2 Units of Body Mass Index (95% CI)	P Value
Baseline body mass index	1.26 (1.13 to 1.42)	< 0.001
Weight gain	1.11 (0.81 to 1.53)	> 0.2
Weight loss	0.46 (0.24 to 0.86)	0.02

Felson DT et al, Annals of Internal Medicine. 1992;116:535-539.

προσαρμοσμένη αναλογία πιθανοτήτων

Το μεταβολικό σύνδρομο και όλα τα στοιχεία που το συνθέτουν σχετίζονται με ΟΑ

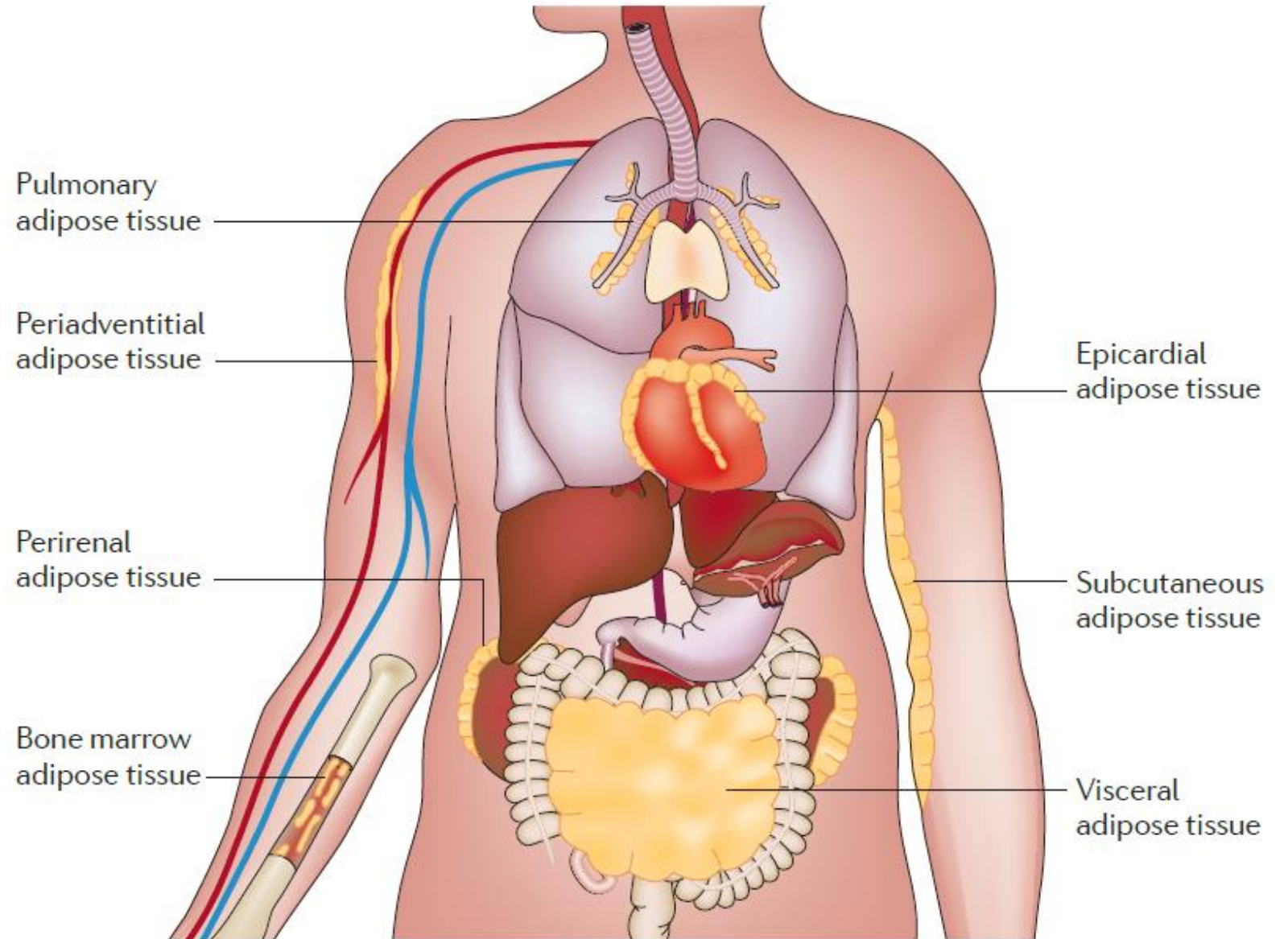
Table 2 Associations between MetS and OA in the present cross-sectional study ($n = 5764$)

	Unadjusted OR	95%CI	<i>P</i>	Model 1 ^a			Model 2 ^a		
				Adjusted OR	95%CI	<i>P</i>	Adjusted OR	95%CI	<i>p</i>
MetS as a whole	1.27	1.10–1.47	0.001	1.17	1.01–1.36	0.041	1.17	1.01–1.36	0.043
MetS components									
Overweight	2.85	2.54–3.21	<0.001	2.14	1.89–2.43	<0.001	2.15	1.90–2.44	<0.001
Hyperglycaemia	1.36	1.18–1.57	<0.001	1.15	0.99–1.33	0.067	1.15	0.99–1.33	0.066
Hypertension	1.45	1.29–1.63	<0.001	1.23	1.09–1.40	0.001	1.23	1.09–1.40	0.001
Dyslipidemia	1.53	1.37–1.72	<0.001	1.33	1.18–1.50	<0.001	1.33	1.18–1.50	<0.001

MetS, metabolic syndrome; OA, osteoarthritis;

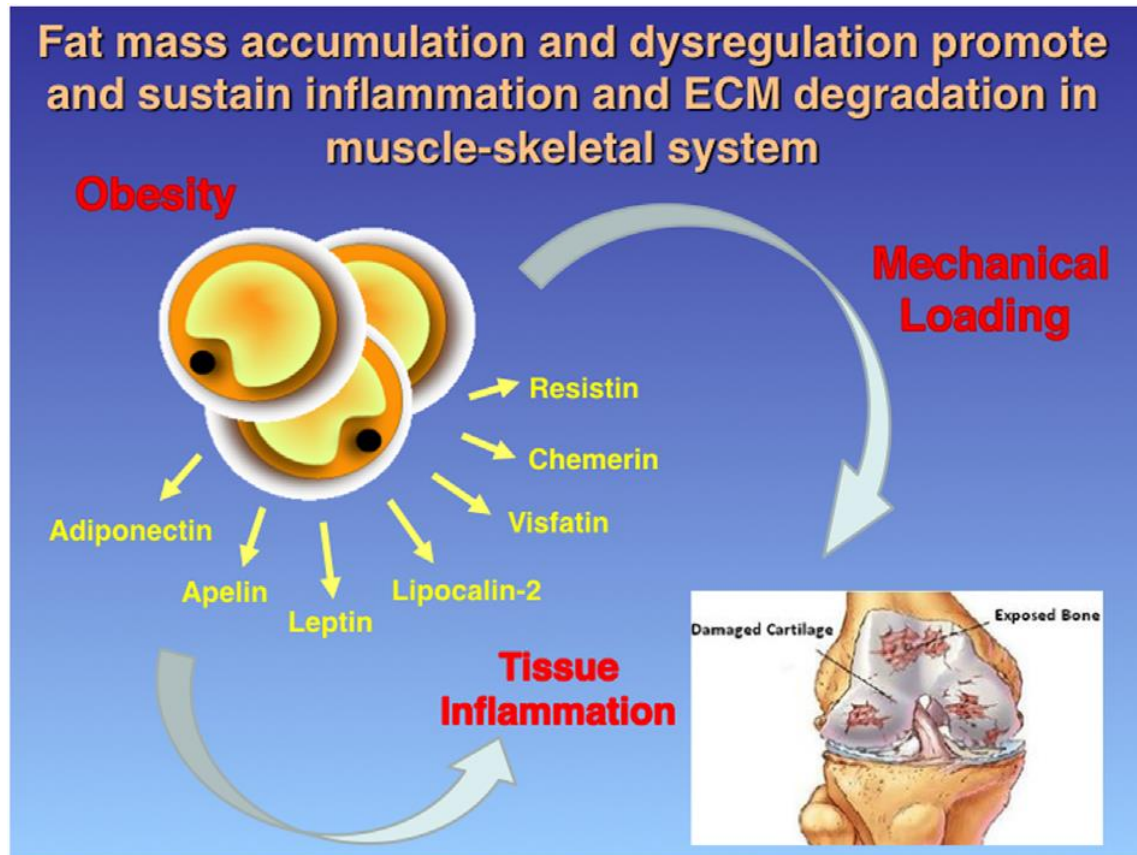
^aModel 1 was adjusted for age and sex; Model 2 was adjusted for age, sex, activity level, smoking status, alcohol drinking status and educational background

Ο αποθηκευτικός ιστός του σώματος



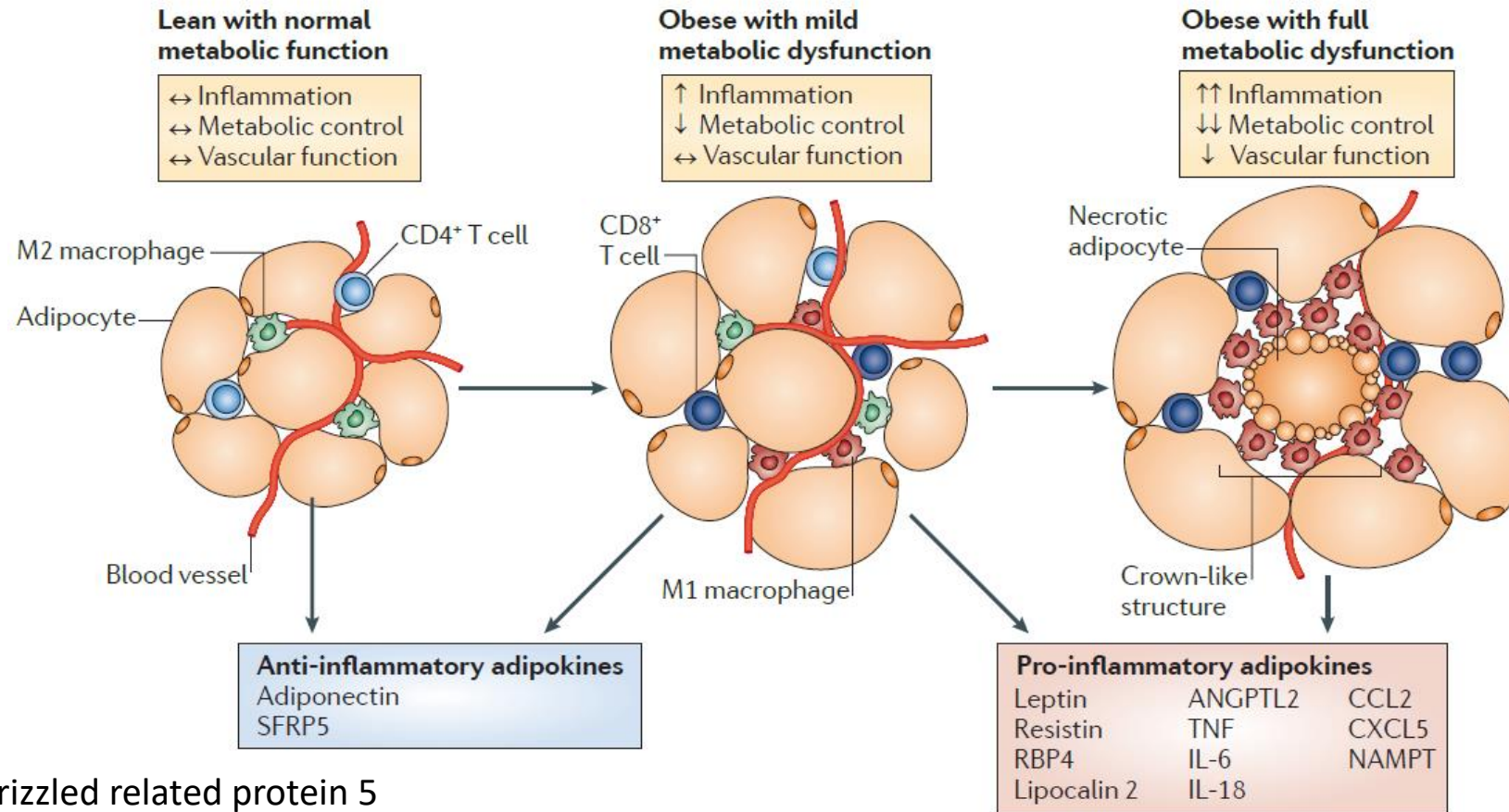
Ouchi N et al, Nature Reviews in Immunology, 2011; 11: 85:

Μερικές από τις κυτταροκίνες του λιπώδους ιστού προκαλούν χρόνια φλεγμονή και ΟΑ



- **Resistin** also known as **adipose tissue-specific secretory factor (ADSF)** or **C/EBP-epsilon-regulated myeloid-specific secreted cysteine-rich protein (XCP1)** [αυξάνει την αντίσταση στην ινσουλίνη και επάγει φλεγμονή]
- **Chemerin**, also known as **retinoic acid receptor responder protein 2 (RARRES2)**, [χημειοτακτικός παράγων για δενδρικά και ΜΦ]
- **Visfatin** [**Nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPTase or NAMPT)**, formerly known as **pre-B-cell colony-enhancing factor 1 (PBEF1)**] [συμβάλλει στην ωρίμανση των Β κυττάρων παρουσία IL-7 και STEM CELL FACTOR]
- Οι **lipocalins** είναι οικογένεια πρωτεϊνών που μεταφέρουν μικρά υδρόφοβα μόρια. Ρυθμίζουν την ανοσολογική απόκριση και μερικές είναι αλλεργιογόνα (Th-2 απαντήσεις)
- Η **λεπτίνη** είναι **πρωτεϊνική ορμόνη** που ρυθμίζει την ενεργειακή πρόσληψη, συμπεριλαμβανομένης της όρεξης, της πείνας, του μεταβολισμού και της συμπεριφοράς
- **Apelin** (γνωστή και ως **APLN**) ποικίλλει φυσιολογικές δράσεις
- **Adiponectin**. Αυξημένα επίπεδα σχετίζονται με ΣΔ2, μεταβολικό σύνδρομο, αθηροσκλήρωση κλπ

Στην παχυσαρκία με έντονη μεταβολική δυσλειτουργία η ισορροπία διαταράσσεται προς την κατεύθυνση της φλεγμονής



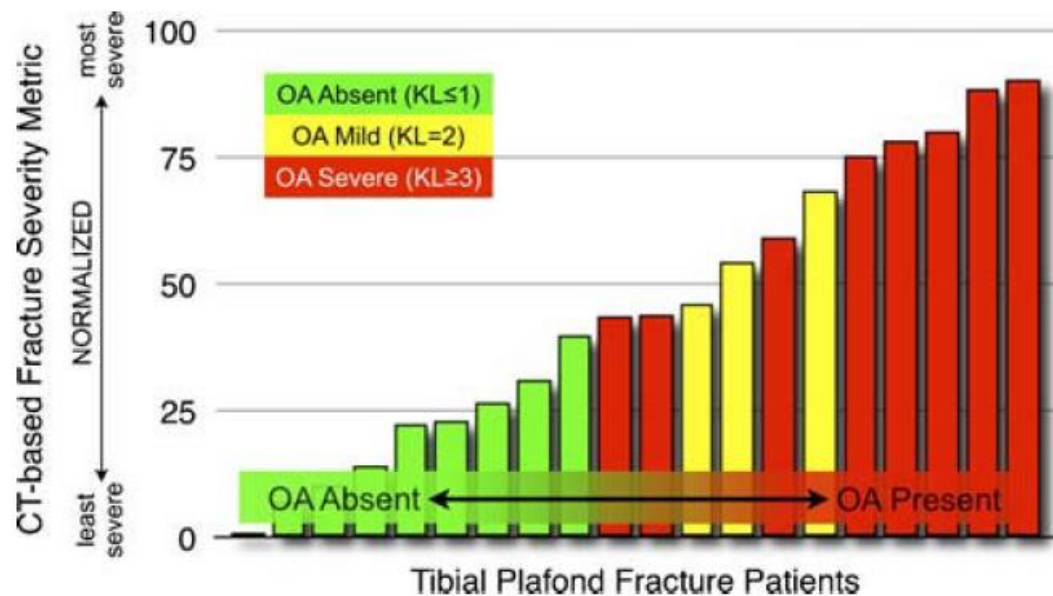
SFRP5 secreted frizzled related protein 5

Οι πηγές και δράσεις των κυτταροκινών του αποθηκευτικού ιστού

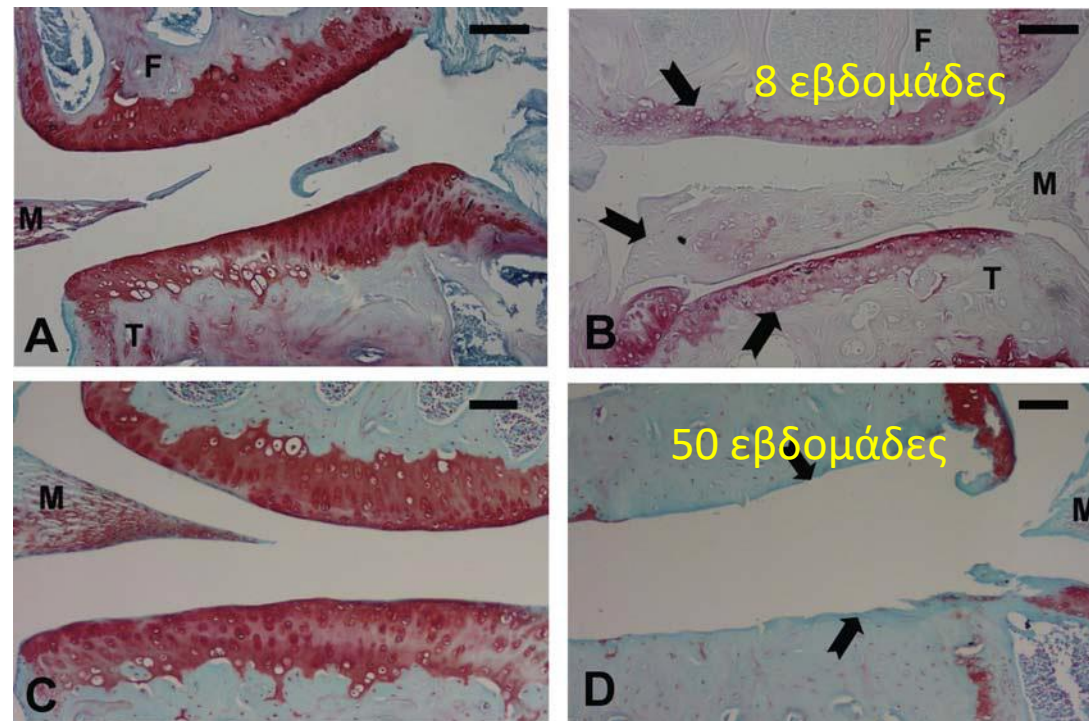
Adipokine	Primary source(s)	Binding partner or receptor	Function
Leptin	Adipocytes	Leptin receptor	Appetite control through the central nervous system
Resistin	Peripheral blood mononuclear cells (human), adipocytes (rodent)	Unknown	Promotes insulin resistance and inflammation through IL-6 and TNF secretion from macrophages
RBP4	Liver, adipocytes, macrophages	Retinol (vitamin A), transthyretin	Implicated in systemic insulin resistance
Lipocalin 2	Adipocytes, macrophages	Unknown	Promotes insulin resistance and inflammation through TNF secretion from adipocytes
ANGPTL2	Adipocytes, other cells	Unknown	Local and vascular inflammation
TNF	Stromal vascular fraction cells, adipocytes	TNF receptor	Inflammation, antagonism of insulin signalling
IL-6	Adipocytes, stromal vascular fraction cells, liver, muscle	IL-6 receptor	Changes with source and target tissue
IL-18	Stromal vascular fraction cells	IL-18 receptor, IL-18 binding protein	Broad-spectrum inflammation
CCL2	Adipocytes, stromal vascular fraction cells	CCR2	Monocyte recruitment
CXCL5	Stromal vascular fraction cells (macrophages)	CXCR2	Antagonism of insulin signalling through the JAK-STAT pathway
NAMPT	Adipocytes, macrophages, other cells	Unknown	Monocyte chemotactic activity
Adiponectin	Adipocytes	Adiponectin receptors 1 and 2, T-cadherin, calreticulin-CD91	Insulin sensitizer, anti-inflammatory
SFRP5	Adipocytes	WNT5a	Suppression of pro-inflammatory WNT signalling

ANGPTL2, angiopoietin-like protein 2; CCL2, CC-chemokine ligand 2; CXCL5, CXC-chemokine ligand 5; IL, interleukin; JAK, Janus kinase; NAMPT, nicotinamide phosphoribosyl transferase; RBP4, retinol-binding protein 4; **SFRP5**, secreted frizzled-related protein 5; STAT, signal transducer and activator of transcription; TNF, tumour necrosis factor.

Το τραύμα είναι πυροδοτικός μηχανισμός ΟΑ



Ανάπτυξη ΟΑ με βάση την βαρύτητα της συνολικής ενέργειας θραύσης προγενέστερου κατάγματος. Όσο πιο μεγάλη η ενέργεια θραύσης του κνημιαίου plateau, μεγαλύτερη η πιθανότητα αναπτύξεως ΟΑ.



A and C: control

B and D: κάταγμα. παρατηρήθηκε σοβαρή απώλεια χόνδρου 8 και 50 εβδομάδες μετά το κάταγμα

Τραυματισμός που προκαλείται από κρούση προκαλεί OA σε πειραματόζωα

Table 1. Induction of Key Markers of Early Cartilage Damage After Impact in an *In Vitro* Study Using Adult Bovine Articular Cartilage

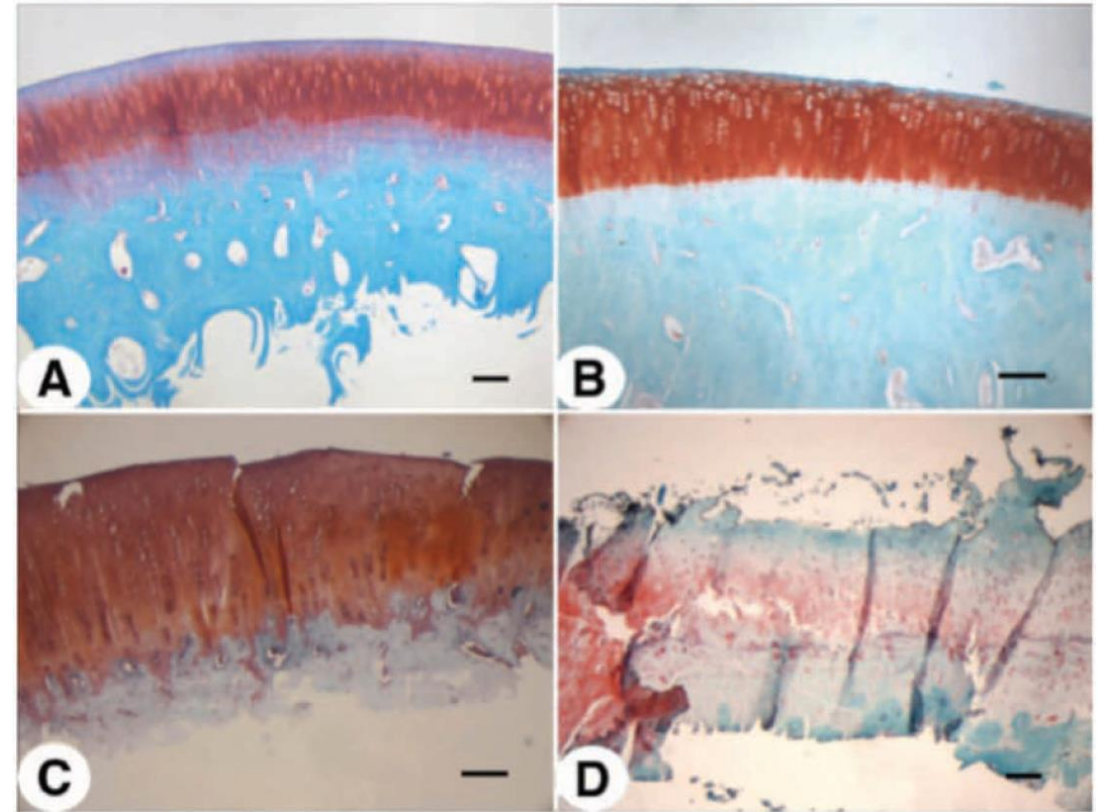
Markers of cartilage damage	17-MPa impact (%)	36-MPa impact (%)
Cell death ^a	22 ± 5	53 ± 9
GAG release ^a	218 ± 42%	309 ± 34
NO release ^a	256 ± 78	605 ± 135
PGE2 release ^a	183 ± 41	424 ± 111
MMP with increased expression ^a	MMP9, MMP13	MMP3, MMP9

Note: GAG = glycosaminoglycan; NO = nitric oxide PGE2 = prostaglandin E2; MMP = matrix metalloproteinase.

^aCompared with control levels of cartilage damage marker.

Μεγαπασκάλ (MPa - Μονάδες μέτρησης), πίεση

Alexander PG. et al, Cartilage 2012;3(4) 323– 333



A, B: controls, C and D: τραύμα μετά από κρούση

Sections of designated samples were stained with Safranin O for proteoglycan and with Fast Green as counter stain. Bar = 100 μm.

Η Κυκλοοξυγενάση (COX), επίσης γνωστή ως ενδοϋπεροξειδίο της συνθετάσης προσταγλανδίνης είναι το βασικό ένζυμο που απαιτείται για τη μετατροπή του αραχιδονικού οξέος σε προσταγλανδίνες.

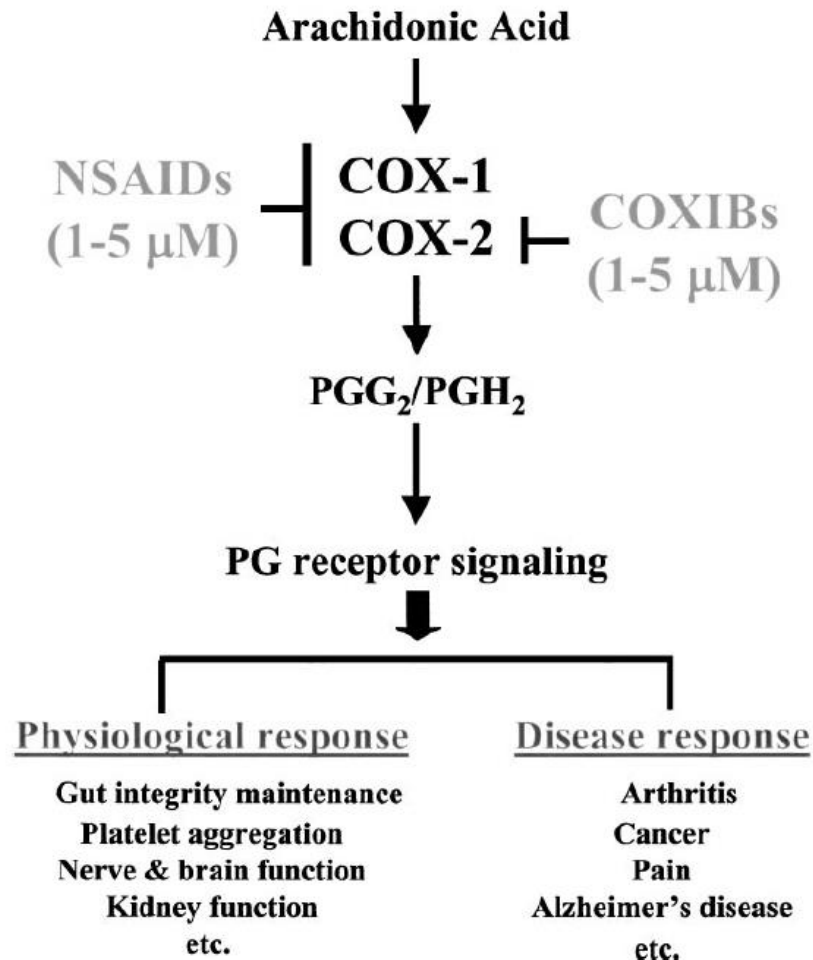
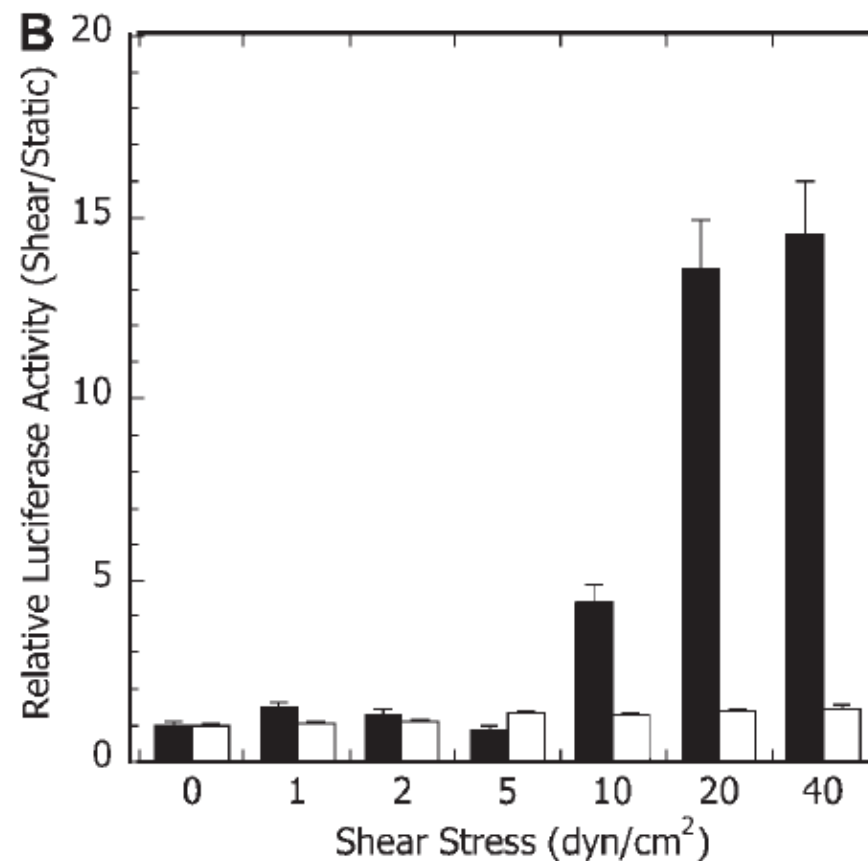
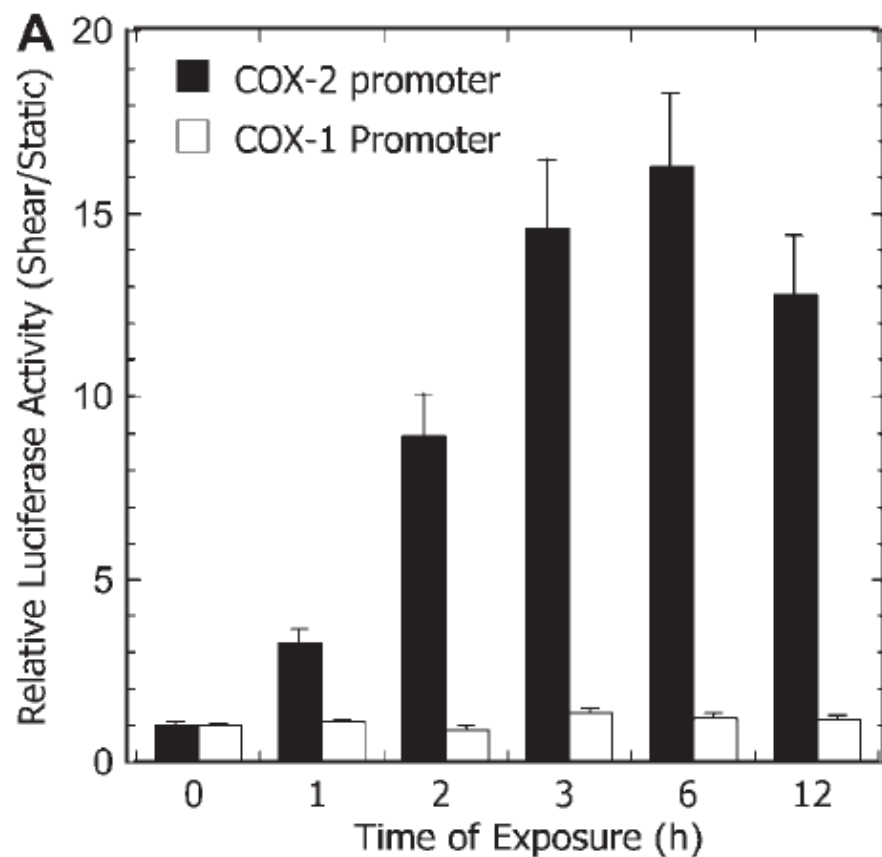


TABLE 2 Identified regulators of COX-1 and COX-2 gene expression

COX-1 Upregulators	COX-2	
	Upregulators	Downregulators
iNOS	iNOS	EGF
Estrogen	IL-1 α	TGF- β
	Wnt-1	TNF- α
	Wnt-3	UVB
	Src	Estrogen
	Ras	Androgen
	Benzo[α]	
	Pyrene	

Σε χονδροκύτταρα που υφίστανται Shear stress (διατμητική τάση) επάγεται η παραγωγή COX-2 μέσω ενός μονοπατιού σηματοδότησης που εξαρτάται από Rac/MEKK1/MKK7/JNK2/c-Jun-C/EBPβ



Σε χονδροκύτταρα που υφίστανται Shear stress (διατμητική τάση) επάγεται η παραγωγή COX-2 μέσω ενός μονοπατιού σηματοδότησης που εξαρτάται από Rac/MEKK1/MKK7/JNK2/c-Jun-C/EBPβ

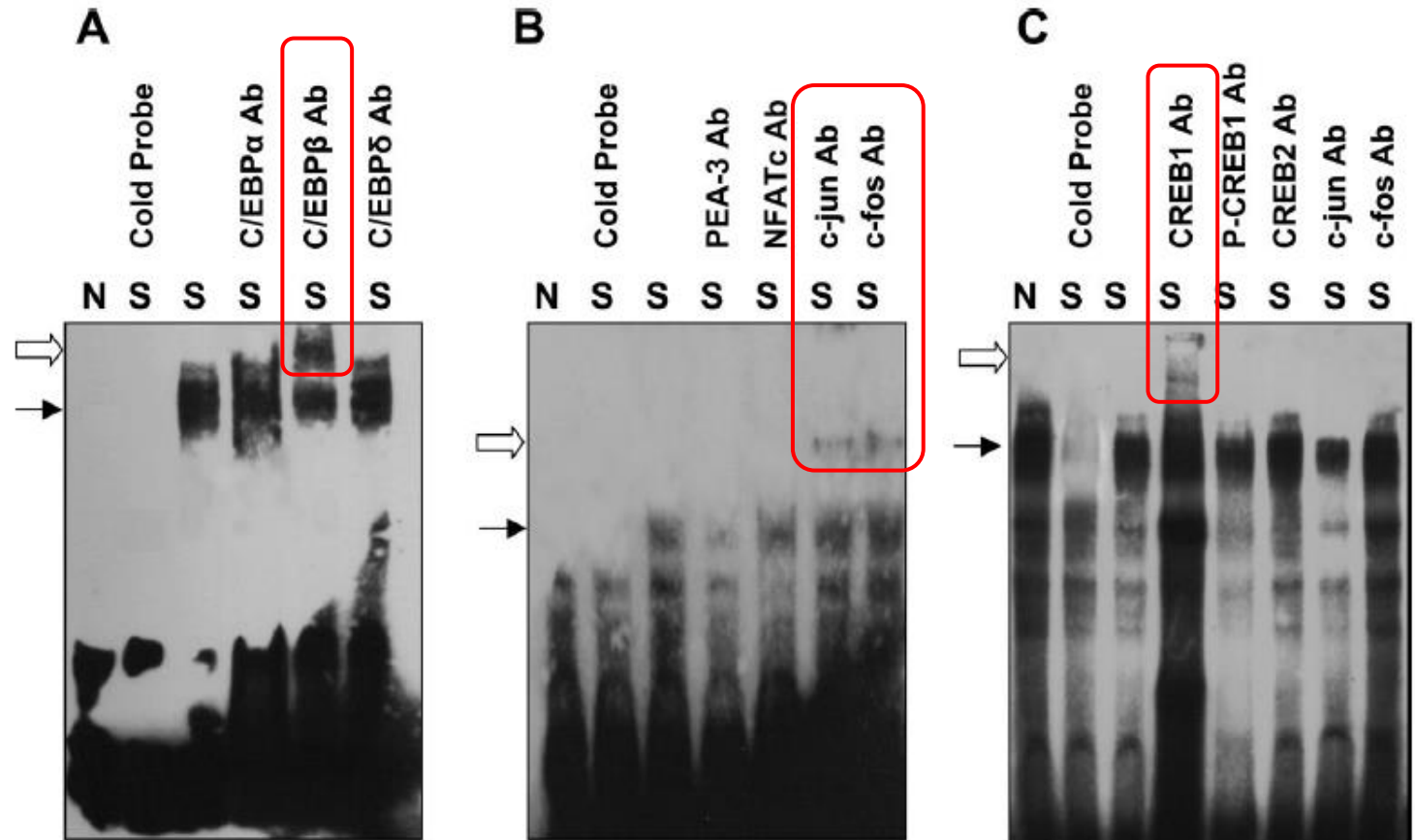
EMSA (electrophoretic mobility shift assay)

[Τεχνική που προσδιορίζει αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών και νουκλεϊνικών οξέων]

Παρασκευάστηκαν πυρηνικά εκχυλίσματα από T/C-28a2 χονδροκύτταρα, τα οποία εκτέθηκαν είτε σε στατικές συνθήκες (χωρίς διάτμηση) (0 dyn/cm²) ή στρωτή ροή διάτμησης (20 dyn/cm²) για 3 ώρες.

(cold) C/EBP/NF-IL-6 probe (μη βιοτινυλιωμένο) για να προλάβει την ανίχνευση της δημιουργίας συμπλέγματος

Όταν ο ανιχνευτής C/EBP/NF-IL-6 επωάστηκε με αντι-C/EBPβ αντίσωμα, μια αξιοσημείωτη μετατόπιση σημειώθηκε στο πήκτωμα



Χονδροκύτταρα που υφίστανται μηχανικό stress ενεργοποιούν ένα σύστημα κινασών που οδηγούν στην έκφραση του ενζύμου φλεγμονής COX-2

mitogen-activated protein kinase (MAPK or MAP kinase)

Rac1, γνωστή και ως **Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1**, μικρή (~21 kDa) σηματοδοτική πρωτεΐνη G (πιο συγκεκριμένα μια GTPase). Ρυθμίζει τον έλεγχο της μετατόπισης της GLUT4 στην πρόσληψη γλυκόζης, την κυτταρική ανάπτυξη, της κυτταροσκελετική αναδιοργάνωση, της αντιμικροβιακής κυτταροτοξικότητας

cdc42: RoGTPάση: Ρυθμίζει: μορφολογία κυττάρων, κυτταρική μετανάστευση, ενδοκυττάρωση και εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου

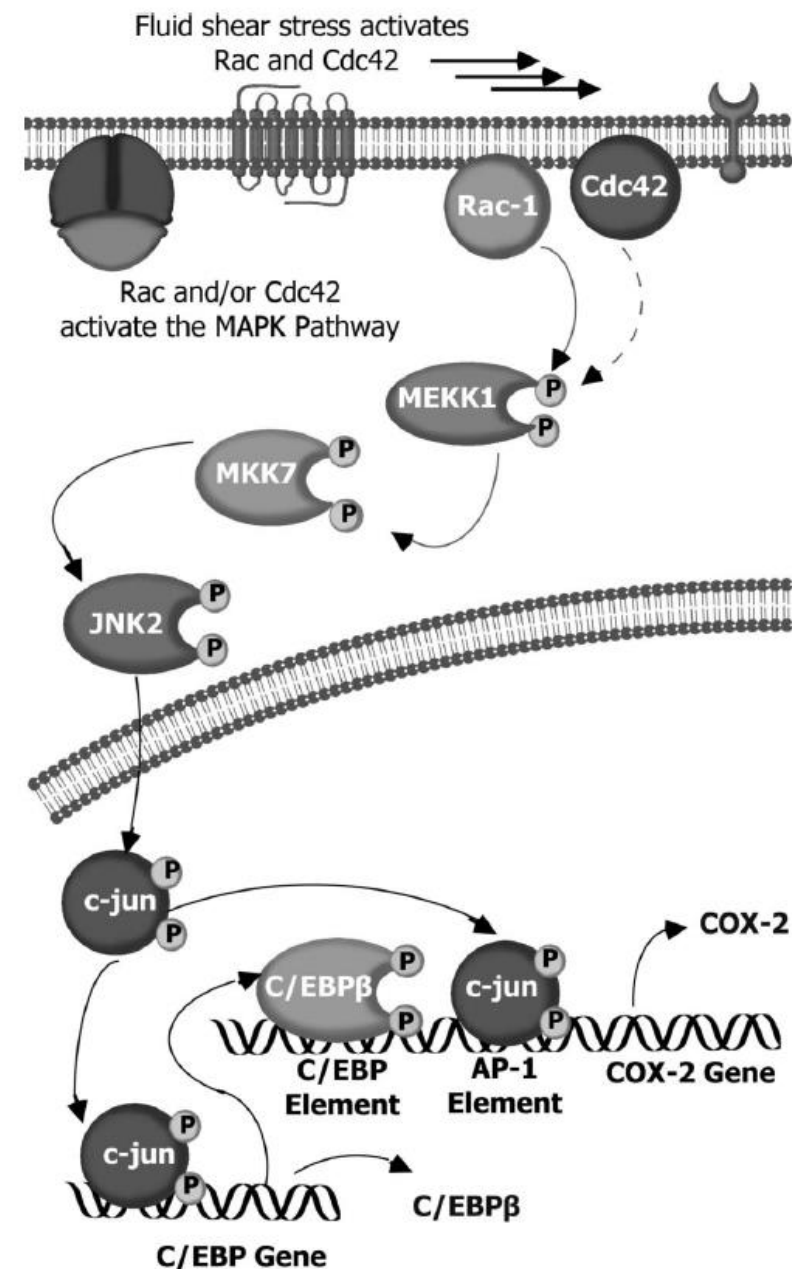
MEKK1: Λειτουργεί σε ένα μονοπάτι σηματοδότησης που ρυθμίζει την έκφραση γονιδίων που ανταποκρίνονται σε βιοτικές και αβιοτικές πιέσεις

MKK7: Δίνει μήνυμα στην κινάση JNK. Είναι σημαντική για κυτταρικό πολλαπλασιασμό, διαφοροποίηση, απόπτωση, ογκογένεση.

JNK (c-Jun N-terminal kinases): ανταποκρίνονται σε ερεθίσματα στρες, όπως κυτταροκίνες, υπεριώδη ακτινοβολία, θερμικό σοκ και οσμωτικό σοκ.

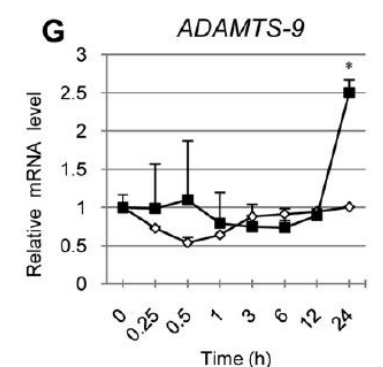
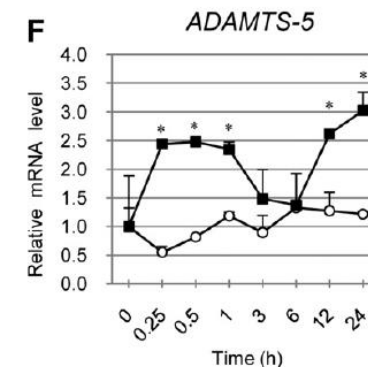
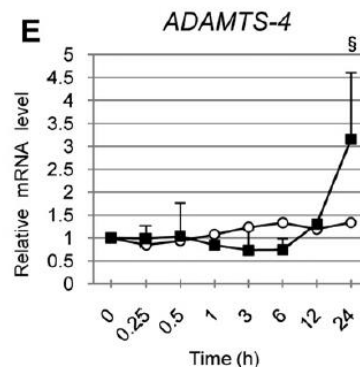
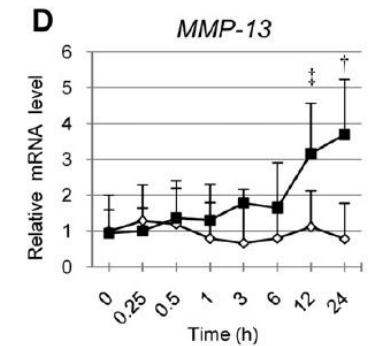
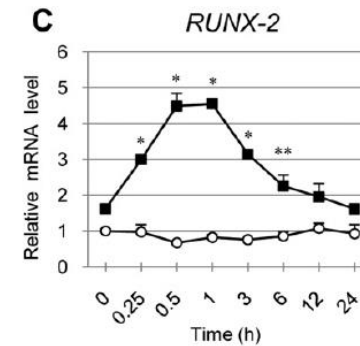
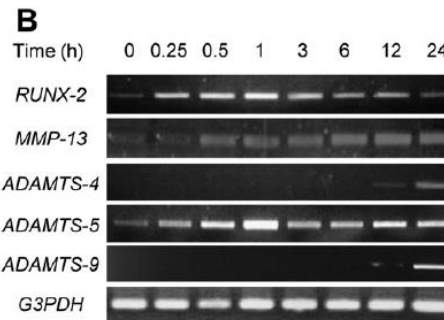
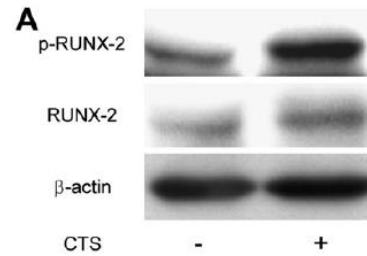
C/EBP: Λειτουργία και ανοσολογική απόκριση μακροφάγων

c-jun: Μεταγραφικός παράγων που ενεργοποιείται σε ποικιλία ερεθισμάτων

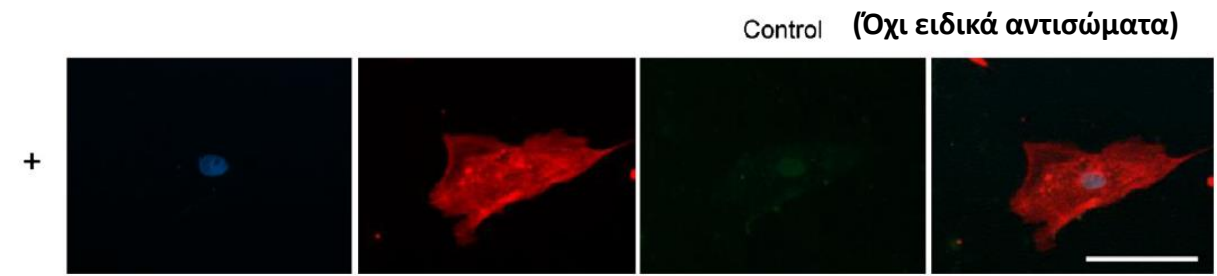
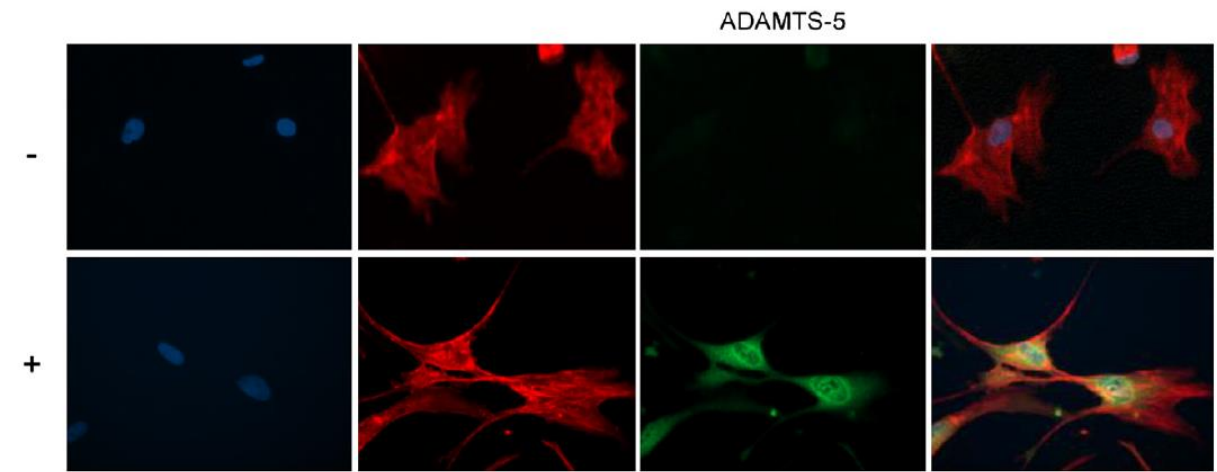
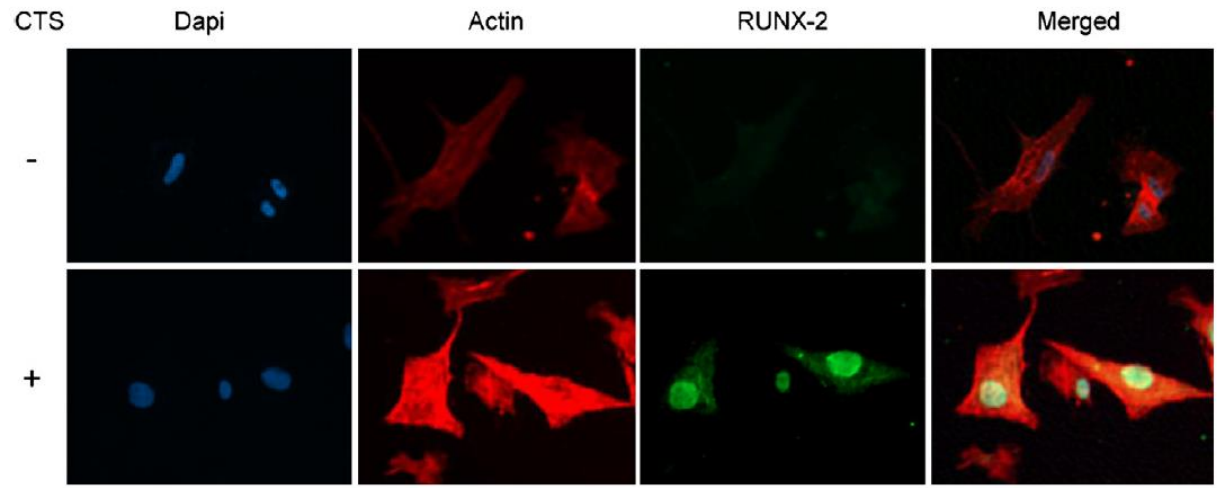
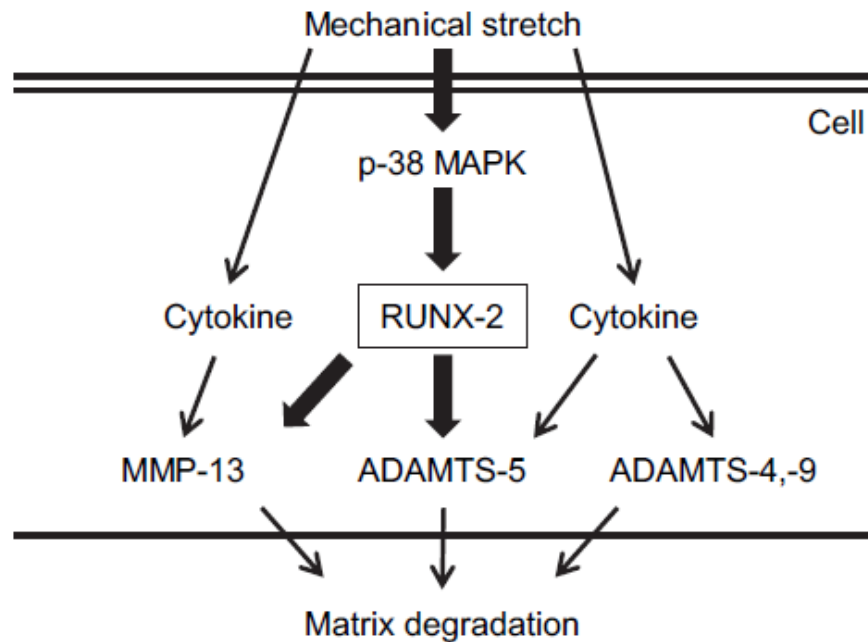


Μηχανική υπερφόρτωση χόνδρου: Ένα κλινικό πρόβλημα με μοριακές και κυτταρικές επιπτώσεις

- Κύτταρα SW1353, ανάλογα χονδροκυττάρων
- Σε ειδικά δοχεία τα υποβάλλουν σε cyclic tensile strain (κυκλική εφελκυστική παραμόρφωση) για 30 λεπτά
- Ακολουθώς εξήχθη ολικό RNA, μεταγράφηκε σε c-DNA και αναλύθηκε με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης
- **RUNX2** (Runt-related transcription factor 2) γνωστό και ως: core-binding factor subunit alpha-1 (CBF-alpha-1)
 - Καταστέλλει τον πολλαπλασιασμό των προδρόμων κυττάρων των οστεοβλαστών επηρεάζοντας τον κυτταρικό κύκλο στη φάση G1

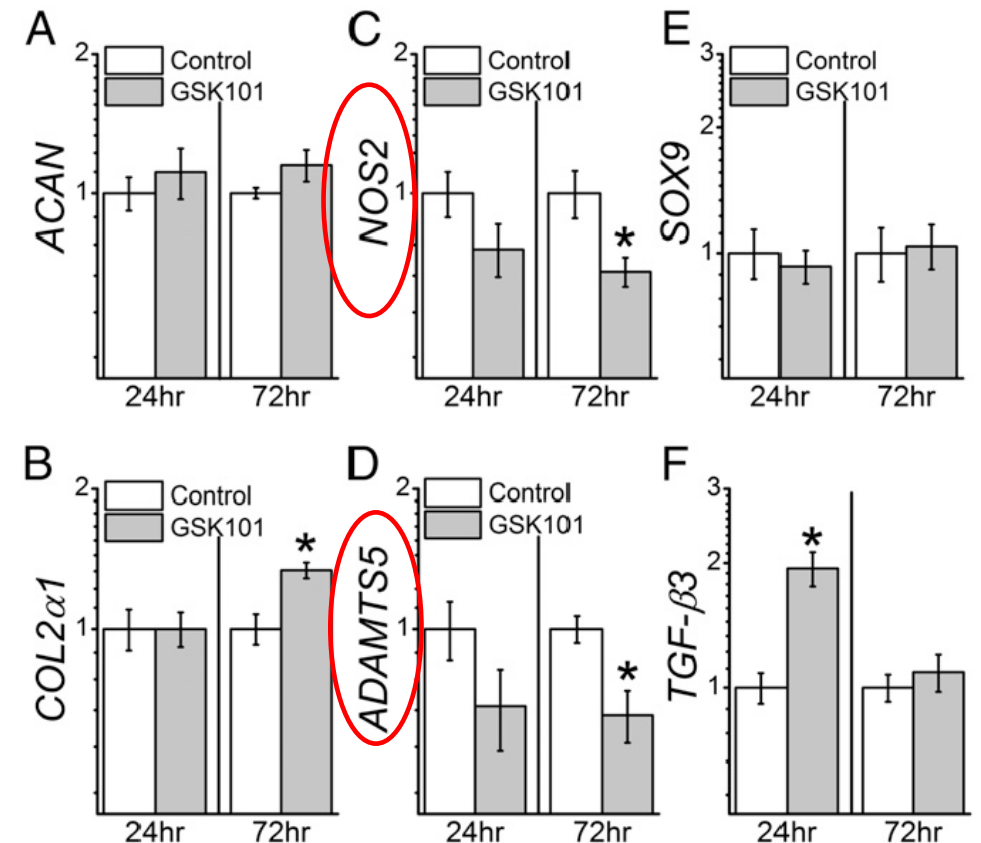


Ο μεταγραφικός παράγων RUNX2 μετακινείται στον πυρήνα ενώ ο ADAMTS-5 στο κυτταρόπλασμα μετά από κυκλική εφελκυστική παραμόρφωση (CTS) των κυττάρων



Η μεσολαβούμενη από το TRPV4 μηχανομετατροπή ρυθμίζει τη μεταβολική απόκριση των χονδροκυττάρων σε δυναμική φόρτιση (TRV4: Transient receptor potential cation channel subfamily V member 4)

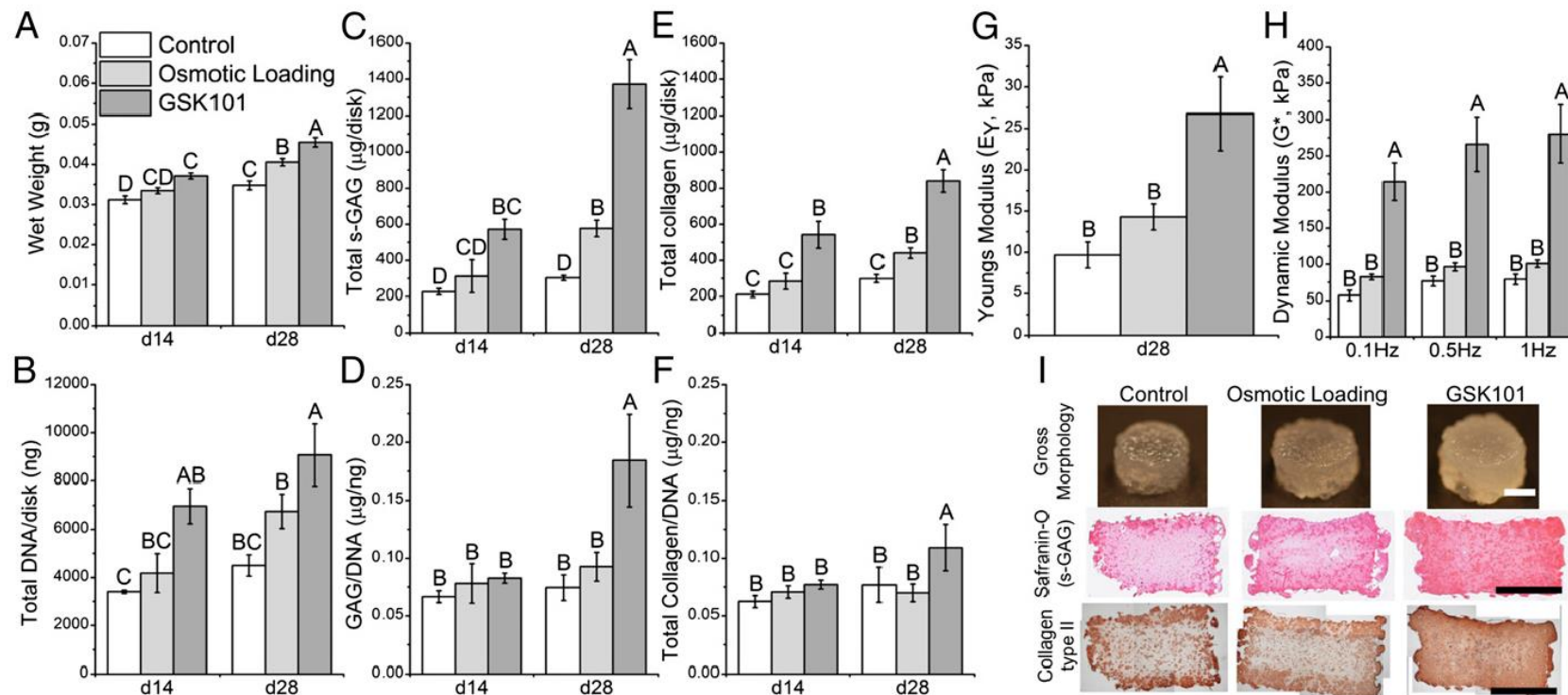
- Στη συνέχεια χρησιμοποιήσαμε αυτό το μοντέλο για να μελετήσουμε τον ρόλο του TRPV4 στη ρύθμιση της απόκρισης των χονδροκυττάρων στη δυναμική συμπίεση, παρουσία και απουσία ενός διεγέρτη του TRV4, ήτοι του **GSK 101**
- ACAN gene: γονίδιο aggrecan (τύπος πρωτεογλυκάνης)[**συμβάλλει στην ενίσχυση της στερεότητας του χόνδρου**]
- NOS2 gene[**ενεργοποίηση φλεγμονωδών και καταστροφικών διεργασιών στο χόνδρο προκύπτει από καταβολισμό πρωτεϊνών που περιέχουνθειϊκές ρίζες**]
- SOX9 gene [**κωδικοποιεί πρωτεΐνη που είναι σημαντική για την εμβρυϊκή και μυοσκελετική ανάπτυξη**]
- COL2A1 gene [**type II collagen, called the pro-alpha1(II) chain**].
- ADAMTS5: A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 5 [**λειτουργεί ως aggrecanase**]
- TGF-β3 (Transforming growth factor beta-3): [**κυτταροκίνη, που εμπλέκεται μεταξύ άλλων στη διαμόρφωση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας**]



Η ενεργοποίηση του TRPV4 μέσω ημερήσιας οσμωτικής φόρτισης ή GSK101 ενισχύει τη συσσώρευση εξωκυτταρικής θεμέλιας ουσίας

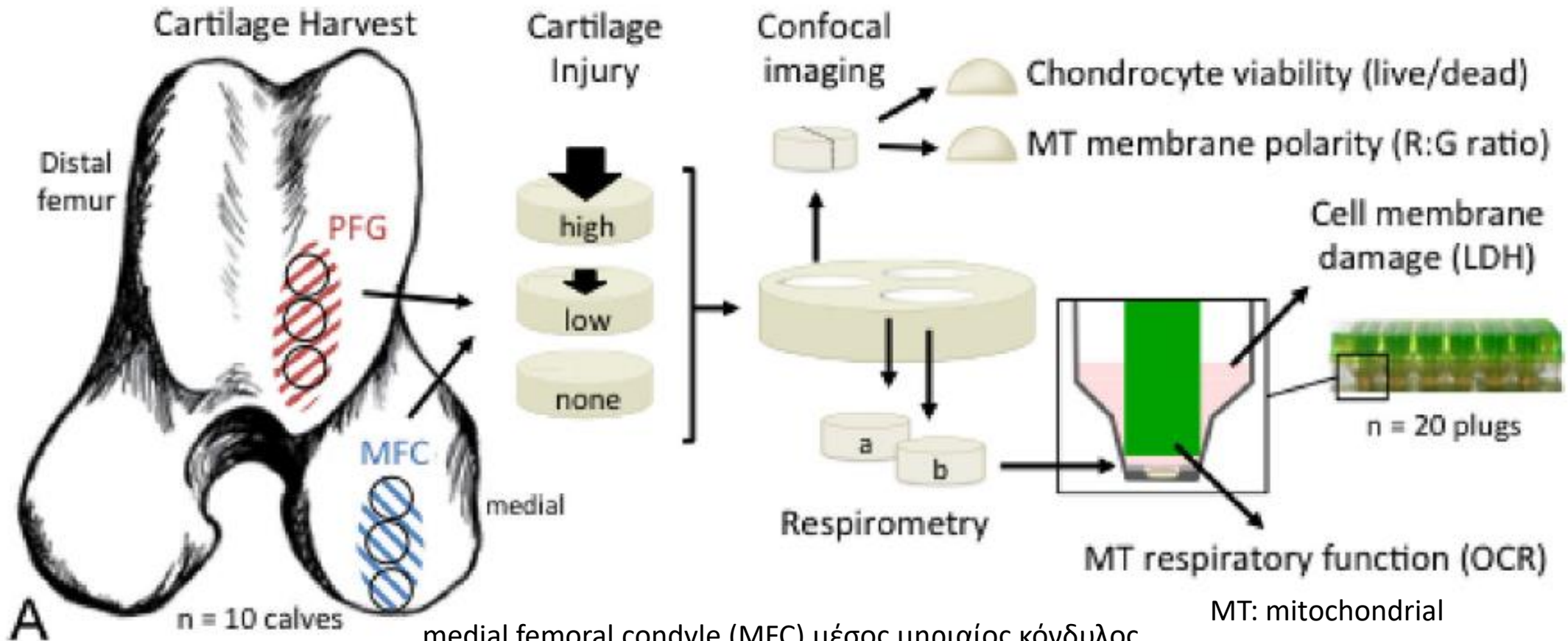
Ο συντελεστής Young, ή ο συντελεστής ελαστικότητας σε τάση ή αξονική συμπίεση, είναι μια μηχανική ιδιότητα που μετρά την ακαμψία εφελκυσμού ή συμπίεσης ενός στερεού υλικού όταν η δύναμη εφαρμόζεται κατά μήκος.

Ο δυναμικός συντελεστής είναι η αναλογία τάσης προς καταπόνηση υπό συνθήκες δόνησης. Είναι ιδιότητα των ιξωδοελαστικών υλικών.



Το GSK1016790A (γνωστός και ως GSK101) είναι ένα φάρμακο που αναπτύχθηκε από την GlaxoSmithKline το οποίο δρα ως ισχυρός και εκλεκτικός αγωνιστής για τον υποδοχέα TRPV4

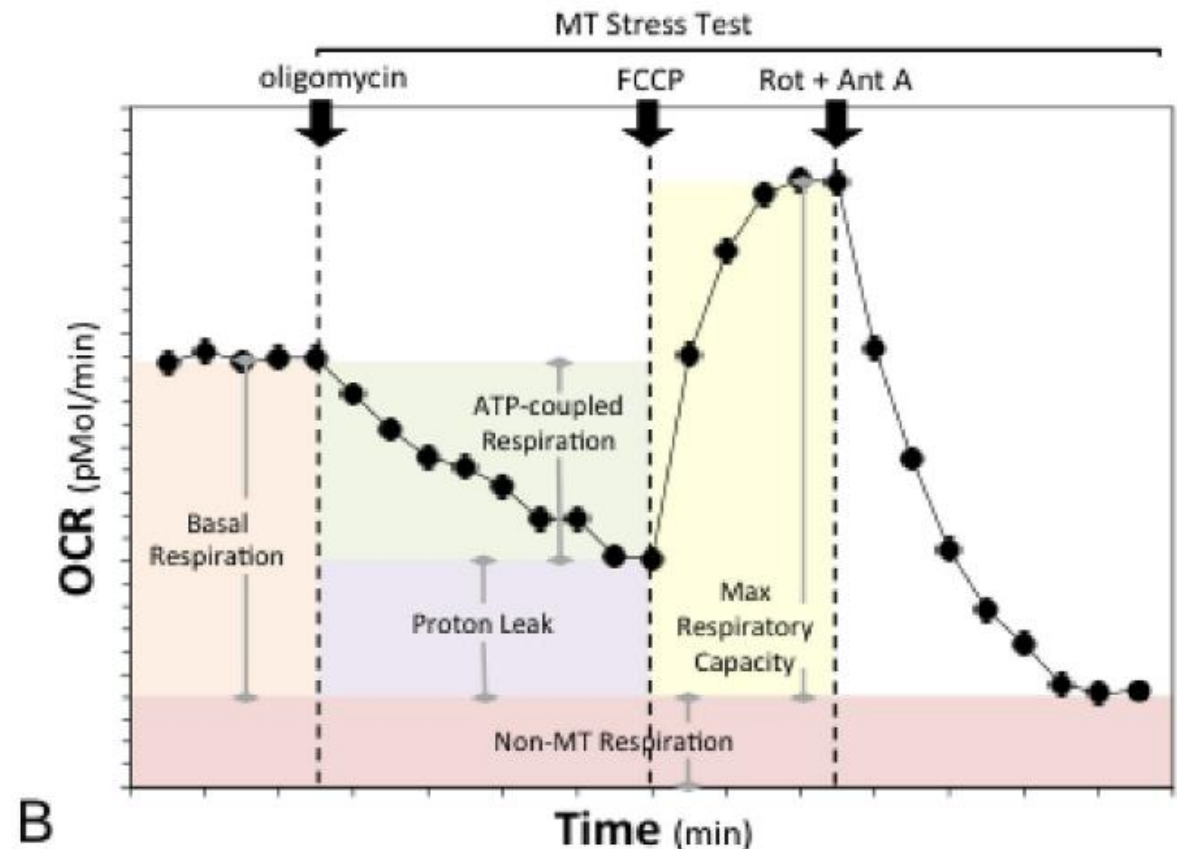
Η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία είναι μια οξεία απόκριση των αρθρικών Χονδροκυττάρων σε μηχανική βλάβη



medial femoral condyle (MFC) μέσος μηριαίος κόνδυλος
patellofemoral groove (PFG) επιγονατιδομηριαία αύλακα.

Η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία είναι μια οξεία απόκριση των αρθρικών Χονδροκυττάρων σε μηχανική βλάβη

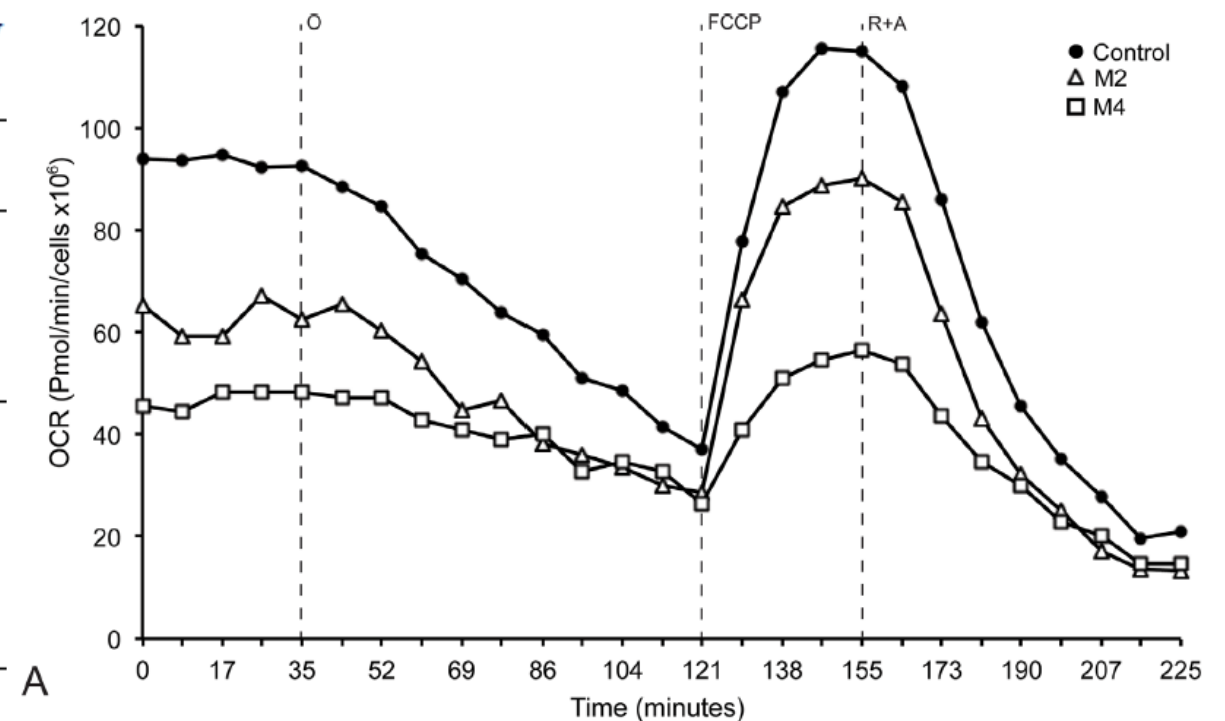
- Oxygen consumption rate (OCR)[ρυθμός κατανάλωσης οξυγόνου]
- oligomycin, an ATP synthase inhibitor
- FCCP, a proton circuit uncoupler [αποζεύκτη κυκλώματος πρωτονίων]
- rotenone (Rot) and antimycin A (Ant A), [inhibitors of MT complexes I and III].



Η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία είναι μια οξεία απόκριση των αρθρικών Χονδροκυττάρων σε μηχανική βλάβη

Table 1. Mechanical Parameters of Impact by Experimental Group

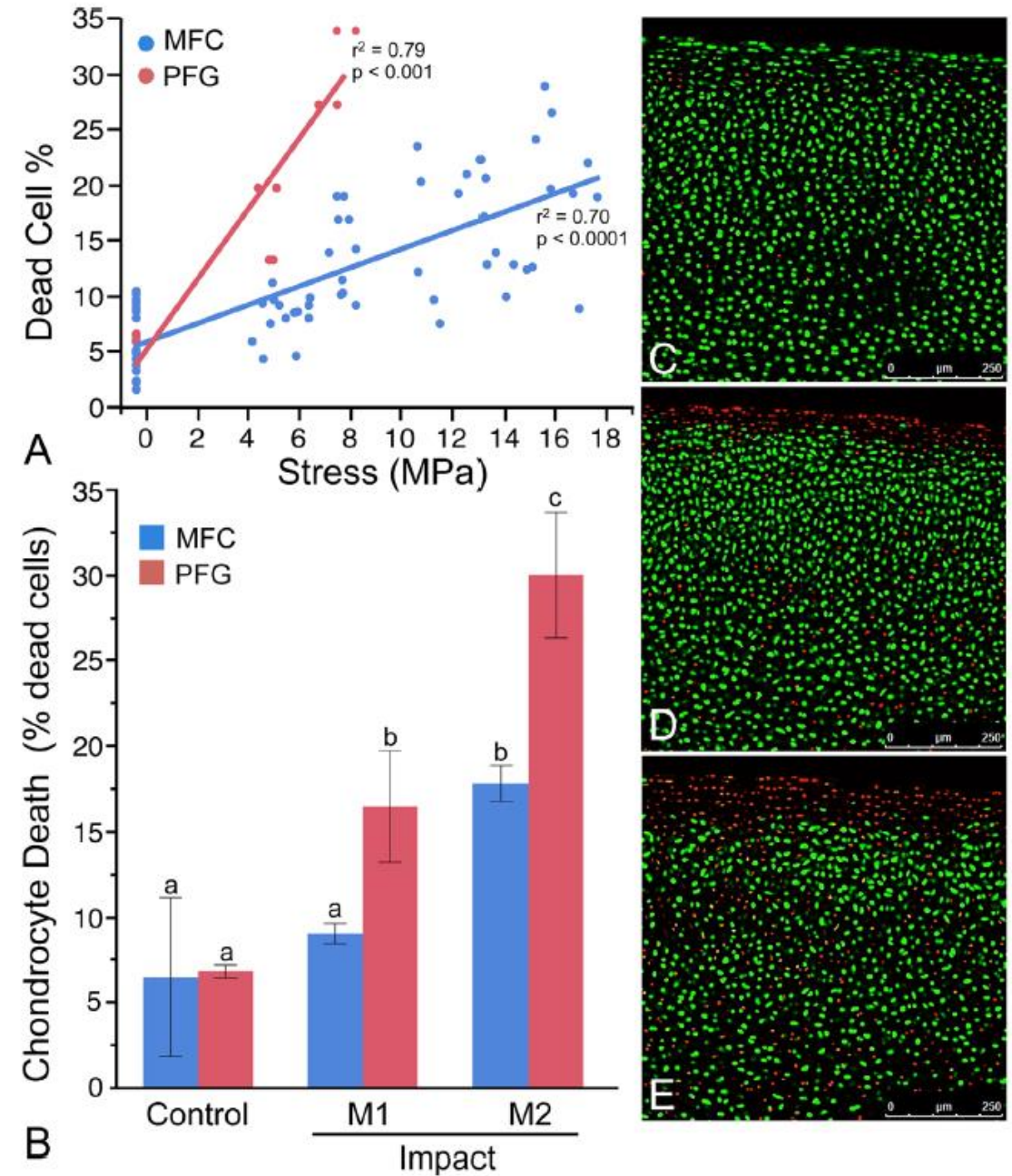
Experimental Group	Impact Magnitude	
	Mean Peak Stress; MPa (\pm s.d.)	Mean Peak Stress Rate; GPa/s (\pm s.d.)
Control	n/a	n/a
M1	5.6 (0.4)	6.7 (1.3)
M2	7.5 (0.4)	9.3 (1.5)
M3	14.1 (0.7)	28.1 (1.8)
M4	16.2 (0.7)	32.0 (1.6)



Μεγαπασκάλ (MPa - Μονάδες μέτρησης πίεσης)

Ο θάνατος των χονδροκυττάρων που προκαλείται από κρούση διαφέρει ανάλογα με τη θέση εντός της άρθρωσης.

medial femoral condyle (MFC) μέσος μηριαίος κόνδυλος
patellofemoral groove (PFG) επιγονατιδομηριαία αύλακα.



Οι αναστολείς p38 MAPK, JNK, NFκB και AP-1 ακυρώνουν την δράση της IL-1β και έτσι ευοδώνουν τον πολλαπλασιασμό και την πρωτεϊνική σύνθεση των χονδροκυττάρων

SB203580: Akt & p38MAPK inhibitors

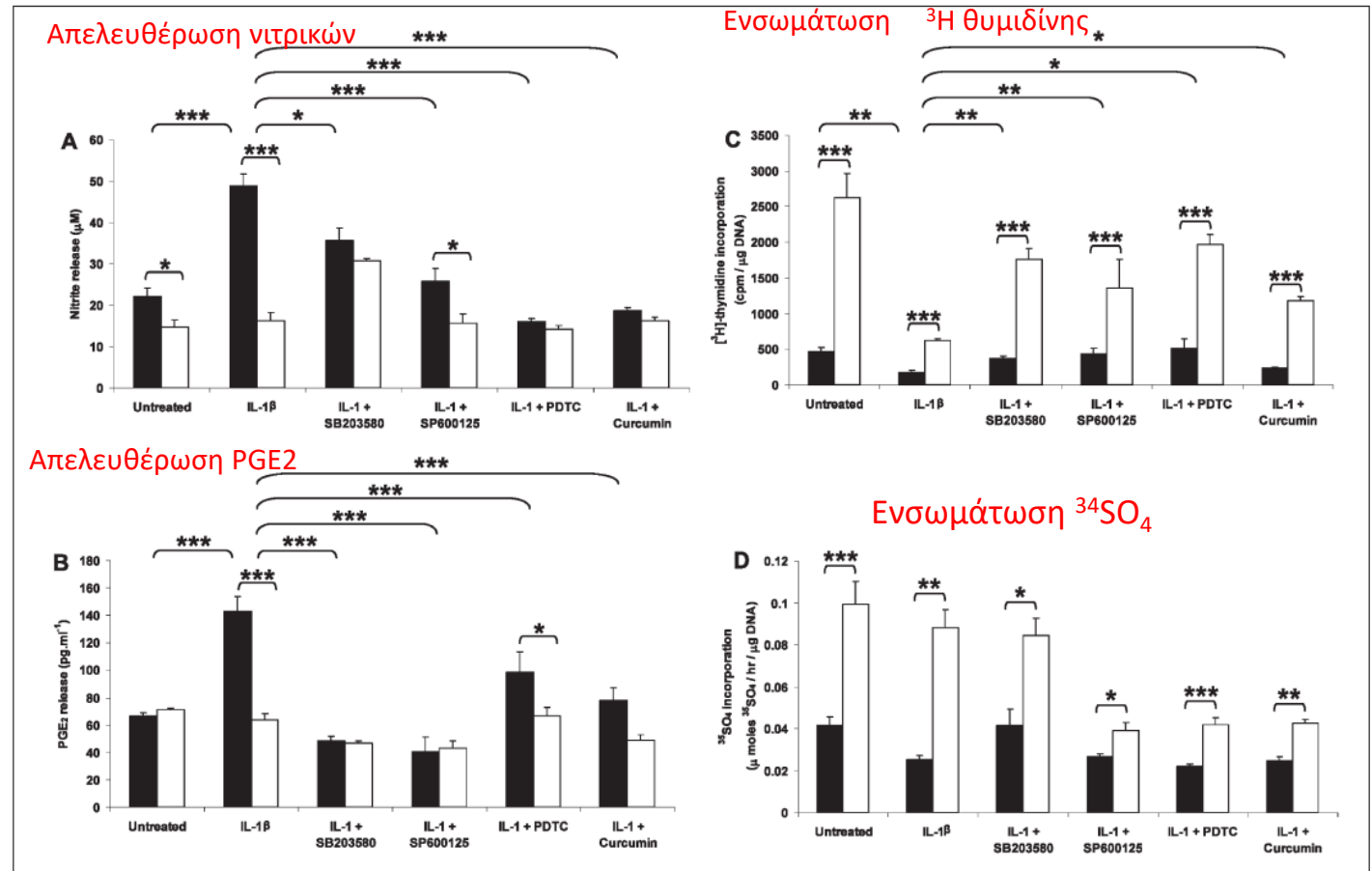
SP600125: JNK inhibitor

PDTC: Χηλική ένωση με Fe²⁺ και Fe³⁺, επάγει τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου φάσης G1 σε αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα μέσω της πρόκλησης έκφρασης p21Cip1: Συμμετοχή της p38 MAPK

Curcumin: ένα διαρυλοεπτανοειδές, που ανήκει στην ομάδα των κουρκουμινολιγνάνων, τα οποία είναι φαινολικές χρωστικές που ευθύνονται για το κίτρινο χρώμα του κουρκουμά. Η εργαστηριακή και κλινική έρευνα δεν είχε επιβεβαιώσει καμία ιατρική χρήση της κουρκουμίνης το 2008. Είναι δύσκολο να μελετηθεί γιατί είναι τόσο ασταθές όσο και ελάχιστα βιοδιαθέσιμο. Σήμερα;

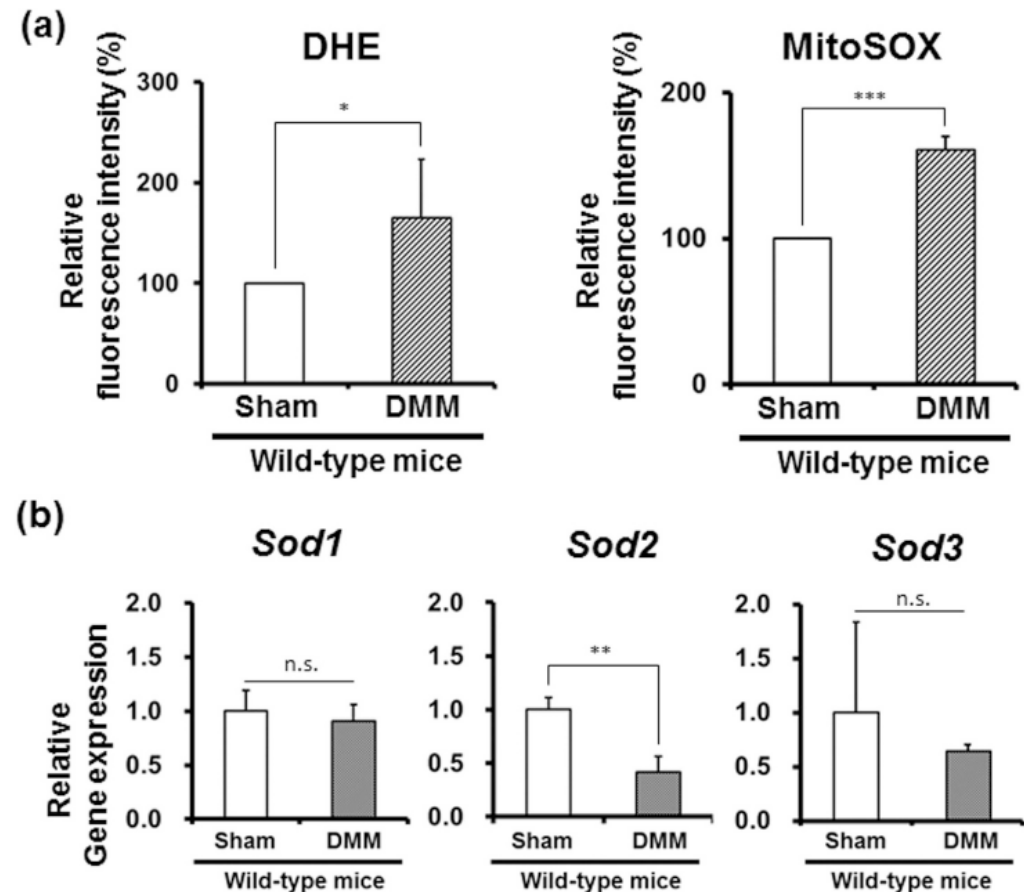
solid **black** bars indicates unstrained constructs (u) and **white** bars indicates strained constructs (o)

Strained: 15% dynamic compressive strain at 1 Hz, for 48 hours



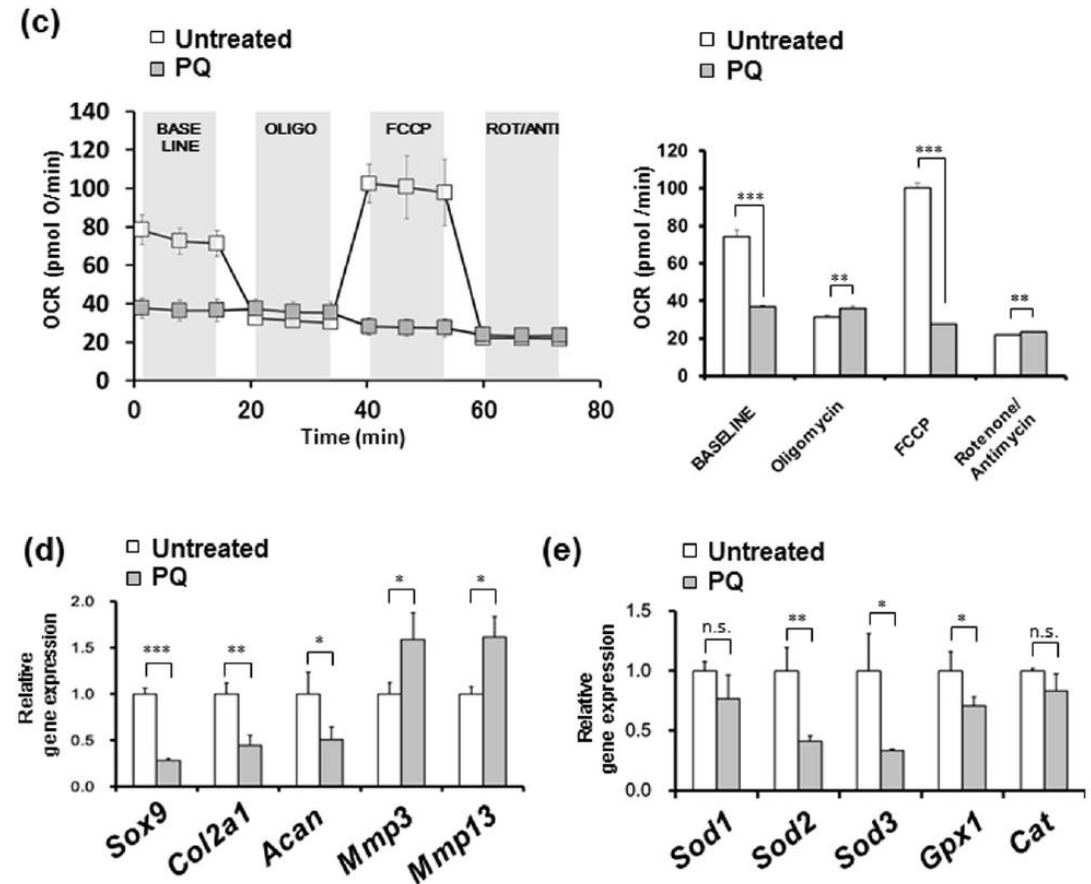
Η μηχανική υπερφόρτωση προκαλεί ανισορροπία μεταξύ υπεροξειδίου και δισμουτάσης του υπεροξειδίου οδηγώντας σε αποδόμηση του χόνδρου

- DMM (destabilization of the medial meniscus) to induce abnormal loading in the chondrocytes of knee cartilage of C57BL/6 wild-type mice
- SOD2 (Superoxide dismutase 2, mitochondrial), μετατρέπει το τοξικό υπεροξειδίο του θείου που είναι παραπροϊόν της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια σε H_2O_2 και O_2
- DHE (dihydroethidium) εκφράζει **μπλε χρώμα στο κυτταρόπλασμα μέχρι να οξειδωθεί** και ακολούθως ενσωματώνεται στο DNA **βάφοντας τον πυρήνα με ένα ζηρό κόκκινο χρώμα**
- MitoSOX staining, Χρωματίζει τα μιτοχόνδρια στα ζωντανά κύτταρα
- Paraquat (PQ, methyl viologen dichloride hydrate) είναι πολύ γνωστός ως επαγωγέας μιτοχονδριακού υπεροξειδίου στο σύμπλεγμα I



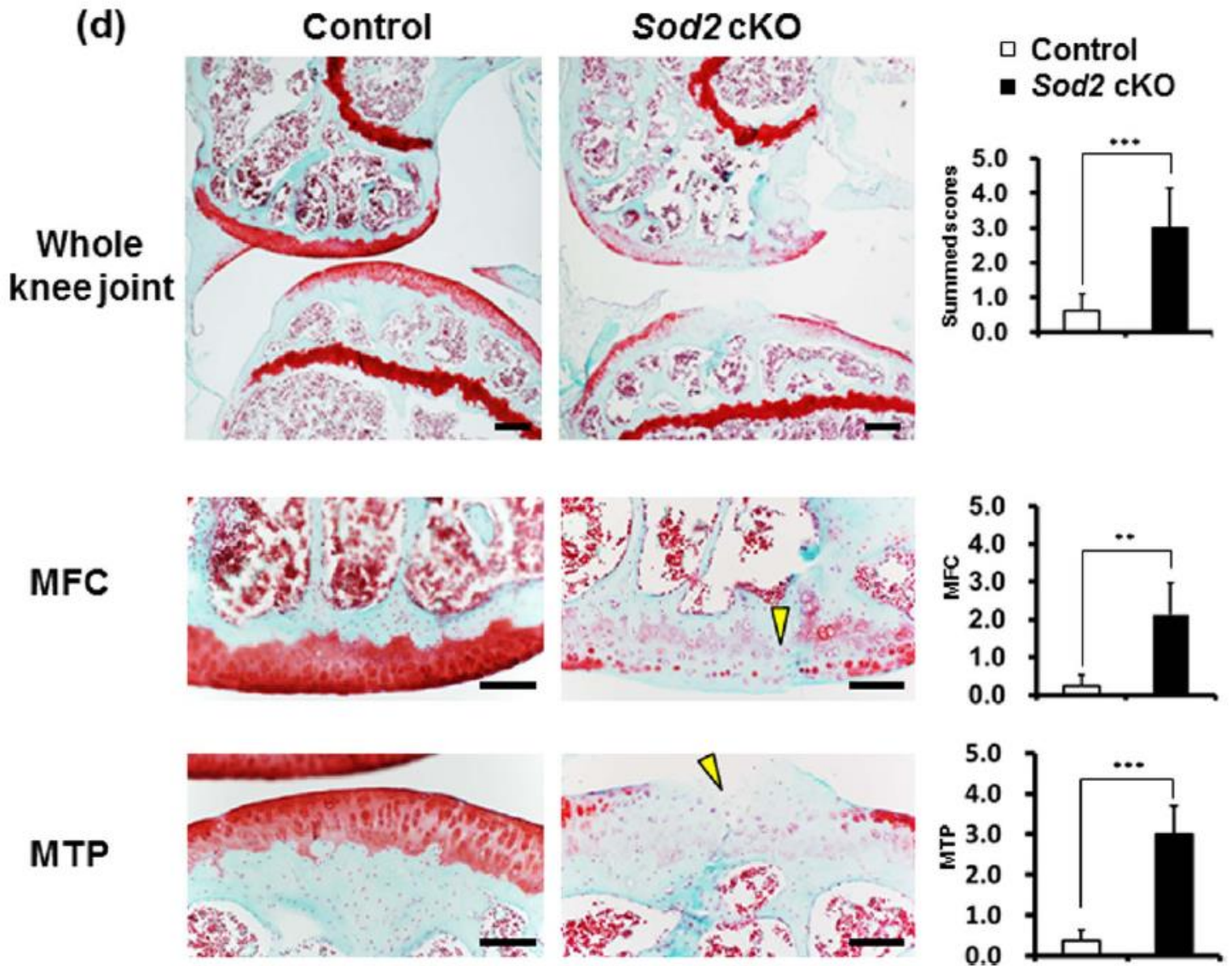
Η απορρύθμιση του μιτοχονδριακού υπεροξειδίου από το paraquat προκαλεί μείωση της δισμουτάσης του υπεροξειδίου -2 και μιτοχονδριακή δυσλειτουργία στα χονδροκύτταρα.

- PQ: Paraquat
- OCR: Oxygen consumption rate
- SOX9: πρωτεΐνη που είναι σημαντική για την εμβρυϊκή και μυοσκελετική ανάπτυξη
- ACAN: aggrecan (τύπος πρωτεογλυκάνης)[συμβάλλει στην ενίσχυση της στερεότητας του χόνδρου]
- MMP3/MMP13: Metalloproteinases
- Sod1/2/3: δισμουτάσες του υπεροξειδίου
- Gpx1: Glutathione peroxidase 1, προστατεύει τα κύτταρα από το οξειδωτικό stress
- Cat: καταλάση, ένα αντι-οξειδωτικό ένζυμο

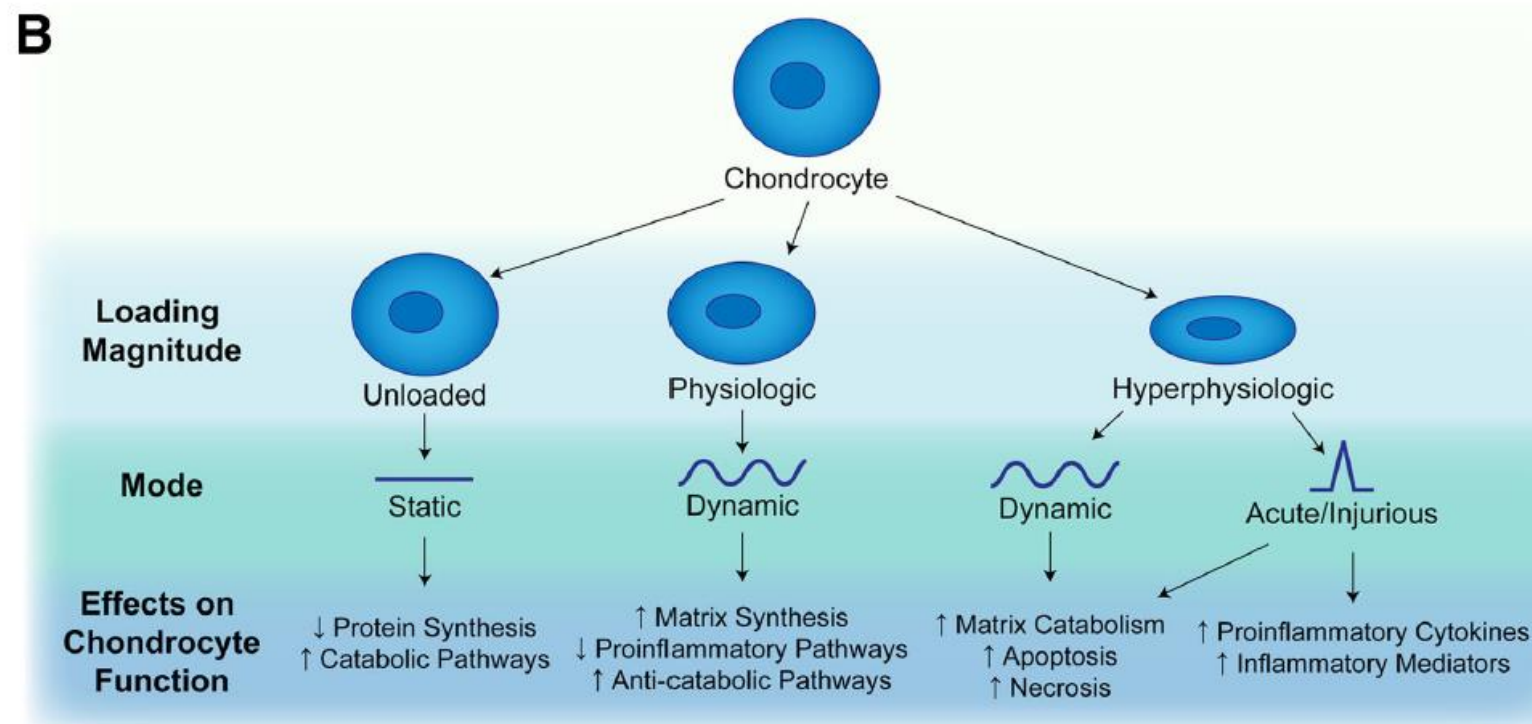
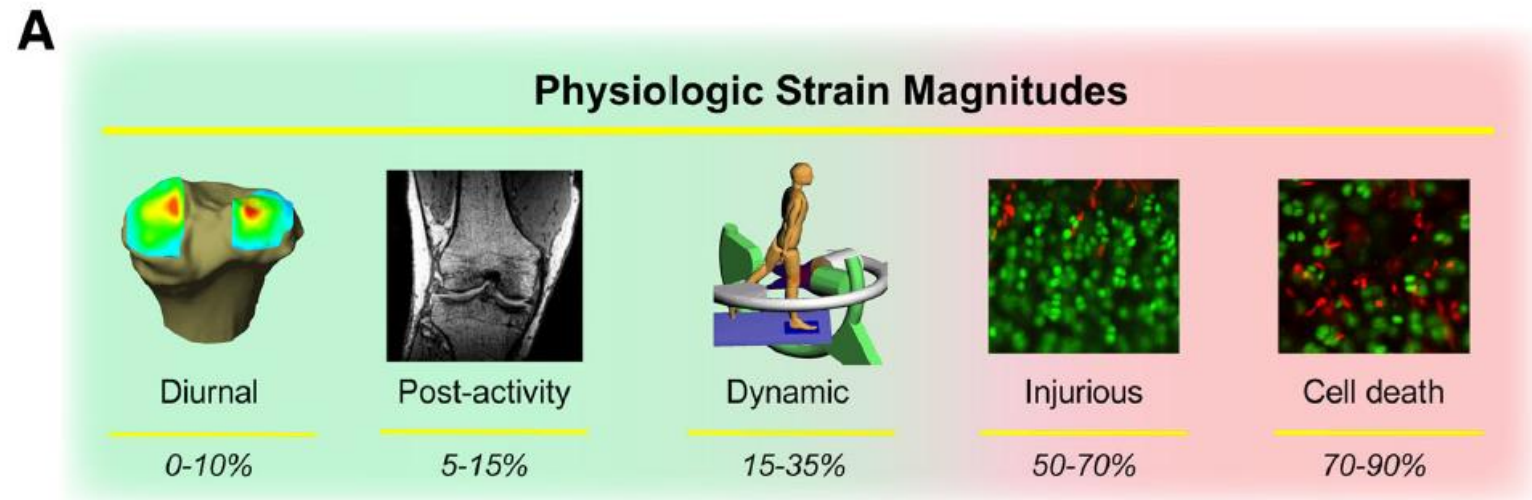


Πειραματόζωα με έλλειψη δισμουτάσης του υπεροξειδίου τύπου 2 παρουσιάζουν καταστροφή του χόνδρου με την ηλικία

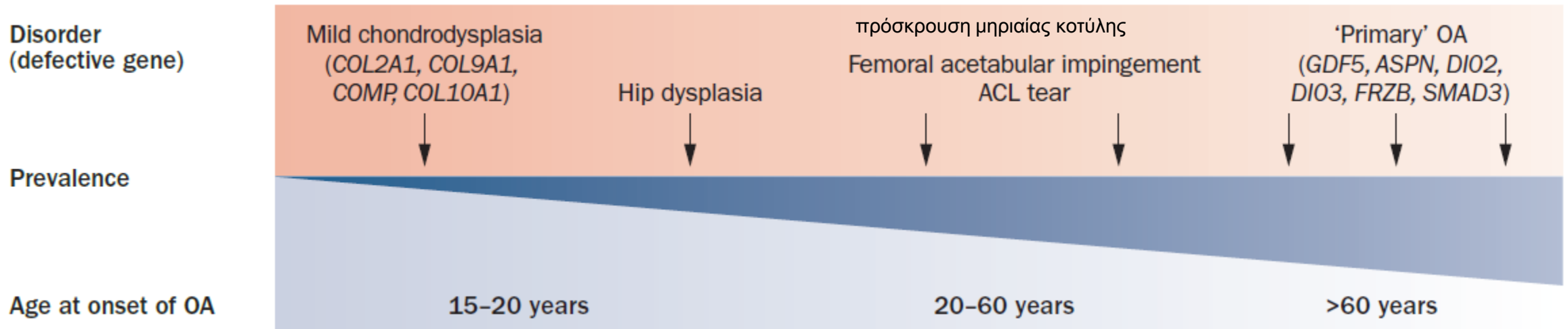
medial tibial plateau (MTP)
(Μέσο κνημιαίο πλατώ)
medial femoral condyle (MFC)
(μέσος μηριαίος κόνδυλος)
Sod2: superoxide dismutase
(δισμουτάση του υπεροξειδίου)



Η ένταση της μηχανικής υπερφόρτισης καθορίζει τις επιπτώσεις στη λειτουργία των χονδροκυττάρων



Γονίδια και ΟΑ: Η ΟΑ μπορεί να θεωρηθεί ένα συνεχές από ήπια χονδροδυσπλασία μέχρι πρωτοπαθή ΟΑ



GDF5: Αυτό το γονίδιο κωδικοποιεί έναν εκκρινόμενο συνδέτη της υπερικογένειας πρωτεϊνών TGF-β. Οι συνδέτες αυτής της οικογένειας δεσμεύουν διάφορους TGF-β υποδοχείς οδηγώντας σε στρατολόγηση και ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων της οικογένειας SMAD που ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση

ASPN: Κωδικοποιεί μια εξωκυτταρική πρωτεΐνη χόνδρου πλούσια σε λευκίνη. Η πρωτεΐνη ρυθμίζει τη χονδρογένεση αναστέλλοντας την έκφραση του TGF-β1 στον χόνδρο

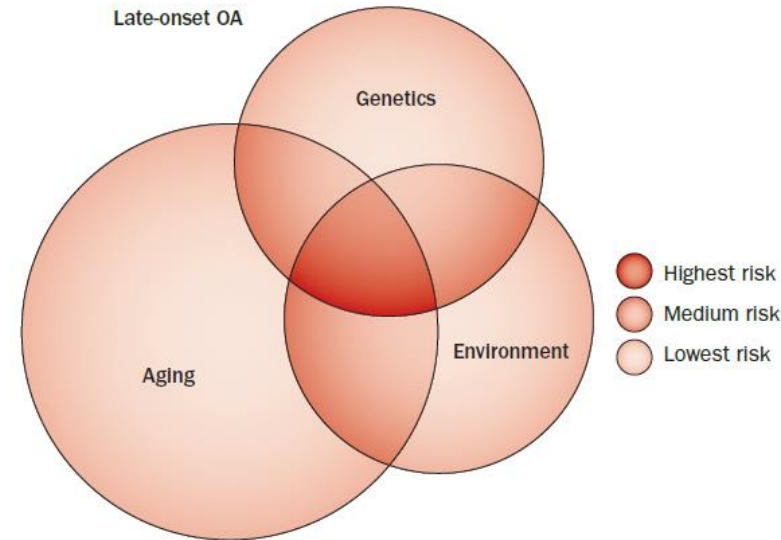
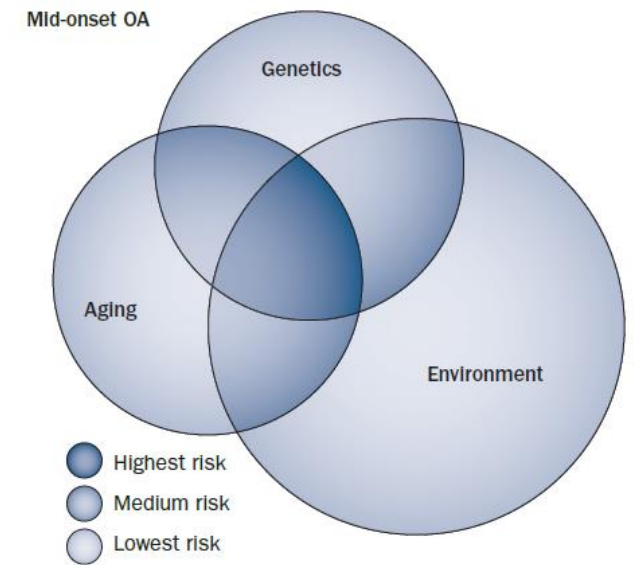
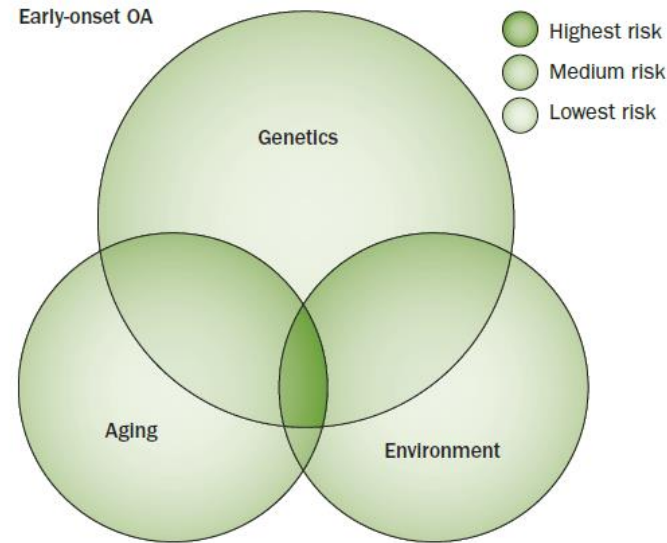
DIO2: Η δεϊωδινάση D2 είναι ένζυμο που μετατρέπει την T4 στην πολύ ισχυρότερη μορφή της θυρεοειδικής ορμόνης, την T3. Πληθυσμιακές μελέτες έχουν δείξει συσχετίσεις μεταξύ του πολυμορφισμού Thr92Ala-DIO2 με υπέρταση, αντίσταση στην ινσουλίνη, διαβήτη τύπου 2, διπολική διαταραχή, νοητική υστέρηση, χαμηλό πηλίκιο νοημοσύνης (IQ), οστεοαρθρίτιδα και αυξημένο ρυθμό καταστροφής των οστών.

FRZB: είναι μια πρωτεΐνη που δεσμεύει το **Wnt** ιδιαίτερα σημαντική στην εμβρυϊκή ανάπτυξη. Είναι ένας ανταγωνιστής για τον υποδοχέα G-πρωτεΐνης Frizzled.

Οι παράγοντες κινδύνου για ΟΑ ποικίλλουν ως προς τη συμβολή τους στην ευαισθησία για τη νόσο με την πάροδο του χρόνου

Σχέση γονιδίων με νόσο:

- ✓Υποέκφραση
- ✓Υπερέκφραση
- ✓Μετάλλαξη
- ✓Έκφραση σε συγκεκριμένους ιστούς



Γονίδια που σχετίζονται με ΟΑ και ανάπτυξη των αρθρώσεων (1)

Gene	Protein function	Tissue localization	Pathway or system affected	Anatomical location
<i>A2BP1</i> ⁸⁰	Regulates pre-mRNA splicing	Bone, skeletal muscle	Cell function during skeletal development	Hand
<i>AGC1</i> ⁷³	Matrix component	Cartilage	Matrix development	Hand
* <i>ASPN</i> ^{89,93,117,118}	TGFβ binding protein	Cartilage	Cartilage development	Hip Knee
<i>ADAM12</i> ¹¹⁹	Cleavage of matrix components	Bone (osteoclasts)	Bone metabolism	Knee
<i>BMP2</i> ¹¹⁹	Growth factor	Cartilage	Cartilage development	Knee
<i>BMP5</i> ⁷⁶	Growth factor	Synovial joint	Joint development	Hip
<i>COMP</i> ⁹³	Matrix component	Cartilage	Matrix development	Knee
<i>COL2A1, COL11A1, COL11A2</i> (collagen genes) ³¹	Matrix components	All joint structures	Matrix development	All
<i>DIO2</i> ¹²⁰	Deiodinase; regulates thyroid hormone	Growth plate	Development of hypertrophy	Widespread distribution and present in hip
<i>DIO3</i> ¹²¹	Deiodinase; regulates thyroid hormone	Growth plate	Development of hypertrophy	Widespread distribution and present in hip

Γονίδια που σχετίζονται με ΟΑ και ανάπτυξη των αρθρώσεων (2)

Gene	Protein function	Tissue localization	Pathway or system affected	Anatomical location
<i>DVWA</i> ¹²²	Matrix component	Growth plate	Development of hypertrophy	Long bones
<i>ESR1</i> ^{119,123,124}	Regulates matrix metabolism and MMP expression	Cartilage	Turnover of cartilage	Broadly distributed and present in knee
<i>FRZB</i> ^{12,53,76,93,125}	Wnt antagonist	Cartilage	Cartilage and bone development	Broadly distributed and present in hip and knee
* <i>GDF5</i> ^{99,100,102}	Growth factor	Synovial joint	Joint development	Broadly distributed and present in hip, knee and hand
<i>COX2</i> (also known as <i>PTGS2</i>) ^{81,119}	Prostaglandin synthesis	Bone, cartilage	Inflammation	Knee Spine
<i>VDR</i> ¹²⁶	Nuclear receptor; regulates vitamin D signaling	Bone	Bone development Cancer	Knee
<i>WISP1</i> ¹²⁷	Wnt pathway regulator	Cartilage, bone	Cartilage and bone development	Spine

*Association replicated in many populations. Abbreviations: MMP, matrix metalloproteinase; OA, osteoarthritis; TGFβ, transforming growth factor β.

Μεταφραστικό πλαίσιο για επιλεγμένα γονίδια που σχετίζονται με την οστεοαρθρίτιδα

Transforming Growth Factor β 1

Growth/differentiation factor 5: Οστική ανάπτυξη/μορφογένεση, μέλος της οικογένειας TGF- β

FGF-18 (fibroblast growth factor) πλειοτροπικός αυξητικός παράγοντας

Cathepsin K: εμπλέκεται στην αναδόμηση και την απορρόφηση των οστών.

? 

DPEP1: υδρολύει διάφορα διπεπτίδια στον νεφρικό μεταβολισμό

Diablo IAP-Binding Mitochondrial Protein [Inhibitor of apoptosis (IAP)] μιτοχονδριακή πρωτεΐνη που στον άνθρωπο κωδικοποιείται από την DIABLO (πρωτεΐνη άμεσης δέσμησης IAP με χαμηλό pI)

CRHR1: corticotropin releasing hormone receptor 1

MAPT: microtubule associated protein tau

TNFSF15: TNF superfamily member 15

Mechanism of action (MOA)

Age-Related Macular Degeneration (AMD)

Gene	OA phenotype	OA locus Chr: index variant	MOA needed for OA, if known ^a	Drug targeting OA gene	Development phase	Molecule type	Drug mechanism of action	Current indication(s)
TGFB1	OA; OA_kneehip	Chr19: rs75621460	Agonist/upregulator	INVOSSA	Registered	Cell therapy	↑Expression	Knee osteoarthritis
GDF5	OA_knee; OA_kneehip; OA	Chr20: rs143384	Agonist/upregulator	HMR-4052	Clinical development	Protein	↑Signaling	Regeneration, cartilage, intervertebral disc
FGF18	OA_kneehip	Chr5: rs3884606	Agonist/upregulator	AS-902330	Clinical development	Protein	↑Signaling	Osteoarthritis, cartilage regeneration
CTSK	OA; OA_hip	1:150214028_CT_C	Unknown	CTSK inhibitor	Clinical development	SM	Inhibitor	Osteoarthritis
IL11	OA_hip	hr19: rs4252548	↑IL11 signaling?	Oprelvekin	Approved	Protein	↑IL11 signaling	Thrombocytopenia
DPEP1	OA	Chr16: rs1126464	Unknown	Cilastatin	Approved	SM	Inhibitor	Coadministered with imipenem (antibiotic) to prolong effective dose
DIABLO	OA_hip	Chr12: rs11059094	Unknown	LCL-161	Clinical development	SM	SMAC mimetic and IAP inhibitor	Breast cancer, leukemia, myeloma
CRHR1	OA_hip	Chr17: rs62063281	Inhibitor	NBI-74788	Clinical development	SM	Antagonist	Adrenal insufficiency, primary, congenital
MAPT	OA_hip	Chr17: rs62063281	Inhibitor	Lortaucupir F 18, leuco-methylthioninium	Clinical development	SM	Tau-aggregation inhibitor	Alzheimer's disease
TNFSF15	OA; OA_hip; OA_kneehip; OA_knee	Chr9: rs919642, rs1330349	Unknown	PF-06480605	Clinical development	Ab	Inhibitor	Ulcerative colitis, wet AMD

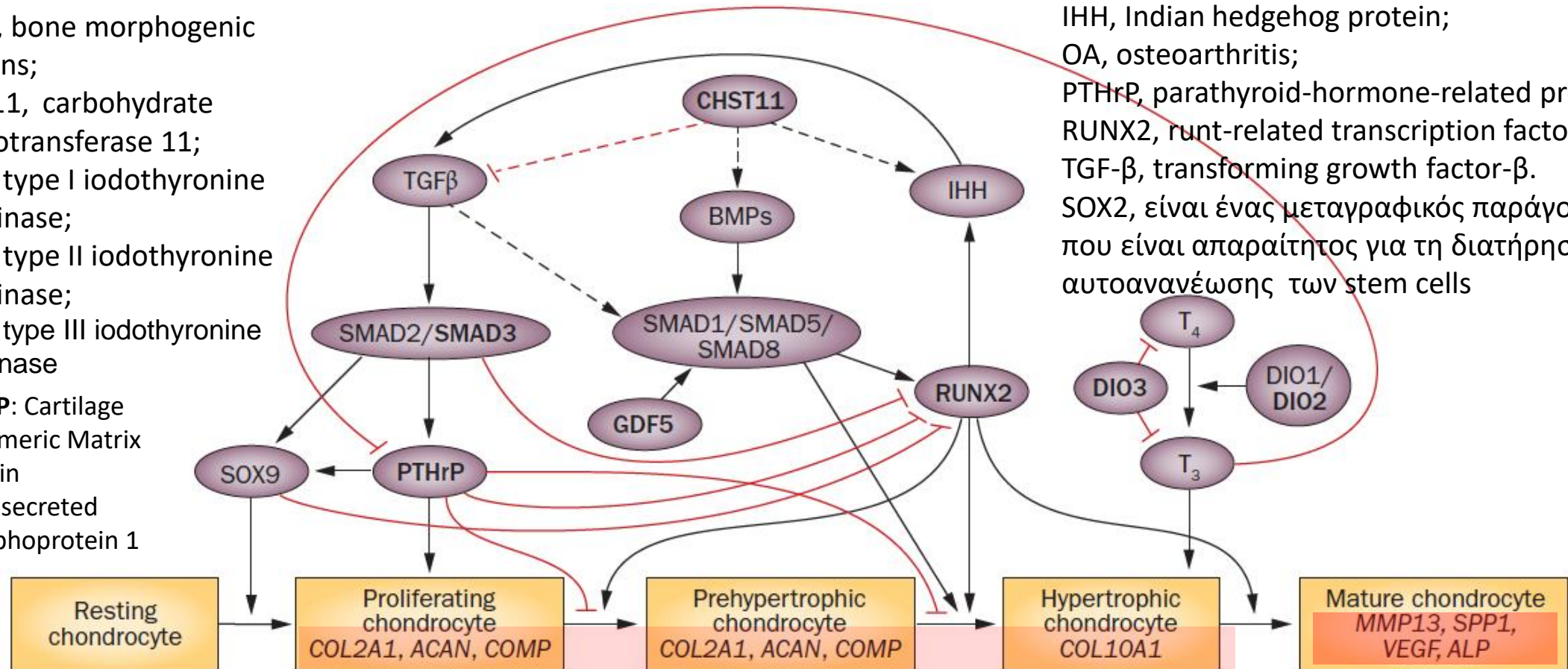
Ab, antibody; Chr, chromosome; OA, osteoarthritis; OA_hip, hip osteoarthritis; OA_knee, knee osteoarthritis; OA_kneehip, knee and/or hip osteoarthritis; SM, small molecule. ^aBased on functional evidence supporting the gene as an osteoarthritis risk factor. Criteria for inclusion of 'OA locus' gene: target has a therapeutic approved or in clinical development; therapeutic with OA indication and/or target eQTL colocalization with index variant and/or target missense variant with posterior probability of colocalization >0.5. Drug data compiled from ChEMBL (URLs) and ClinicalTrials.gov (URLs).

Αλληλεπιδράσεις μεταξύ γονιδίων που σχετίζονται με ευαισθησία για ΟΑ κατά τη διάρκεια της ενδοχόνδριας οστεοποίησης

BMPs, bone morphogenic proteins;
 CHST11, carbohydrate sulphotransferase 11;
 DIO1, type I iodothyronine deiodinase;
 DIO2, type II iodothyronine deiodinase;
 DIO3, type III iodothyronine deiodinase

COMP: Cartilage Oligomeric Matrix Protein
Spp1 secreted phosphoprotein 1

GDF5, growth/differentiation factor 5;
 IHH, Indian hedgehog protein;
 OA, osteoarthritis;
 PTHrP, parathyroid-hormone-related protein;
 RUNX2, runt-related transcription factor 2;
 TGF- β , transforming growth factor- β .
 SOX2, είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που είναι απαραίτητος για τη διατήρηση της αυτοανανέωσης των stem cells

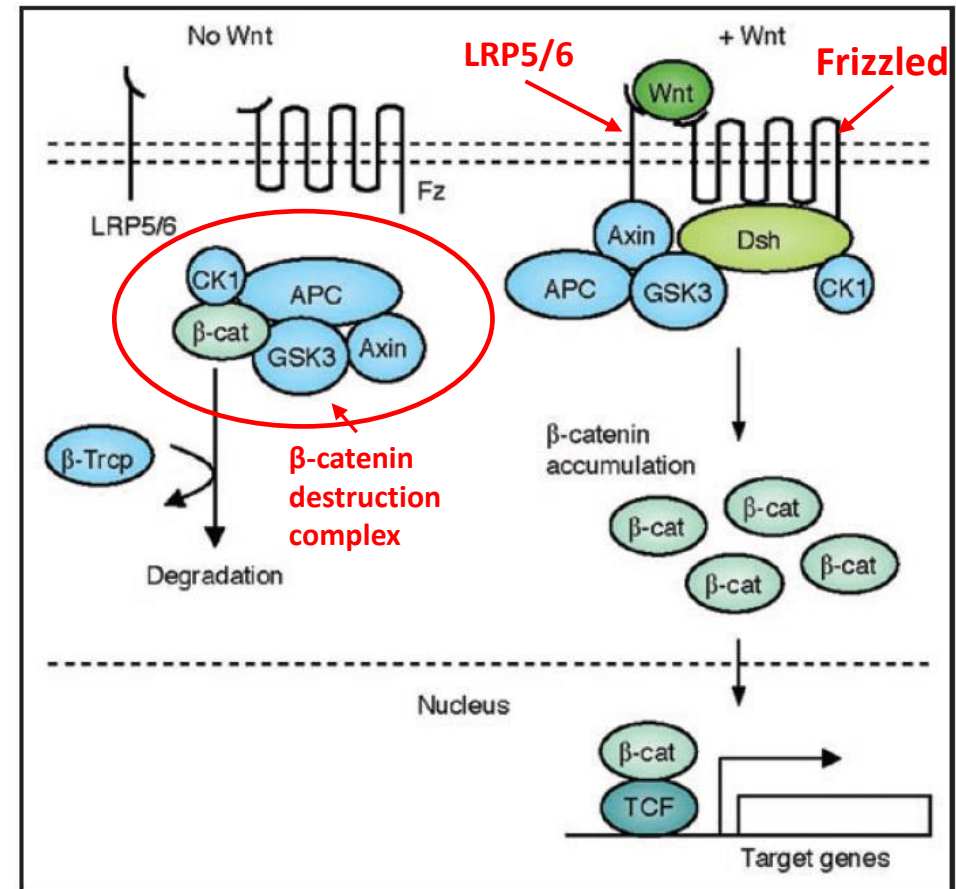


Μονοπάτια μεταγωγής σήματος που διαμεσολαβούν λειτουργίες χονδροκυττάρων

Μονοπάτι μεταγωγής σήματος	Κύτταρα που έχουν μελετηθεί	Αποτελέσματα
Wnt/catenin	<ul style="list-style-type: none">• Ιστοί OA σε ποντίκι και άνθρωπο• Χονδροκύτταρα γόνατος ποντικού	<ul style="list-style-type: none">• Υπερέκφραση MMPs και aggrecanases• Καταστολή αποδόμησης χόνδρου
PI3K/Akt/mTOR	<ul style="list-style-type: none">• Χονδροκύτταρα τρωκτικών	<ul style="list-style-type: none">• Καταστολή του PI3K/Akt/mTOR προάγει αναδόμηση του χόνδρου και αποσβένει την φλεγμονώδη απόκριση
Notch	<ul style="list-style-type: none">• Χονδροκύτταρα γόνατος ποντικού	<ul style="list-style-type: none">• Επάγει γονίδια σχετιζόμενα με OA και προάγει OA• Απαιτείται για διατήρηση αρθρικού χόνδρου και αρθρώσεων
SIRT1/AMPK	<ul style="list-style-type: none">• Χονδροκύτταρα γόνατος ανθρώπου και τρωκτικού	<ul style="list-style-type: none">• Προλαμβάνει OA ελαττώνοντας την απόπτωση και την δυσλειτουργία μιτοχονδρίων
Hippo/YAP/TAZ	<ul style="list-style-type: none">• Χονδροκύτταρα γόνατος ανθρώπου και τρωκτικού• Χονδροκύτταρα γόνατος τρωκτικού και ανθρώπινα μεσεγχυματικά	<ul style="list-style-type: none">• Μειώνει την γήρανση των χονδροκυττάρων, τα ένζυμα αποδόμησης χόνδρου και την αποδόμηση του χόνδρου• Καταστέλλει την YAP (yes-associated protein 1), διαφυλλάσσει το κολλαγόνο τύπου II, ευνοεί την διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών σε χονδροκύτταρα και μειώνει την ένταση της OA
DOT1L	<ul style="list-style-type: none">• Χονδροκύτταρα και αρθρώσεις γόνατος ποντικού και ανθρώπου	<ul style="list-style-type: none">• Προλαμβάνει την έναρξη και την πρόοδο της OA

Το μονοπάτι σηματοδότησης Wnt ρυθμίζει κρίσιμες πτυχές της μοίρας των κυττάρων

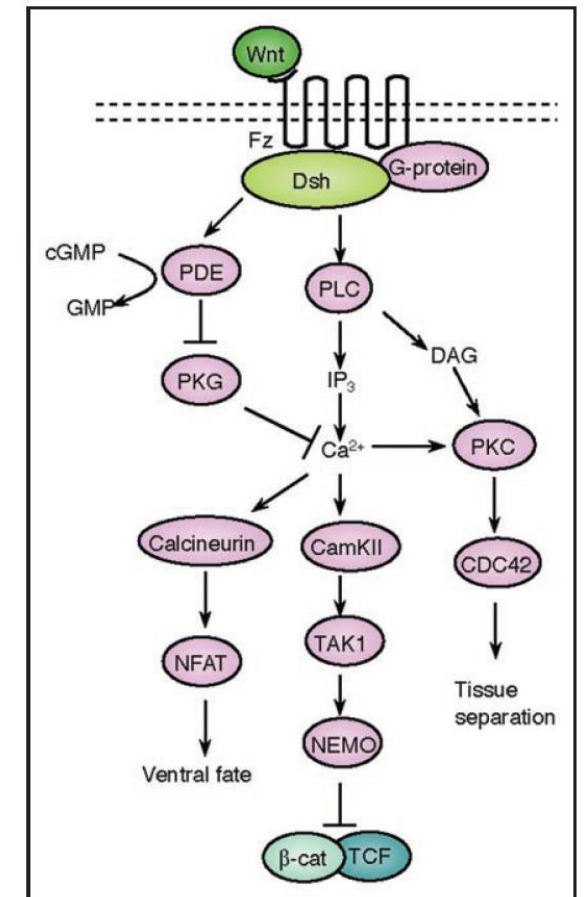
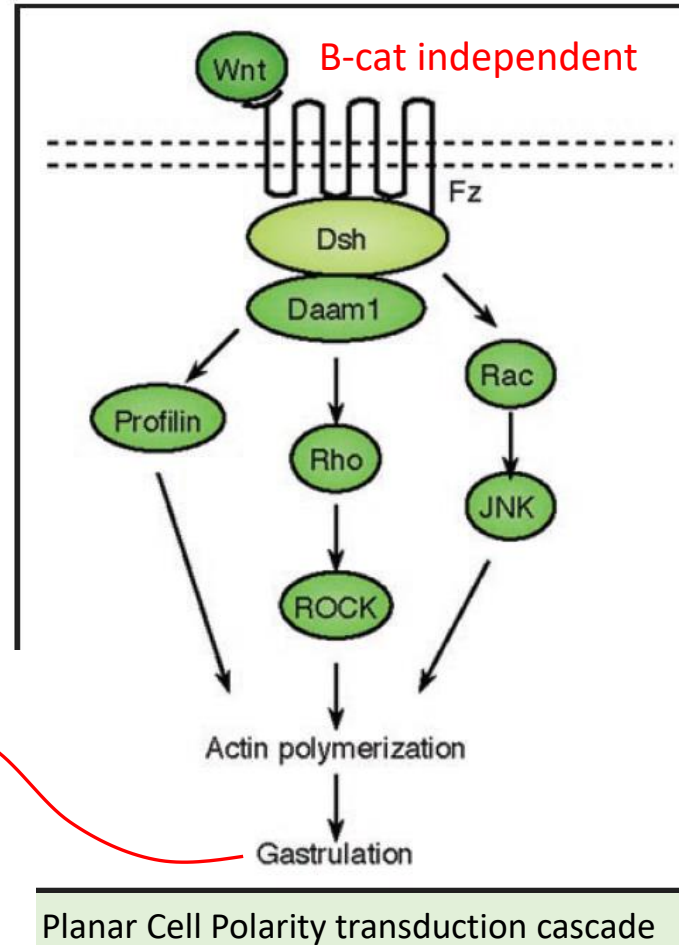
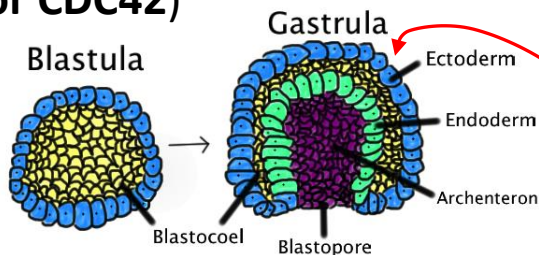
- Τα Wnts είναι εκκρινόμενες γλυκοπρωτεΐνες
- Μεγάλη οικογένεια (~19)
- Εξαιρετικά συντηρημένο μονοπάτι σηματοδότησης δια μέσου της εξέλιξης
- low-density-lipoprotein-related protein5/6 (LRP5/6) [υποδοχέας Wnt]
- Frizzled [υποδοχέας wnt]
- adenomatosis polyposis coli (APC), protein phosphatase 2A (PP2A), glycogen synthase kinase 3 (GSK3) and casein kinase 1α (CK1α).
- T-cell factor/lymphoid enhancer factor (TCF/LEF)



Κανονική σηματοδότηση Wnt

Το μη κανονικό μονοπάτι Wnt ρυθμίζει την πολικότητα των κυττάρων και τις κινήσεις των ραχιαίων μεσοδερμικών κυττάρων κατά τη σύγκλειση του νευρικού σωλήνα.

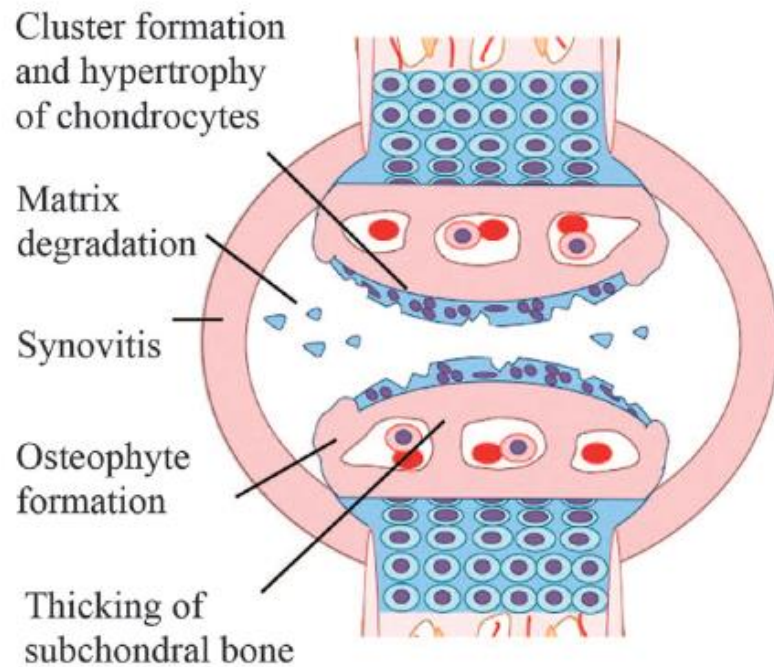
- protein kinase C (**PKC**)
- calcium/calmodulin-dependent kinase II (**CamKII**)
- TGFβ activated kinase (**TAK1**)
- nuclear factor-κB essential modulator (**NEMO**)
- Nuclear factor of activated T-cells (**NFAT**)
- T-cell factor/lymphoid enhancer factor (**TCF/LEF**)
- Cell division control protein 42 homolog (**Cdc42 or CDC42**)
- Dishevelled (**Dsh**)



Wnt/Ca²⁺ signal transduction cascade

Στον ενήλικα η ενεργοποίηση του κανονικού μονοπατιού Wnt τείνει να επιφέρει καταβολικές δράσεις στο χόνδρο

a Histological changes



b WNT and WNT-related molecule expression

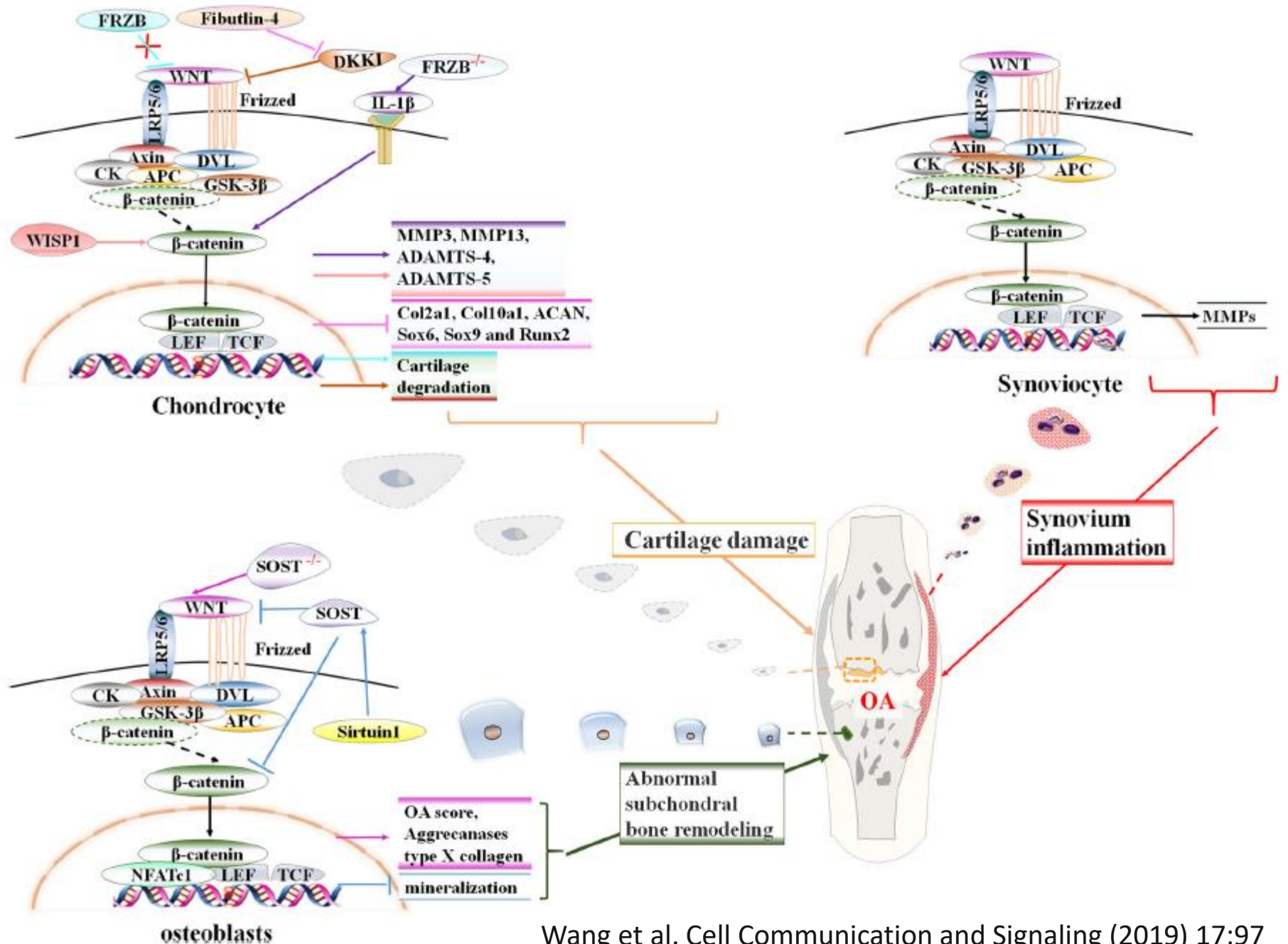
Articular cartilage

WNT 5B⁽⁶⁵⁾, WNT 10B⁽⁶⁵⁾, WNT 11⁽⁶⁵⁾ ↓
WNT 7B⁽⁶⁵⁾ ↑ ← IL-1 ↑
WNT 16⁽⁶⁸⁾ ↑
β-catenin⁽⁶⁸⁻⁷⁰⁾ ↑
WISP-1⁽⁶⁶⁾ ↑ → MMP ↑
DKK1⁽⁷¹⁾ ↑
SOST⁽⁷²⁾ ↑

Synovial tissue

WNT 3A⁽⁶⁵⁾, WNT 5A⁽⁶⁵⁾, WNT 9B⁽⁶⁵⁾ ↓
FRP1, 2, 4⁽⁷³⁾ ↑
FRZB/FRP3/SFRP3⁽⁷³⁾ ↑↓
WISP-1⁽⁶⁶⁾ ↑ → MMP ↑ (macrophage)
DKK1⁽⁷¹⁾ ↑

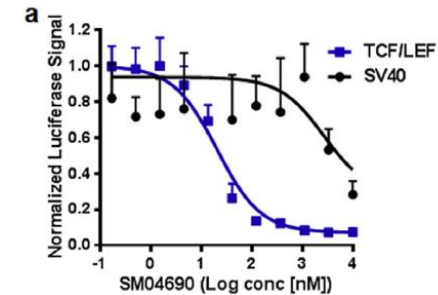
Το μονοπάτι σηματοδότησης Wnt προκαλεί βλάβη του χόνδρου, φλεγμονή του αρθρικού υμένα και παθολογική αναδόμηση του υποχονδρίου οστού



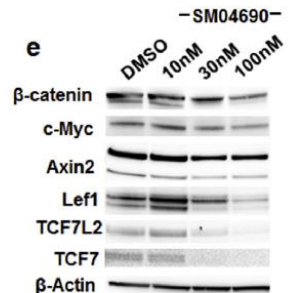
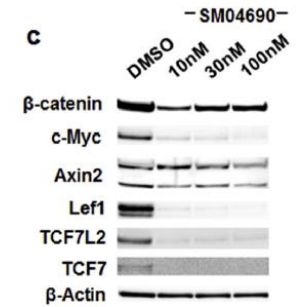
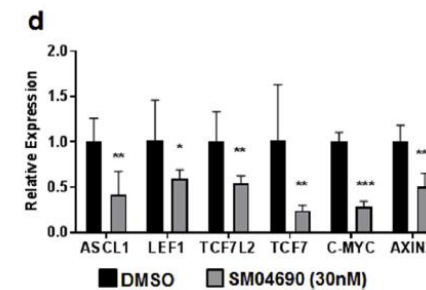
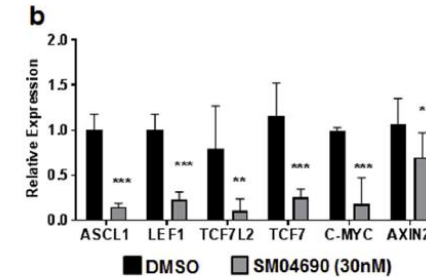
Το μόριο SM04690 είναι ένας ισχυρός και ειδικός αναστολέας της κανονικής σηματοδότησης Wnt

- Κυτταρικές δοκιμασίες αναφοράς υψηλής απόδοσης
- Δραστηριότητα του μονοπατιού Wnt και ο ρόλος ενός μικρού μορίου, του SM04690
- Οι ιδιότητες του SM04690 αξιολογήθηκαν στην διαφοροποίηση ανθρώπινων μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων του μυελού των οστών σε χονδροκύτταρα
- Ρήξη χιαστού συνδέσμου τρωκτικών ήταν το πειραματικό μοντέλο OA
- Στο μοντέλο αξιολογήθηκε η *in vivo* δράση του SM04690 τόσο βιοχημικά όσο και κλινικά να αναστέλλει το μονοπάτι Wnt και να περιορίζει την OA

Δοσοεξαρτώμενη μείωση του υποκινητή του TCF/LEF με την αύξηση συγκέντρωσης του SM04690 όπως μετράται από την αντίδραση λουσιφεράσης



T-cell factor/lymphoid enhancer factor (TCF/LEF)

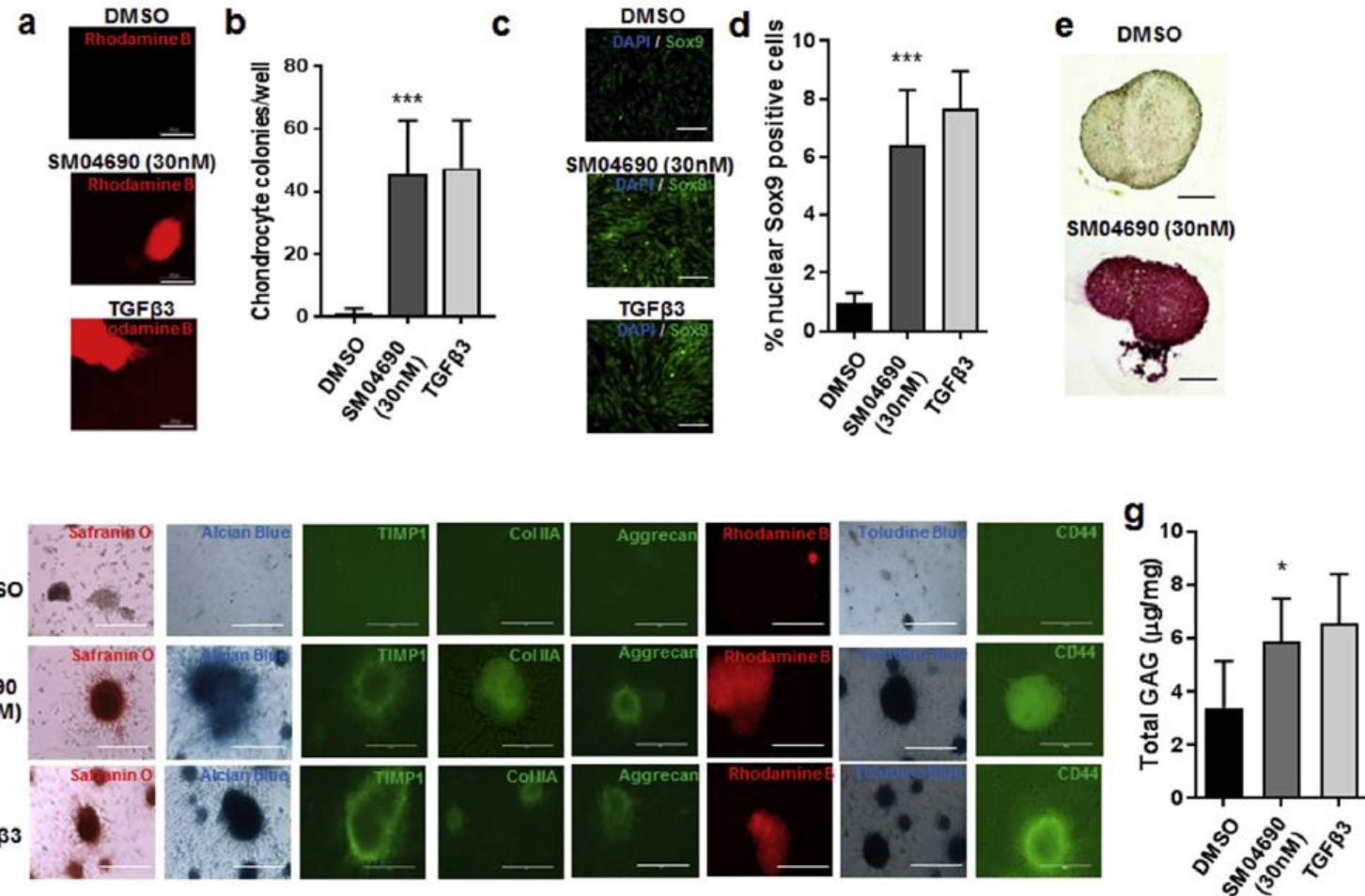


Το SM04690 προκάλεσε διαφοροποίηση χονδροκυττάρων από ανθρώπινα μεσεγχυματικά κύτταρα

SOX2, είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που είναι απαραίτητος για τη διατήρηση της αυτοανανέωσης των stem cells

TIMP1
Col IIA
Aggrecan
Rhodamine B
Toluidine blue
CD44
GAG

Δείκτες χονδροκυττάρων



Το SM04690 συνέβαλε στην αναδόμηση και την προστασία του χόνδρου στο μοντέλο OA τρωκτικών μέσω ρήξης χιαστού συνδέσμου και μερικής έσω μηνισκεκτομής

OARSI: Osteoarthritis Research Society International scoring

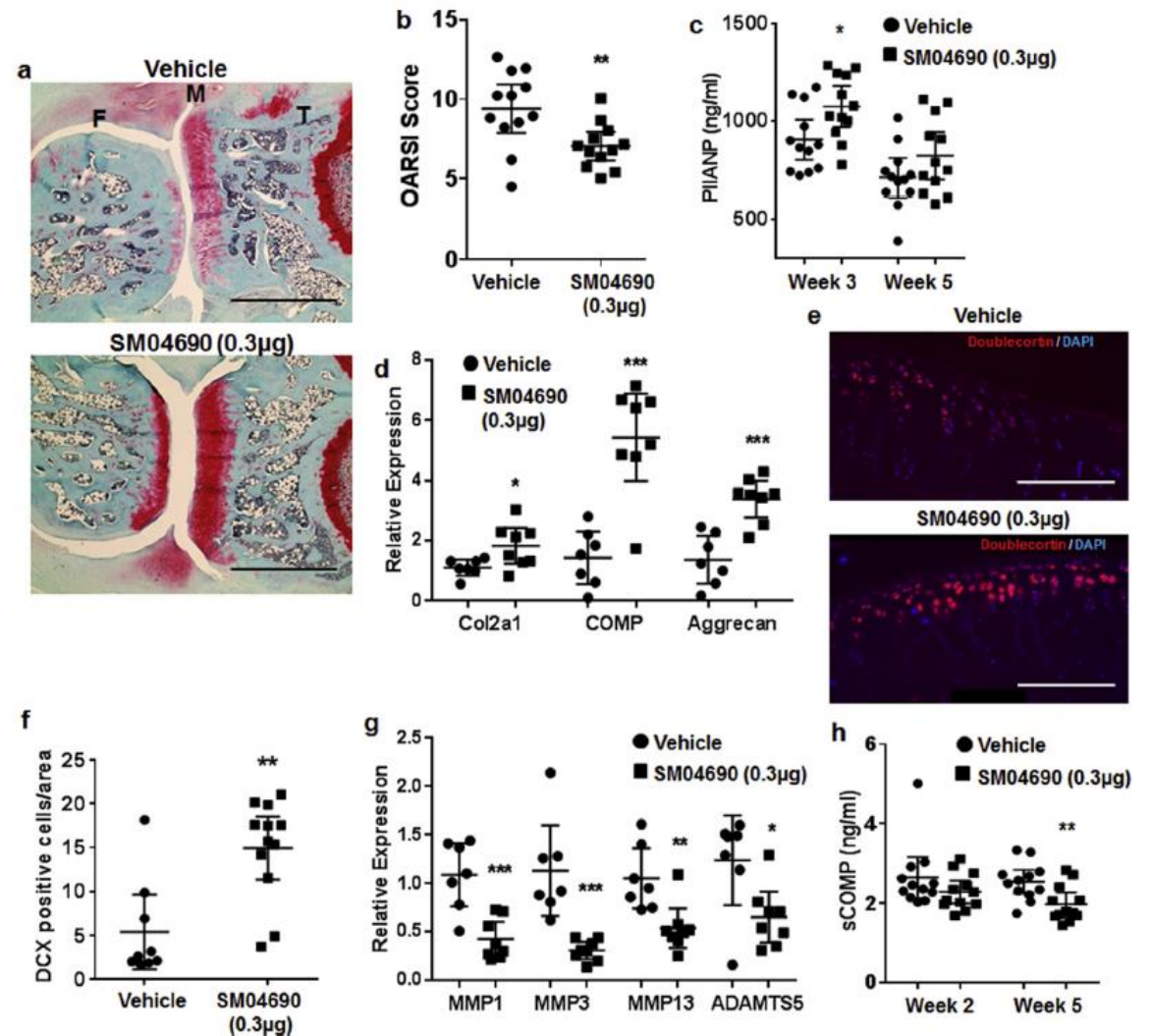
Η Doublecortin (DCX) είναι μια πρωτεΐνη που σχετίζεται με τον κυτταροσκελετό που εκφράζεται παροδικά κατά τη διάρκεια της νευρογένεσης των ενηλίκων

Dimethyl sulfoxide (DMSO)

PIIANP: N-terminal propeptide of collagen IIA

COMP: cartilage oligomeric matrix protein

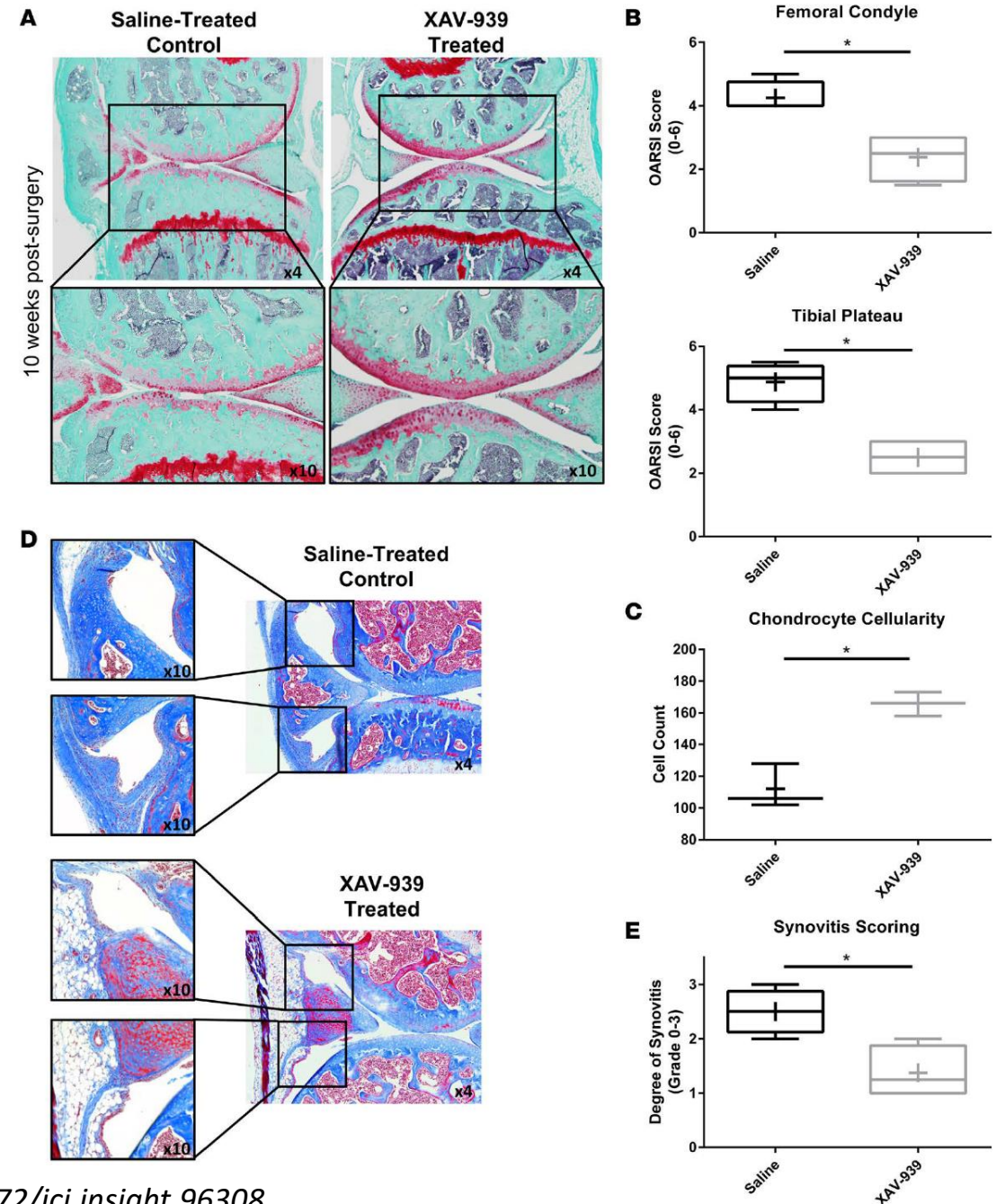
S COMP: soluble COMP



Η αναστολή Wnt από τον αναστολέα XAV-939 της πρωτεΐνης ακίν, μείωσε τον εκφυλισμό του χόνδρου και την αρθρίτιδα στο μοντέλο DMM

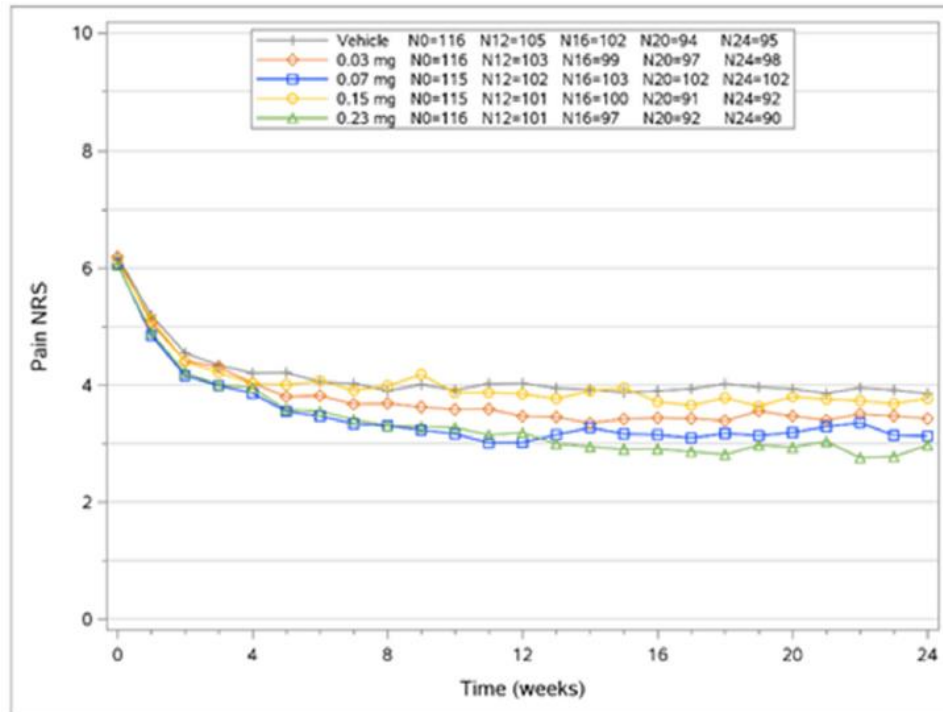
(D και E) Η χρώση τριχρωμίου του Masson έδειξε περαιτέρω σημαντική μείωση στο βαθμό υμενίτιδας στην ομάδα που έλαβε θεραπεία με αναστολέα Wnt σε σύγκριση με την ομάδα που έλαβε αγωγή με αλατούχο διάλυμα. Αρχική μεγέθυνση, ×10 (αριστερά). ×4 (δεξιά).

DMM: destabilization of the medial meniscus

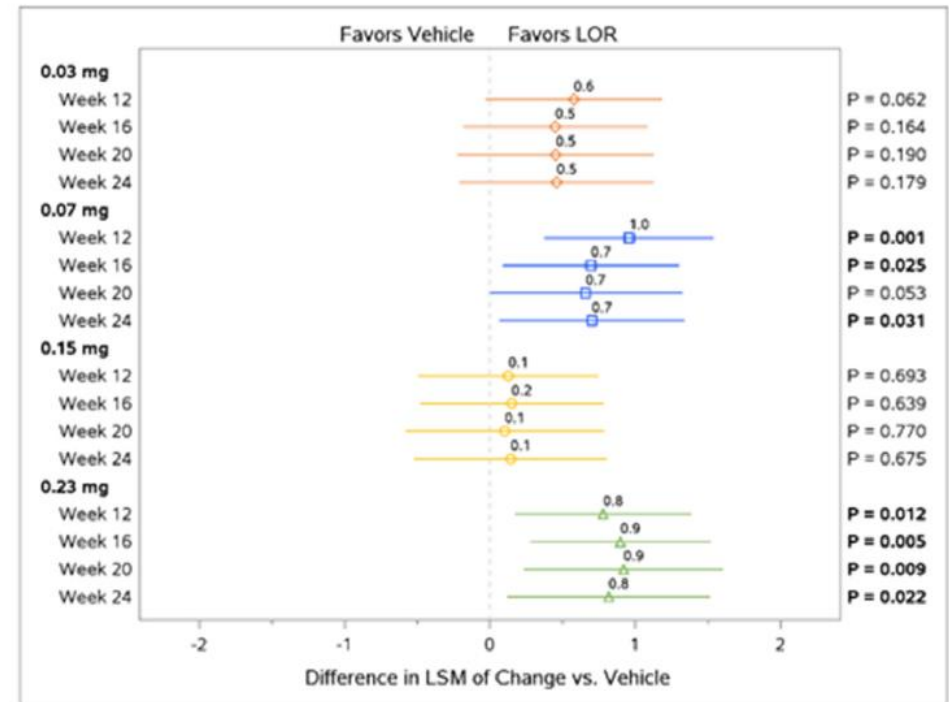


Μια τυχαιοποιημένη δοκιμή Φάσης 2β του **lorezivint (LOR)** ενός νέου ενδοαρθρικού Αναστολέα CLK2/DYRK1A και διαμορφωτή του μονοπατιού Wnt για οστεοαρθρίτιδα γόνατος

A



B



✓**DYRK1A**, dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 1A

✓Υπό βασικές συνθήκες, το DYRK1A είναι αρνητικός ρυθμιστής της Wnt/β-κατενίνης. Μετά την ενεργοποίηση της οδού, ωστόσο, το DYRK1A ασκεί το αντίθετο αποτέλεσμα, αυξάνοντας τη δραστηριότητα σηματοδότησης. Ο αναστολέας LOR αντισταθμίζει ακριβώς αυτή τη δράση

Η σηματοδότηση Wnt/ β -κατενίνης συμβάλλει στην ομοίωση αρθρικού χόνδρου μέσω επαγωγής λουμπρικής στην επιφανειακή ζώνη

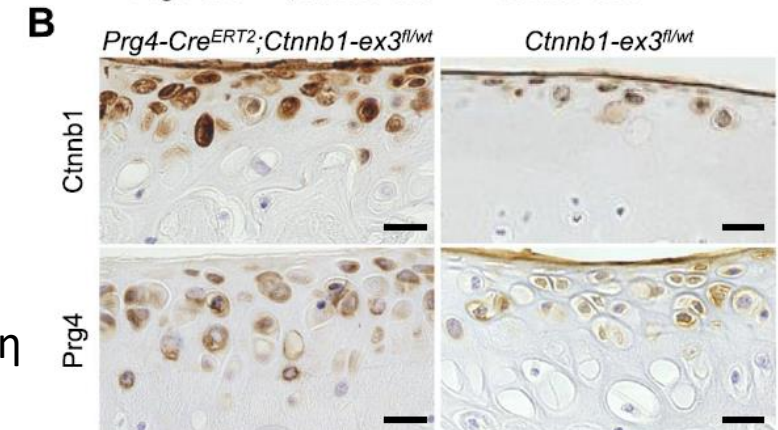
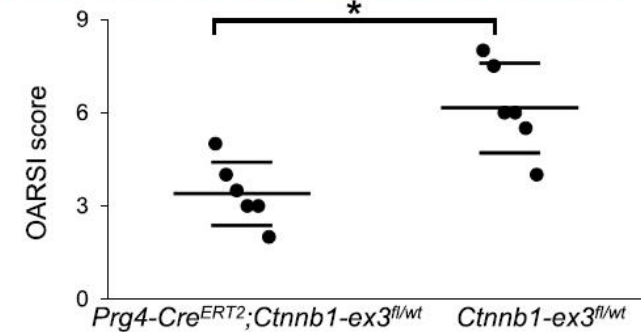
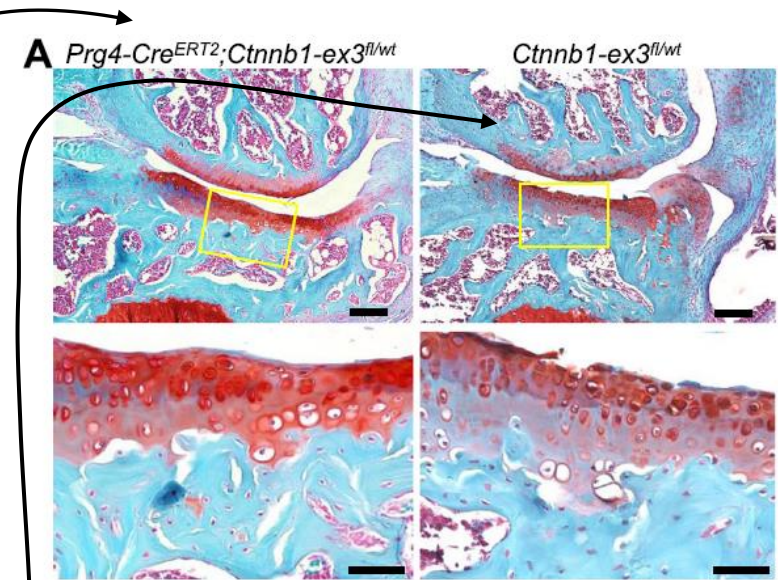
Πειραματική OA: εκτομή του έσω παράπλευρου συνδέσμου και έσω μηνίσκου

Gain of function στην επιφ. ζώνη

Loss of function στην επιφ. ζώνη

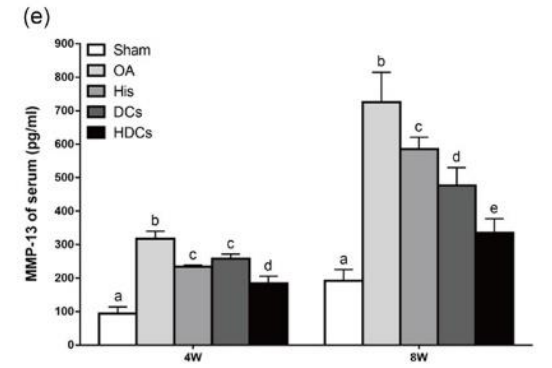
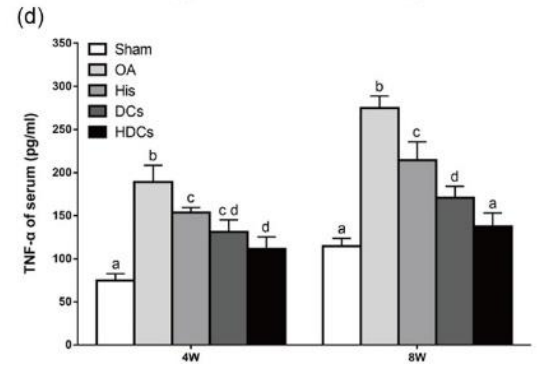
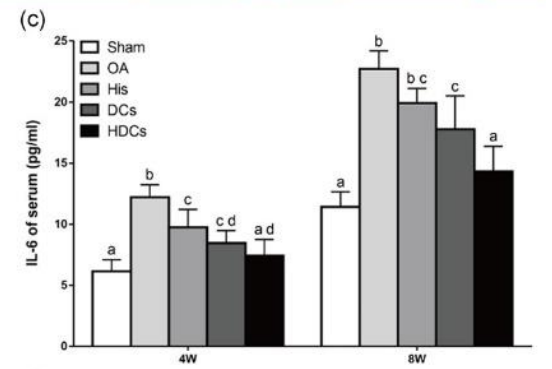
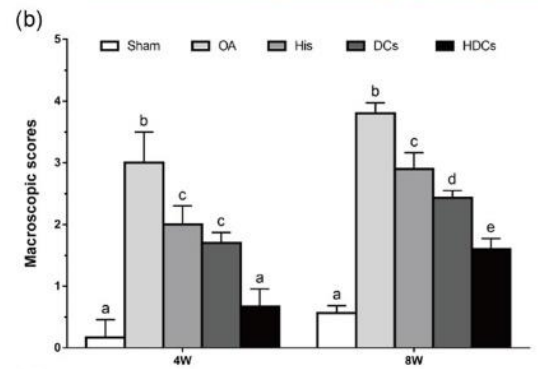
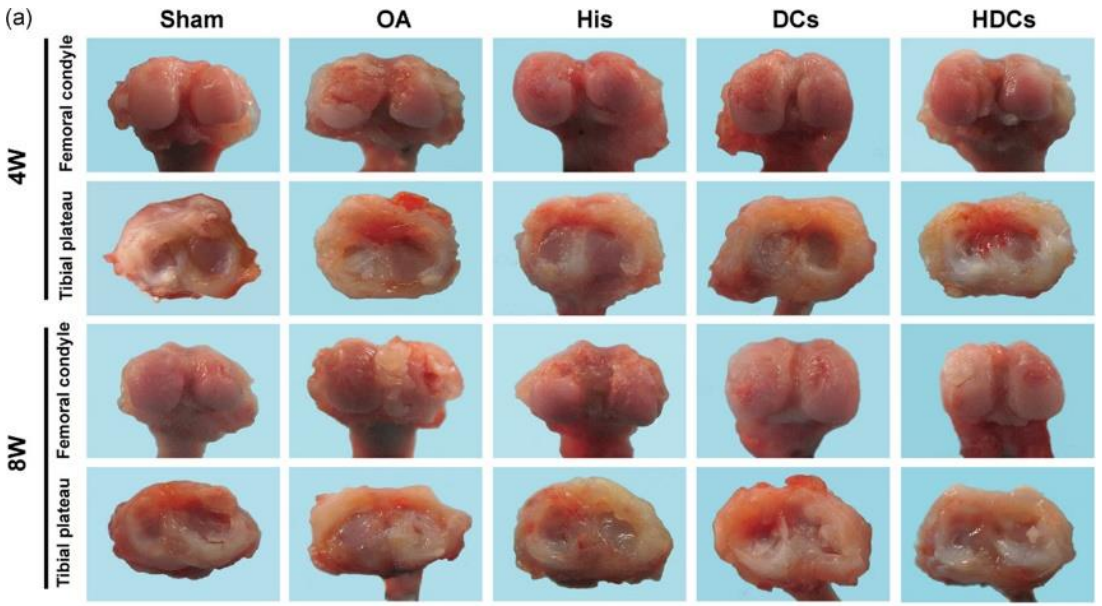
- Prg4-Cre^{ERT2}; Ctnnb1^{fl/fl}
 - Loss of function στην επιφ. ζώνη
- Prg4-Cre^{ERT2}; Ctnnb1-ex3^{fl/wt}
 - Gain of function στην επιφ. ζώνη
- TOPGAL: ποντίκια στα οποία το μονοπάτι Wnt/ β -catenin δουλεύει στην επιφανειακή ζώνη

λουμπρική



Το GABARAP προάγει την βασιζόμενη σε στελεχειαία κύτταρα του μυελού, αναγέννηση του χόνδρου της οστεοαρθρίτιδας μέσω αναστολής της οδού σηματοδότησης PI3K/AKT/mTOR

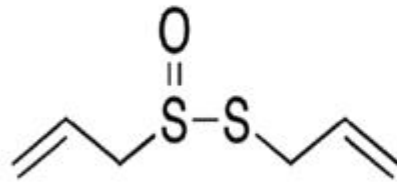
- His (n = 24), received intraarticular injections of 100 μM His6-GABARAP (Boston Biochem Cambridge, MA)
- DC(n = 24) received 4×10^5 labeled DCs (2×10^6 cells/ml; DCs group)
- HDC (n = 24) both His and DCs
- GABARAP: γ-aminobutyric acid receptor-associated protein



Wu, Z.; Lu, H.; Yao, J et al, J. Cell. Physiol. 2019, 234, 21014–21026.

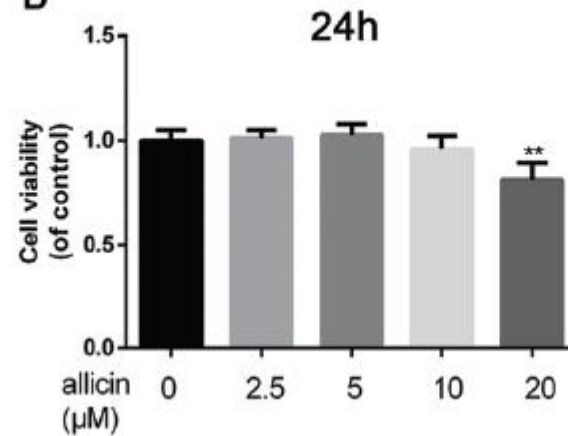
Μείωση της σηματοδότησης PI3K/Akt/NF-κB με αλισίνη για τη βελτίωση της εξέλιξης της οστεοαρθρίτιδας: in vitro και vivo μελέτες

A

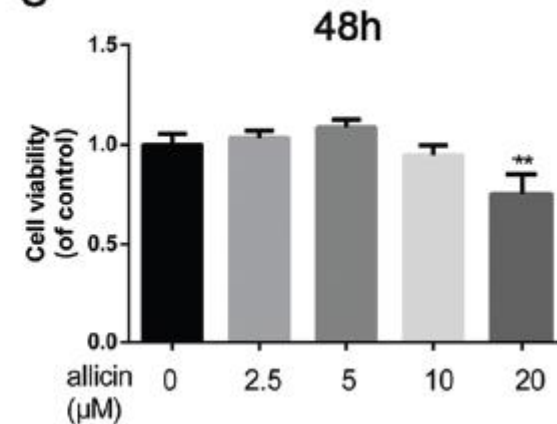


αλισίνη

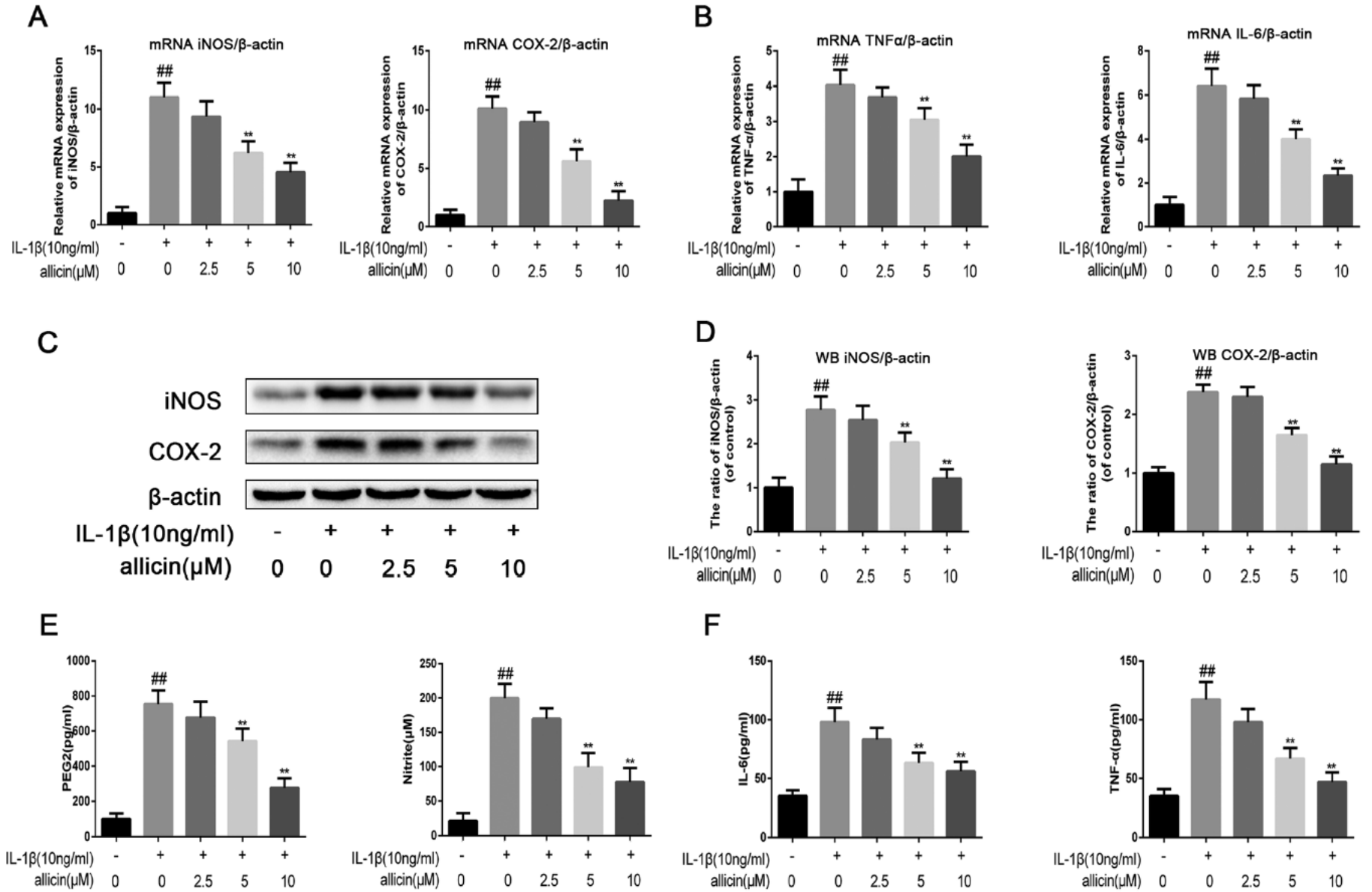
B



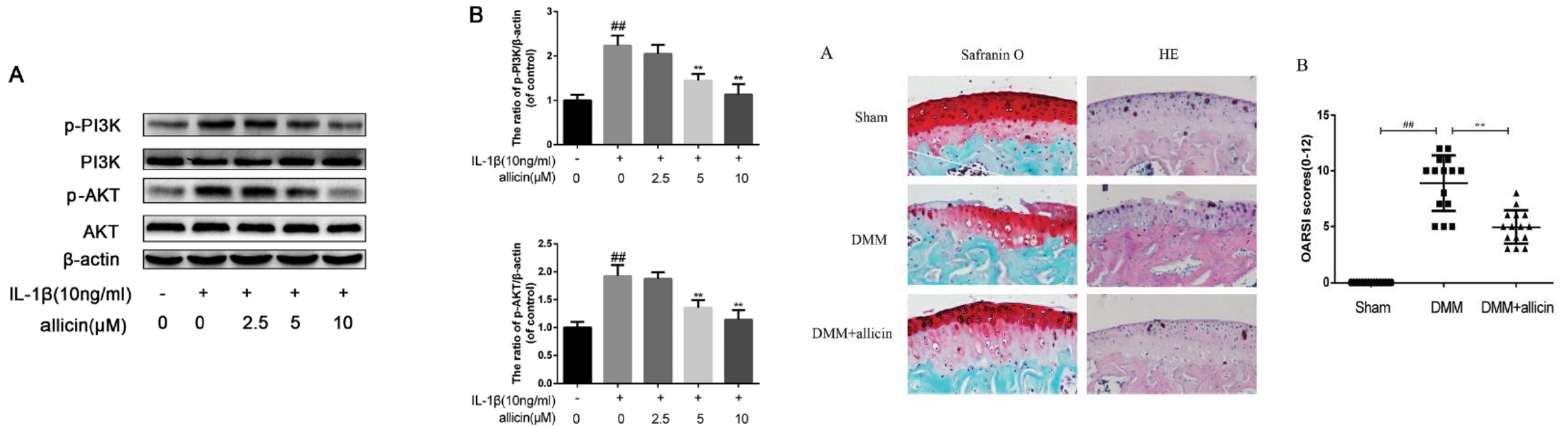
C



Η αλυσίνη
μειώνει την
φλεγμονή που
προκαλείται
μέσω IL-1β από
χονδροκύτταρα
ποντικού



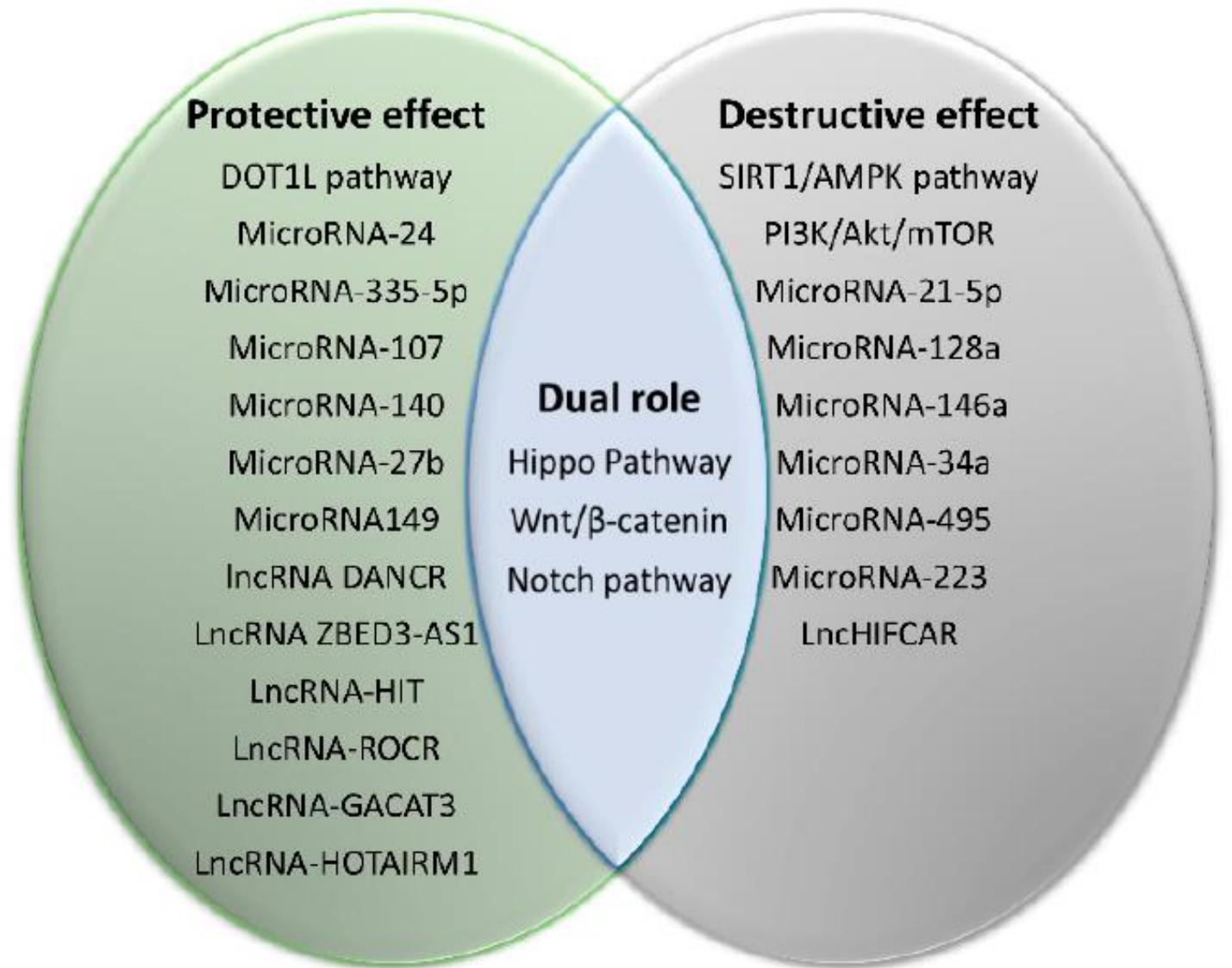
Η αλισίνη μειώνει την φωσφορυλίωση του PI3K/AKT και ανακουφίζει πειραματόζωα από την προκληθείσα πειραματική ΟΑ



DMM: destabilization of the medial meniscus

Qian Y-Q, et al, Food Funct. 2018, 9, 4865–4875

Ρυθμιστικοί
παράγοντες και οδοί
που εμπλέκονται στην
παθολόγηση της ΟΑ



Πλεονεκτήματα και περιορισμοί των σημερινών ζωικών μοντέλων για τη μελέτη της ΟΑ

<i>In vivo</i> μοντέλα	Πλεονεκτήματα	Περιορισμοί
Αυθόρμητο μοντέλο ΟΑ λόγω γήρατος	<ul style="list-style-type: none"> • Προσομοίωση φυσικής εξέλιξης της ΟΑ στον άνθρωπο • Στοχεύει έναν από τους περισσότερο σημαντικούς παράγοντες κινδύνου ΟΑ 	<ul style="list-style-type: none"> • Χρειάζεται μεγάλη διάρκεια για να προκληθεί ΟΑ • Υψηλό κόστος λόγω παρατεταμένης στέγασης των ζώων • Επίπτωση ΟΑ εξαρτώμενης από το φύλο και το στέλεχος
Μοντέλα ΟΑ επαγόμενα μέσω τραύματος	<ul style="list-style-type: none"> • Γρήγορη έναρξη και ανάπτυξη της ΟΑ • Προκαλούμενα από μη επεμβατικό τραύμα μοντέλα δημιουργούνται με ακρίβεια ελάχιστο κίνδυνο μόλυνσης 	<ul style="list-style-type: none"> • Συνήθως εφαρμόζεται πιο σοβαρό τραύμα από συνηθισμένους ανθρώπινους τραυματισμούς στο γόνατο • Πολύ ταχύτερη και πιο σοβαρή επαγωγή ΟΑ από ότι σε ανθρώπους
Μοντέλα ΟΑ προκαλούμενα από παχυσαρκία	<ul style="list-style-type: none"> • Στοχεύουν έναν κομβικό παράγοντα κινδύνου για ΟΑ • Αναπαράγουν τόσο την αλλαγή μηχανικής της άρθρωσης όσο και την συστηματική φλεγμονή των παχυσάρκων με ΟΑ 	<ul style="list-style-type: none"> • Μεταβλητότητα που προκαλείται από αλληλεπιδράσεις της παχυσαρκίας με γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες
Μοντέλα χημικά επαγόμενης ΟΑ	<ul style="list-style-type: none"> • Ευκολία επαγωγής ΟΑ • Ακριβής έλεγχος της δόσης του χημικού 	<ul style="list-style-type: none"> • Παθογένεση μη τυπική για την ανθρώπινη ΟΑ • Χαμηλή μεταφραστικότητα
Μοντέλα ΟΑ που αφορούν γενετικούς χειρισμούς	<p>Ενεργοποίηση μελετών για προστατευτικούς/καταστροφικούς ρόλους του γονιδίου</p> <p>Μηχανισμοί άγνωστων παθογενετικών οδών ΟΑ</p> <p>Συνδυασμοί με άλλα μοντέλα</p>	<p>Υψηλό κόστος</p> <p>Τείνουν να υπεραπλουστεύουν την παθογένεση της ΟΑ</p> <p>Περιορισμένη κλινική συνάφεια της επαγωγής ΟΑ από συγκεκριμένη γονιδιακή μετάλλαξη</p> <p>Οι περισσότεροι αναφερόμενοι γενετικοί χειρισμοί στοχεύουν μόνο χόνδρο</p>

Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των τρεχόντων μοντέλων in vitro για την έρευνα της ΟΑ

Σύγχρονα in vitro μοντέλα	Πλεονεκτήματα	Περιορισμοί
Καλλιέργεια ενός στρώματος κυττάρων	<ul style="list-style-type: none"> •Υποστηρίζει βολικές δοκιμασίες υψηλής απόδοσης •Υψηλή επαναληψιμότητα 	<p>Δεν επαναλαμβάνονται σε in vivo ιστικές τομές</p> <p>Τα χονδροκύτταρα αποδιαφοροποιούνται</p>
Τρισδιάστατος κατασκευασμένος ιστός χόνδρου	<ul style="list-style-type: none"> •Τρισδιάστατο μικροπεριβάλλον που επιτρέπει αλληλεπίδραση κυττάρων ή κυττάρων και θεμέλιας ουσίας. •Μεγαλύτερη δυνατότητα ανάπτυξης χόνδρου από την 2D καλλιέργεια 	<ul style="list-style-type: none"> •Μεταβλητή βιολογική συνάφεια για διαφορετικά συστήματα 3D •Άλλοι ιστοί των αρθρώσεων δεν λαμβάνονται υπόψη
Μοντέλα μοσχευμάτων ιστού	<ul style="list-style-type: none"> •Τα κύτταρα κατοικούν στο φυσικό τους περιβάλλον •Μελέτη φυσιολογίας του χόνδρου ως ολόκληρος ιστός 	<ul style="list-style-type: none"> •Οι ιδιότητες εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τόπο συλλογής δότη και ιστού •Κυτταρικός θάνατος στις άκρες των ιστών
Μικροφυσιολογικά συστήματα	<ul style="list-style-type: none"> •Υποστήριξη καλλιέργειας πολλαπλών 3D αρθρικών ιστών που επιτρέπει τις αλληλεπιδράσεις τους •Ελεγχόμενο μικροπεριβάλλον καλλιέργειών •Ενεργοποίηση ανάλυσης σε πραγματικό χρόνο, στο chip •Δυναμική παροχή μέσου που υποστηρίζεται από μικρορευστική ροή •Βολική εφαρμογή προσβολών και φάρμα κευτικών θεραπειών 	<ul style="list-style-type: none"> •Μεταβλητή βιολογική ακρίβεια λόγω μη τυποποιημένων πρωτοκόλλων •Περιορισμένη επιλογή υλικού για κατασκευή του chip

Συμπεράσματα/μηνύματα για το σπίτι

- Δεν υπάρχει, ή δεν έχουμε ανακαλύψει, ένα μόριο-κυρίαρχο, το οποίο να προκαλεί ΟΑ, μέσω υπερέκφρασης, απουσίας, ή μετάλλαξης.
- Μόρια που ευοδώνουν την ανάπτυξη ΟΑ υπάρχουν πολλά στο πλαίσιο μηχανισμών επαγωγής σήματος πολύ ουσιωδών για την επιβίωση του οργανισμού
- Στόχευση τέτοιων μορίων είναι σχετικά ασύμβατη με τη ζωή, εκτός και αν τοποθετήσουμε τους αναστολείς των πρωτεϊνών μεταγωγής σήματος τοπικά (πχ στις αρθρώσεις)
- Φάρμακα-αναστολείς της ΟΑ δοκιμάζονται σε προκλινικές κυρίως μελέτες
- Η πρόοδος της βιολογίας θα δώσει πιθανώς στα επόμενα 20 με 50 χρόνια καινούργια φάρμακα που μετατρέπουν την πορεία της νόσου, με τρόπο παρόμοιο με αυτά που χρησιμοποιούνται για την θεραπεία των φλεγμονωδών αρθριτίδων.

The image features a central graphic consisting of several concentric circles. The innermost circle is a dark, almost black, blue. This is surrounded by a ring of bright red, followed by a ring of a slightly darker red, and then a large outer ring of a deep, dark red. The entire graphic is set against a white background. Overlaid on this graphic is the text "That's all Folks!" written in a white, elegant cursive script. The text is positioned diagonally across the center of the circles, starting from the lower-left and ending at the upper-right.

That's all Folks!