

Received: 08.11.2017
Accepted: 30.05.2018
Published: 11.10.2018

Apoptoza chondrocytów w przebiegu osteoartrozy

Chondrocytes apoptosis in osteoarthritis

Sabina Galiniak, Izabela Krawczyk-Marć, Agata Wawrzyniak, Stanisław Orkisz

Katedra Nauk Morfologicznych, Wydział Medyczny, Uniwersytet Rzeszowski

Streszczenie

Osteoartroza (OA) jest zwyrodnieniową chorobą stawów, w której zaburzona jest równowaga między procesami degradacji a regeneracji chrząstki stawowej, co prowadzi do jej postępującej utraty. Choroba jest najczęściej występującą przewlekłą chorobą układu mięśniowo-kostnego, powodującą przedwczesną niepełnosprawność ruchową. Do czynników ryzyka rozwoju OA należą: wiek, otyłość, płeć, przebyte urazy i przeciążenia stawów, czynniki genetyczne, dieta oraz pochodzenie etniczne. Typowymi objawami OA są bóle stawów, ograniczenie w nich ruchomości, trzeszczenia oraz wtórne zmiany zapalne. W ciągu ostatnich lat do czynników choroby zaliczono śmierć chondrocytów w procesie apoptozy, nekrozy lub w obu typach śmierci komórkowej. Apoptoza – programowa śmierć komórki – wykazuje wyraźne objawy morfologiczne, jest procesem ściśle regulowanym i bierze udział w utrzymywaniu homeostazy organizmu, a jej nasilenie obserwuje się w wielu stanach patologicznych. Śmierć chondrocytów chrząstki stawowej w wyniku apoptozy zaburza utrzymywanie właściwej struktury chrząstki przez zmniejszenie gęstości komórek. Apoptoza chondrocytów powoduje uszkodzenia mechaniczne, objawia się nasiloną syntezą wolnych rodników tlenowych oraz zakłóceniem integralności macierzy zewnątrzkomórkowej. Ukazuje się coraz więcej doniesień na temat potencjalnych substancji farmakologicznych, które stosowane jako inhibitory apoptozy z powodzeniem mogłyby poprawić jakość życia chorych na OA.

W artykule przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat apoptozy i śmierci apoptotycznej chondrocytów w przebiegu osteoartrozy.

Słowa kluczowe:

apoptoza • chondrocyty • chrząstka stawowa • osteoartroza

Summary

Osteoarthritis (OA) is a type of degenerative joint disease where the balance between the degradation and the regeneration of articular cartilage is impaired, which leads to its progressive loss. This disease is the most common chronic musculoskeletal disease that leads to premature motor disability. Risk factors for developing OA include age, obesity, sex, past traumas and arthritis, genetic factors, diet and ethnicity. Typical OA symptoms are arthralgia, restriction of movement, cracking and secondary inflammatory lesions. In recent years, the underlying causes of this disease include chondrocyte death by apoptosis, necrosis or combinations of these types of cell death. Apoptosis, called programmed cell death, has clear morphological features, and is a highly regulated process. Apoptosis is involved in maintaining homeostasis; however, its severity is observed in many pathological conditions. Articular cartilage chondrocyte death by apoptosis disrupts the proper maintenance of cartilage structure by reducing cell density. Chondrocyte apoptosis causes mechanical damage, manifested by increased synthesis of free oxygen radicals and disturbance of the integrity of the extracellular matrix. An increasing amount of reports regarding the potential pharmacological substances that have been

Keywords:	used as inhibitors of apoptosis have improved the quality of life in OA patients. This article presents the current state of knowledge on apoptosis and apoptotic death of chondrocytes in the course of osteoarthritis. apoptosis • articular cartilage • chondrocytes • osteoarthritis
GICID	01.3001.0012.6453
DOI:	10.5604/01.3001.0012.6453
Word count:	5765
Tables:	–
Figures:	1
References:	95

Adres autorki: dr n. biol. Sabina Galiniak, Katedra Nauk Morfologicznych, Wydział Medyczny, Uniwersytet Rzeszowski, ul. Leszka Czarnego 4, 35-615 Rzeszów; e-mail: sgaliniak@ur.edu.pl

Wykaz skrótów: **ADAMTS** – białko typu dezintegryny i metaloproteinazy z motywem trombospondyny (A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs), **AIF** – czynnik indukujący apoptozę (apoptosis inducing factor), **AIP** – inhibitor apoptozy (inhibitor of apoptosis proteins), **Apaf-1** – czynnik-1 aktywujący proteazy apoptotyczne (apoptotic protease-activating factor- 1), **ATP** – adenozy-5'-trifosforan (adenosine triphosphate), **CARD** – domena aktywacji i rekrutacji kaspaz (caspase activation and recruitment domain), **COMPs** – oligomeryczne białka macierzy chrząstki (cartilage oligomeric matrix protein), **dATP** – deoksyadenozy-5'-trifosforan (deoxyadenosine triphosphate), **DED** – efektorowa domena śmierci (death effector domain), **DISC** – degradosom, kompleks sygnałowy, w którym aktywowana jest prokaspaza 8 (death inducing signalling complex), **DNA** – kwas deoksyrybonukleinowy (deoxyribonucleic acid), **ECM** – macierz zewnątrzkomórkowa (extracellular matrix), **FADD** – białko adaptorowe łączące się z receptorem Fas (Fas-associated death domain containing protein), **IFN-γ** – interferon (interferon), **IGF** – insulinopodobny czynnik wzrostu (insulin-like growth factor), **IL** – interleukina (interleukin), **IL-1ra** – antagonist receptor interelukiny 1 (interleukin-1 receptor antagonist), **LC3II** – białko związane z mikrotubulami (microtubule-associated proteins-light chain-3), **MMP** – metaloproteinaza macierzy pozakomórkowej (matrix metalloproteinase), **OA** – osteoartroza (osteoarthritis), **Omi/Htra2** – proteaza serynowa, antagonist IAPs, wiążąca inhibitory kaspaz (IAPs) (high temperature requirement A2 serine protease), **PGE-2** – prostaglandyna E2 (prostaglandin E2), **RIP** – białko adaptorowe łączące się z receptorem (receptor-interacting protein), **Smac/DIABLO** – mitochondrialny czynnik-2 aktywujący kaspazy, wiążący inhibitory kaspaz (IAPs) (second mitochondria-derived activator of caspases/direct IAP binding protein with low pl), **TGF-β1** – transformujący czynnik wzrostu beta (transforming growth factor-β), **TNF-α** – czynnik martwicy nowotworu (tumor necrosis factor), **TRADD** – białko adaptorowe łączące się z receptorem TNF typu 1 (TNFR1-associated death domain protein), **Z-DEVD-FMK** – inhibitor kaspazy 3 (caspase-3 inhibitor).

WPROWADZENIE

Apoptoza – programowana śmierć komórki, jest regulowanym procesem, który angażuje wiele wewnątrzkomórkowych cząsteczek sygnałowych i genów. Śmierć apoptotyczną komórek po raz pierwszy opisali Kerr i wsp. [39] w 1972 r. Apoptoza odgrywa główną rolę w regulacji rozwoju embrionalnego, a także bierze udział w utrzymaniu homeostazy komórek tkanek osobników dojrzałych. Wykazano znaczącą rolę śmierci apoptotycznej w dojrzewaniu i regulowaniu liczebności leukocytów [27, 57] i komórek Schwanna [61], erytropoezie [82], inwolucji grasicy [7] czy gruczołów mlekowych [49], a także regulacji liczby komórek śródbłonka i średnicy naczyń krwionośnych [89]. Jest również krytycznym procesem

regulującym zarówno wielkość, jak i jakość męskich i żeńskich komórek rozrodczych [14]. Szacuje się, że każdego dnia około 10 miliardów zarówno zdrowych, jak i uszkodzonych czy bezużytecznych komórek dorosłego osobnika ulega apoptozie [71]. Zaburzenia mechanizmów apoptozy powodują stany patologiczne, np. nowotworzenie [90] lub rozwój chorób degeneracyjnych – Alzheimer [77], Parkinsona [86], Huntingtona [36] czy osteoartrozy [93]. Badania wskazują, że dysregulacja apoptozy podczas gojenia się ran powoduje nadmierne zwłóknienie i bliznowacenie [30]. Nasiloną apoptozą odgrywa również ważną rolę w urazach związanych z niedokrwieniem, m.in. niedokrwieniem mięśnia sercowego spowodowanego obniżeniem dystrybucji tlenu i wytwarzaniem ATP, czego następstwem jest śmierć kardiomiocytów [40].

ZMIANY MORFOLOGICZNE I BIOCHEMICZNE KOMÓRKI APOPTOTYCZNEJ

Podczas apoptozy komórka wykazuje wiele charakterystycznych zmian, zauważalnych już na poziomie mikroskopu świetlnego, do których należą obkurczenie komórki oraz zagęszczanie cytoplazmy spowodowane utratą wewnątrzkomórkowej wody i elektrolitów. Chromatyna jądrowa ulega kondensacji, co prowadzi do powstania swoistego dla apoptozy jądra pyknotycznego, które później ulega fragmentacji [31]. Jądrowe DNA układające się pod otoczką jądrową jest trawione przez endonukleazy do fragmentów, które są wielokrotnością oligomerów o wielkości około 180 par zasad [56]. Zostaje również zaburzona asymetria w rozmieszczeniu fosfolipidów błonowych polegająca na ekspozycji fosfatydyloseryny w warstwie zewnętrznej, która w prawidłowych warunkach występuje tam rzadko [5]. Na początkowym etapie apoptozy zwiększa się przepuszczalność błon mitochondrialnych, co powoduje uwolnienie z mitochondrium molekuł zaangażowanych w apoptozę – cytochromu c, endonukleazy G oraz niezależnego od kaspaz czynnika wywołującego apoptozę – AIF. Nieprawidłowości funkcjonowania mitochondriów w czasie apoptozy obejmują również zaburzenia wytwarzania ATP i nasilone generowanie reaktywnych form tlenu, które wywołują peroksydację i oksydacyjne uszkodzenie kardiolipiny, charakterystycznego lipidu wewnętrznej błony mitochondrialnej [37]. W typowym barwieniu histologicznym komórka apoptotyczna, która przeważnie oddziela się od pozostałych, pojawia się jako okrągła lub owalna masa o intensywnie wybarwionej eozyną cytoplazmie i okrągłym lub półksiężycowatym gęstym jądrze [62]. Następstwem tych zmian jest rozpad komórki na otoczone błoną i zawierające wewnątrz niezmiennione organella – tzw. ciała apoptotyczne, które powstają z wypukleń błony komórkowej. Fagocytowanie powstających ciałek przez makrofagi czy komórki dendrytyczne chroni tkanki przed histotoksycznym działaniem zawartości umierającej komórki [50]. Makrofagi otaczającej tkanki zwiększają uwalnianie cytokin przeciwzapalnych, takich jak TGF- β 1 i PGE-2 oraz zmniejszają uwalnianie mediatorów prozapalnych, IL-8 czy TNF- α , co dodatkowo chroni przed rozwojem stanu zapalnego [22, 87]. Dominującymi mediatorami śmierci i przeżycia komórek są: receptor Fas, Bcl-2 i Bax, cytochrom C, kaspazy, p53 i kinazy białkowe regulowane sygnałem pozakomórkowym.

ROLA KASPAZ W APOPTOZIE

Kaspazy, czyli proteazy cysteinowe są jednymi z głównych komponentów białkowych, które odpowiadają za przebieg apoptotycznej śmierci komórki; w substratach rozpoznają reszty asparaginianowe. Zbudowane są z jednostki katalitycznej o wielkości około 30 kDa i jednostki niekatalitycznej znajdującej się na N-terminalnym końcu. Większość kaspaz w jednostce nie mającej aktywności katalitycznej zawiera jedną z dwóch domen – domenę rekrutacji kaspaz CARD lub efektorową

domenę śmierci DED. Jednostka katalityczna jest jednostką konserwatywną ewolucyjnie i składa się z dwóch podjednostek – dużej p20 i małej p10 umiejscowionej bliżej C-terminalnego końca [42]. Enzymy początkowo są syntetyzowane jako nieaktywne zymogeny (prokaspazy), które do aktywacji wymagają dimeryzacji lub obróbki proteolitycznej [58]. Ze względu na rolę jaką pełnią w tym procesie można je różnicować na kaspazy inicjatorowe, do których należą kaspazy-8 i -9 oraz kaspazy efektorowe, czyli wykonawcze, do których zalicza się kaspazy-3, -6 i -7. Kaspazy efektorowe zawierają krótką jednostkę niekatalityczną i katalizują hydrolizę białek strukturalnych. Natomiast substratami kaspaz inicjatorowych charakteryzujących się dłuższą jednostką niekatalityczną są prokaspazy efektorowe, które do aktywacji wymagają obróbki proteolitycznej [94]. Kaspaza-3 jest nazywaną późną kaspazą, jest aktywowana przez obydwie szlaki apoptozy. Jej aktywna postać jest jednym z podstawowych mediatorów apoptozy w fazie wykonawczej.

SZLAKI APOPTOZY

Istnieją dwie podstawowe ścieżki, które prowadzą komórkę na drogę śmierci apoptotycznej. Pierwszy z nich to szlak zależny od mitochondriów, czyli wewnętrzny, który indukowany jest przez sygnały wewnątrzkomórkowe, natomiast drugi to szlak zależny od receptorów śmierci, czyli zewnętrzny, który wyzwalany jest przez sygnały zewnątrzkomórkowe i rozpoczyna się od aktywacji receptorów śmierci [21]. Zarówno w szlaku wewnętrznym, jak i zewnętrznym główną rolę pełnią kaspazy aktywowane kaskadowo, a podstawową rolę wykonawczą w obydwu ścieżkach odgrywa kaspaza-3. Istnieją jeszcze inne mechanizmy prowadzące komórkę na drogę apoptozy, należą do nich: szlak zależny od perforyny i granzymu, wykorzystywany przez cytotoksyczne limfocyty do eliminacji komórek transformowanych lub zainfekowanych wirusami [85], szlak sfingomielinowo-ceramidowy, który jest aktywowany w wyniku ekspozycji komórek na promieniowanie jonizujące [91], czy szlak indukowany stresem, który wynika z nieprawidłowego funkcjonowania siateczki śródplazmatycznej, co zaobserwowano w komórkach nerwowych w przebiegu choroby Alzheimera czy Parkinsona [73].

Szlak wewnętrzny jest aktywowany niedoborem czynników wzrostu, hormonów i cytokin oraz wpływem szkodliwego promieniowania, toksyn, wolnych rodników, hipoksji i hipertermii [21]. Czynniki te zwiększają przepuszczalność błon mitochondrialnych, co prowadzi do uwolnienia do cytoplazmy białek proapoptotycznych – cytochromu c, Smac/DIABLO i proteazy serynowej Omi/HtrA2. Uwolniony cytochrom c wiąże i aktywuje czynnik Apaf-1 oraz prokaspazę-9 tworząc wraz z dATP/ATP kompleks zwany apoptosomem, który w procesie obróbki proteolitycznej uczynnia nieaktywny enzym [53]. Kaspaza-9 aktywuje kaspazy wykonawcze – kaspazę-3, -6 i -7, które hydrolizują swoiste substraty,

przez co generują charakterystyczny obraz komórki apoptotycznej. Uwolnione z mitochondrium białka proapoptotyczne Smac/DIABLO i Omi/HtrA2 hamują aktywność inhibitora apoptozy AIP, nasilając apoptozę [21, 44, 55, 70]. Zmiana przepuszczalności błon mitochondrialnych powoduje wpływ do cytoplazmy innych czynników proapoptycznych – AIF oraz endonukleazy G, które przemieszczają się do jądra i niezależnie od kaspazy biorą udział w kondensacji i fragmentacji materiału genetycznego [6].

Szlak zewnętrzny rozpoczyna się od związania ligandów przez receptory błonowe – receptory śmierci, które należą do nadrodziny receptorów czynnika TNF. Zawierają, określaną mianem domeny śmierci, bogatą w reszty cysteinowe, domenę zewnątrzkomórkową, która odgrywa główną rolę w przekazywaniu sygnałów. Po związaniu jednego z ligandów z receptorem (np. liganda Fas z receptorem Fas lub liganda TNF z receptorem TNF) zmienia się konformacja receptora i jego połączenie przez domeny śmierci z adaptorowym białkiem cytoplazmatycznym FADD, TRADD lub RIP. W chwili połączenia białka adaptorowego z prokaspazą-8 powstaje kompleks sygnałowy DISC, który odpowiada za autokatalityczną aktywację prokaspazy-8, która aktywuje prokaspazę-3, a tym samym uruchamia fazę wykonawczą apoptozy [21, 44, 70].

BUDOWA PRAWIDŁOWEJ CHRZĄSTKI STAWOWEJ, ZMIANY PATOLOGICZNE I ZARYS PATOGENEZY

Zdrowa chrząstka stawowa składa się z obfitej i zróżnicowanej pod względem chemicznym substancji międzykomórkowej (ECM, macierz, matriks), której głównymi składnikami są woda, składniki mineralne, proteoglikany (najważniejszy z nich agrekan), otoczone gęstą siecią włókien kolagenowych zbudowanych głównie z kolagenu typu II oraz z bardzo wyspecjalizowanych, luźno rozmieszczonych komórek zwanych chondrocytami [10]. Komórki te, syntetyzują składniki ECM, również enzymy proteolityczne odpowiedzialne za ich degradację [51]. Ludzka chrząstka stawowa składa się z 4 warstw: powierzchniowej, środkowej, głębokiej i podchrzęstnej, z których każda ma odrębną strukturę [76]. Warstwa powierzchniowa zawiera chondrocyty w kształcie dysku, włókna kolagenowe są ułożone w niej równoległe do powierzchni, a zawartość proteoglikanów jest mniejsza w stosunku do warstw głębiej położonych [52]. Warstwa środkowa zawiera komórki bardziej kuliste, a grubsze włókna kolagenowe są zorientowane w niej przypadkowo [60]. Głęboka strefa zapewnia największą odporność na siły ściskające i tworzy około 30% objętości chrząstki, zawiera włókna kolagenowe ułożone prostopadle do powierzchni stawowej oraz chondrocyty zwykle rozmieszczone w orientacji kolumnowej, równoległe do włókien [78]. Mechanizm degradacji chrząstki stawowej w przebiegu osteoartrozy jest jeszcze niewyjaśniony, ale uważa się, że jest złożony i powiązany z wzajemnym oddziaływaniem wielu czynników [54]. Choroba zwyrodnieniowa stawów wynika z braku możliwości utrzymania

przez chondrocyty homeostazy między syntezą a degradacją podstawowych składników macierzy zewnątrzkomórkowej [34]. Początkowo choroba była uznawana za schorzenie jedynie chrząstki stawowej, ale liczne badania wykazują, że obejmuje cały staw. Uważa się, że utrata chrząstki stawowej jest pierwotną zmianą, ale połączenie zmian komórkowych i obciążeń biomechanicznych powoduje wtórne modyfikacje, w tym przebudowę kości podchrzęstnej, powstawanie osteofitów, zmiany w błonie maziowej torebki stawowej, więzadeł i mięśni okołostawowych [51]. Proces patofizjologiczny choroby zwyrodnieniowej stawów można podzielić na trzy zachodzące na siebie etapy. Początkowo zmiany zachodzą na poziomie molekularnym. Zwiększa się stężenie wody, a zmniejsza rozmiar cząsteczek macierzy zewnątrzkomórkowej, głównie agrekanu, uszkodzona struktura sieci kolagenowej obniża sztywność chrząstki. W drugim etapie chondrocyty próbują odnowić zniszczenia. Uszkodzenie tkanki pobudza ich aktywność metaboliczną i proliferacyjną. Widoczne jest skupianie się komórek wokół nowo zsyntetyzowanych składników matriksu. W końcowym etapie chondrocyty nie mogą utrzymać własnej aktywności naprawczej, czego konsekwencją jest całkowita utrata chrząstki [48]. W patogenezie osteoartrozy uczestniczą liczne czynniki: mechaniczne, biochemiczne i genetyczne, które prowadzą do zaburzenia równowagi w syntezie i destrukcji chrząstki stawowej. Chondrocyty to jedyne komórki chrząstki odpowiedzialne za syntezę i rozpad matrycy, których aktywność jest regulowana przez cytokiny i czynniki wzrostu. Cytokiny, które mają wpływ na metabolizm chrząstki stawowej można podzielić na trzy grupy: kataboliczne (IL-1 α , IL-1 β , TNF- α), regulatorowe i inhibitory enzymów (IL-6, -8, -4, -10, IFN- γ) oraz anaboliczne (IGF, COMPs, TGF- β) [4, 29]. W zdrowej chrząstce stawowej procesy kataboliczne i anaboliczne utrzymują w równowadze chondrocyty. Jeśli procesy kataboliczne przekroczą ich zdolności regeneracyjne wówczas dochodzi do zwyrodnienia chrząstki stawowej [59]. Interleukina-1 jest wielofunkcyjną cytokiną prozapalną, która wpływa na wiele komórek, czego skutkiem są: wytwarzanie limfokyn, rozkład chrząstki, zaburzenia w aktywności czynników wzrostu IGF, obniżenie syntezy głównych składników macierzy, takich jak agrekan, a także spadek proliferacji fibroblastów, które odgrywają decydującą rolę w chorobie stawów [4]. Interleukina-1 jest w rzeczywistości rodziną trzech cytokin złożonych z dwóch agonistycznych peptydów IL-1 α i IL-1 β oraz antagonisty receptora interleukiny-1 (IL-1ra) [13]. IL-1 β zwiększa poziom enzymów rozkładających macierz oraz zmniejsza syntezę białek macierzy zewnątrzkomórkowej przez chondrocyty [59]. W badaniach przeprowadzonych na ludzkich chrząstkach pochodzących ze stawów kolanowych dotkniętych OA wykazano wzrost poziomu IL-1 β [83]. W innym badaniu wykazano, że wstrzyknięcie IL-1 do stawów kolanowych królika indukuje gromadzenie się leukocytów oraz degradację proteoglikanów chrząstki stawowej [68]. Badania przeprowadzane na psach wykazały, że dostawowe wstrzyknięcie antagonisty IL-1ra może chronić przed rozwojem doświadczalnie indukowanych zmian osteoartrotycznych

nych [14, 66]. Nadrodzina TNF jest grupą cytokin o ważnym znaczeniu w odporności i procesie zapalnym, wśród niej TNF- α jest cytokiną prozapalną, która odgrywa istotną rolę w stanach zapalnych oraz degradacji ECM przez stymulowanie sekrecji enzymów proteolitycznych z chondrocytów i fibroblastów błony maziowej [4]. TNF- α działa synergistycznie z IL-1 β hamując syntezę macierzy zewnątrzkomórkowej i stymulując ekspresję enzymów, które uczestniczą w jej rozkładzie. IL-1 β i TNF- α osobno lub w połączeniu hamują syntezę proteoglikanów i kolagenu w chondrocytach [59]. Interleukina-1 i czynnik martwicy nowotworu indukują syntezę IL-6. Zwiększone stężenie tej cytokiny może się przyczyniać do rozwoju OA [9]. Aktywność wielu enzymów, które degradują macierz pozakomórkową jest pobudzana przez IL-1 β i TNF- α . Do głównych enzymów związanych z degradacją ECM w chrząstce zalicza się metaloproteinazy, agrekanazy, proteazy serynowe, proteazy asparaginianowe oraz proteazy cysteinowe. Metaloproteinazy należą do grupy zależnych od cynku endopeptydaz i mogą być wydzielane przez synowocyty, chondrocyty, makrofagi i neutrofile. Wielu członków tej rodziny, wliczając w to kolagenazy (MMP-1, MMP-8, MMP-13), żelatynazy (MMP-2, MMP-9) i stromelizyny (MMP-3, MMP-10, MMP-11) jest zaangażowana w patofizjologię OA [13]. MMP-13 jest bardziej aktywna wobec kolagenu typu II niż inne kolagenazy. Badania przeprowadzone na mysim modelu OA wykazały, że strukturalne uszkodzenie chrząstki jest zależne od aktywności MMP-13 [45]. W badaniu przeprowadzonym na transgenicznym myszku wykazano, że nadmierna aktywność MMP-13 może powodować degradację chrząstki i patologię stawów tego samego rodzaju, jaka występuje w przebiegu OA, co sugeruje, że jej nadmierna aktywność może doprowadzić do rozwoju tej choroby. Zaobserwowano zmiany chrząstki stawowej związane z utratą proteoglikanów oraz nadmierną hydrolizą kolagenu typu II przez kolagenazę, jak również hiperplazję stawową [63]. MMP-13, oprócz kolagenu typu II, rozkłada również agrekan chrząstki, a to degraduje składniki macierzy zewnątrzkomórkowej [12, 26]. W patogenezie OA ważną rolę, oprócz MMP-13, odgrywa także MMP-1, która jest wytwarzana głównie przez komórki błony maziowej [12]. Agrekanazy, zwane także ADAMTS, są rodziną proteaz pozakomórkowych występujących zarówno u ssaków i bezkręgowców [80]. Agrekanaza 1 (ADAMTS-4) i agrekanaza 2 (ADAMTS-5) są odpowiedzialne za degradację agrekanu w przebiegu zwyrodnienia chrząstki przez hydrolizę proteinowego rdzenia agrekanu. W OA u ludzi są aktywne zarówno ADAMTS-4 jak i ADAMTS-5. ADAMTS-4 jest regulowana poprzez IL-1 i TNF- α . [13, 59]. Badanie przeprowadzone na mysiej chrząstce zarówno w warunkach *in vitro* jak i *in vivo* wykazało, że ADAMTS-5 jest główną agrekanazą chrząstki występującą w mysim modelu zapalenia stawów [79]. Podsumowując, równowaga anaboliczno-kataboliczna w chrząstce jest pod kontrolą złożonej sieci sygnałów, która reguluje homeostazę tkanki, a utrata równowagi powoduje wystąpienie zmian degeneracyjnych [59].

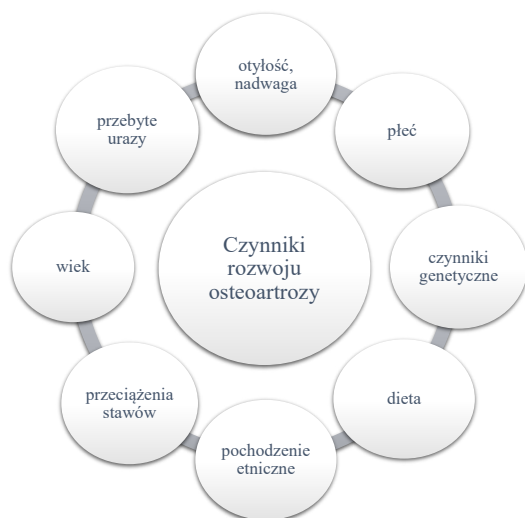
OSTEOARTROZA

Osteoartroza (OA) jest najczęściej występującą przewlekłą chorobą układu mięśniowo-kostnego o nieznannej etiologii, która charakteryzuje się stopniową utratą chrząstki stawowej [16, 33]. Choroba inaczej nazywana jest chorobą zwyrodnieniową stawów, która obejmuje zjawiska towarzyszące zaburzeniom czynności chrząstki stawowej. Główną przyczyną powstawania zmian zwyrodnieniowych są zaburzenia równowagi między procesami degeneracji a procesami naprawczymi struktury chrząstki stawowej [16]. Wyróżnia się osteoartrozę pierwotną oraz wtórną, która jest wywołana miejscowymi uszkodzeniami struktury i nieprawidłowościami budowy stawu lub rozwojem chorób ogólnoustrojowych. Typowymi objawami OA są bóle stawów, ograniczenie w nich ruchomości, trzeszczenia oraz wtórne zmiany zapalne, którym nie towarzyszą objawy ogólnoustrojowe.

Wśród najczęstszych czynników rozwoju osteoartrozy można wyróżnić wiek i otyłość [47]. Wzrost występowania OA wraz z wiekiem jest prawdopodobnie konsekwencją zwiększonego narażenia na różne czynniki ryzyka oraz zmiany biologiczne, które towarzyszą starzeniu się organizmu. Zmiany te mogą się przyczyniać do ścięczenia chrząstki stawowej, osłabienia siły mięśni, słabszej propriocepcji i uszkodzenia oksydacyjnego [95]. Szacuje się, że około 80% populacji po 65 roku życia wykazuje radiologiczne zmiany świadczące o tej chorobie [15]. Badanie przeprowadzone przez Felsona i wsp. u ludzi w wieku 63-94 lat wykazało wzrost występowania zmian osteoartrotycznych kolan wraz z wiekiem z 27% u osób poniżej 70 roku życia do 44% u osób w wieku powyżej 80 lat [23]. W badaniu przeprowadzonym przez Goekoop i wsp. wykazano, że tylko u 16% 90-latków nie stwierdzono radiologicznych zmian świadczących o osteoartrozie [28]. Otyłość i nadwaga od dawna są uznawane za ważne czynniki ryzyka rozwoju OA, zwłaszcza dotyczącej stawów kolanowych [95]. Dowiedziono, że u kobiet utrata wagi o 5 kg obniża o połowę ryzyko wystąpienia objawów osteoartrozy kolan [24]. Wskazuje się, że każdy przyrost masy ciała o 5 kg, zwiększa ryzyko rozwoju osteoartrozy kolan o 36% [11, 33].

Wiadomo, że otyłość i osteoartroza obniżają zdolności ruchowe, które zmniejszają aktywność, zwiększają masę ciała i obniżają siłę mięśni, co zwiększa problemy stawowe i progresję choroby. Utrata co najmniej 10% masy ciała w połączeniu z ćwiczeniami u otyłych pacjentów z OA może złagodzić objawy, zwiększyć sprawność fizyczną oraz poprawić jakość życia [11].

Kobiety nie tylko są bardziej narażone na osteoartrozę niż mężczyźni, ale również cechuje je poważniejszy przebieg choroby [95]. Wykazano, że OA kolan występuje 1,7 razy częściej u kobiet niż u mężczyzn [25]. Wzrost występowania osteoporozy u kobiet w okresie menopauzalnym doprowadził do wniosków, że czynniki hormonalne mogą także odgrywać rolę w rozwoju osteoartrozy [95]. Jednak wyniki badań dotyczących wpływu estrogenów



Ryc. 1. Czynniki rozwoju osteoartrzy

na rozwój OA są sprzeczne. Badanie przeprowadzone przez Hannana i wsp. wykazało brak związku między stosowaniem estrogenów u kobiet a wzrostem ryzyka rozwoju osteoartrzy stawu kolanowego [32]. Jednak badanie przeprowadzone u kobiet w starszym wieku wykazało, że stosowanie estrogenów jako postmenopauzalnej terapii zastępczej może chronić przed osteoartrzą stawu biodrowego [64]. Wykazano, że brak jest istotnych różnic w występowaniu bólu kolan i związanej z nim niepełnosprawności po czteroletniej terapii estrogenem i progestagenem w porównaniu do grupy przyjmującej placebo [65]. W Stanach Zjednoczonych u kobiet w wieku 50-79 lat badano wpływ terapii hormonalnej na częstość przeprowadzania zabiegów artroplastyki. U kobiet, które otrzymywały hormonalną terapię samym estrogenem rzadziej wykonywano zabiegi artroplastyki stawu kolanowego lub biodrowego w porównaniu do grupy nieotrzymującej takiej terapii. Natomiast w grupie kobiet przyjmujących estrogen i progestagen nie wykazano takiego związku [17]. Oprócz wyżej opisanych czynników ryzyka rozwoju OA można wymienić jeszcze: przebyte urazy, przeciążenia stawów, pochodzenie etniczne, dietę oraz czynniki genetyczne [16, 33] (ryc. 1).

ŚMIERĆ KOMÓRKOWA CHONDROCYTÓW W OA

Mimo że istnieje wiele doniesień opisujących proces apoptozy chondrocytów zachodzący zarówno u człowieka [75], jak i zwierząt z indukowanym zapaleniem stawów [92], to udział tego rodzaju śmierci komórkowej w etiologii OA jest wciąż niepewny [1]. Z powodu tego, że apoptoza jest szybkim procesem, jej wysokie tempo powodowałoby zaburzenie prawidłowej budowy chrząstki w bardzo krótkim czasie, co przeczy przewlekłemu rozwojowi choroby. W ciągu ostatnich dwudziestu lat notuje się jednak coraz więcej danych wskazujących na związek między degradacją chrząstki

osteoartrzy a śmiercią chondrocytów w wyniku apoptozy, nekrozy czy chondroptozy lub ich kombinacji. Liczne badania, w których badano śmierć chondrocytów w ludzkich chrząstkach stawowych dotkniętych OA lub w eksperymentalnych modelach osteoartrzy, wykazały obecność apoptotycznych, jak i nieapoptotycznych mechanizmów śmierci komórkowej [3]. Badania wskazują, że w chrząstce chorych apoptoza chondrocytów zachodzi 2-4 razy częściej niż w chrząstce zdrowej [75] i nawet do 20% komórek chrząstki stawowej może ulegać śmierci apoptotycznej [35], zaburzając utrzymywanie właściwej struktury chrząstki przez zmniejszenie gęstości komórek. Apoptoza komórek chrząstki jest ściśle związana z obecnością pustych jamek chrząstynnych, co generuje uszkodzenia mechaniczne chrząstki, a także objawia się zwiększonym wytwarzaniem reaktywnych form tlenu, zakłóceniem integralności macierzy pozakomórkowej i obniżeniem syntezy czynników wzrostu przez chondrocyty [93]. Wykazano, że u koni apoptoza chondrocytów jest pozytywnie skorelowana ze stopniem uszkodzenia ECM chrząstki, a intensywność apoptozy wyrażana aktywnością kaspazy-3 jest zależna od mechanicznego obciążenia stawu i warstwy chrząstki. Badania wskazują, że komórki apoptotyczne najliczniej występują w warstwie powierzchniowej i środkowej chrząstki osteoartrzy [84]. Uważa się, że chondrocyty początkowo ulegają zmianom fenotypowym, które powodują wzrost podatności komórek na czynniki proapoptotyczne i jednocześnie stają się bardziej odporne na czynniki antyapoptotyczne [41]. W związku z tym, że chrząstka nie jest unaczyniona, a chondrocyty nie pozostają w kontakcie z komórkami fagocytarnymi, to ciała apoptotyczne nie mogą być szybko eliminowane, a ich gromadzenie uszkadza tkanki. Ciała apoptotyczne uwalniają fosfatazę alkaliczną i indukują wytrącanie jonów wapnia, co również zaburza prawidłową strukturę chrząstki [69]. Chondrocyty w warunkach *in vitro* wchodziły w proces śmierci apoptotycznej pod wpływem kilku czynników, do których zalicza się głodzenie oraz traktowanie komórek ligandem Fas, ceramidem czy nitroprusydkiem sodu, który jest donorem tlenu azotu [38].

Zakłócenie wspólnego oddziaływania chondrocytów i macierzy może wynikać z bezpośredniego uszkodzenia chrząstki, co wywołuje zmiany biochemiczne, które powodują utratę składników macierzy zewnątrzkomórkowej. Ponadto wczesna włóknikowość chrząstki sprawia, że chondrocyty są bardziej podatne na działanie czynników katabolicznych, takich jak: tlenek azotu oraz cytokiny wydzielane przez synowocyty i same chondrocyty. Te mediatory prawdopodobnie indukują dalszą śmierć chondrocytów w procesie apoptozy, czego następstwem jest postępujące uszkodzenie chrząstki. Sugeruje się, że obecność kolagenazy i innych enzymów hydrolitycznych w chrząstce stawowej może predisponować chondrocyty do apoptozy [41]. Badanie przeprowadzone na ludzkich chrząstkach wykazało, że mechaniczne uszkodzenie chrząstki wywołuje apoptozę chondrocytów i uwalnia glikozaminoglikany z macierzy. Przypuszcza się, że inhibicja aktywności kaspaz może

zapobiegać apoptozie chondrocytów w warunkach *in vitro* po mechanicznym uszkodzeniu [18].

Termin chondroptoza wprowadzono w celu opisanie śmierci komórkowej, którą się również obserwuje w chondrocytach, co odzwierciedla to, że chondrocyty nie zawsze podlegają klasycznej apoptozie [72]. Komórki ulegające chondroptozie wykazują odmienne cechy strukturalne niż komórki ulegające apoptozie, które polegają na zwiększeniu liczby lizosomów, diktiosomów aparatu Golgiego i cystern szorstkiego retikulum endoplazmatycznego. Chromatyna ulega tylko w niewielkim stopniu kondensacji, a w cytoplazmie pojawiają się wakuole. Zamiast pojawiania się ciałek apoptotycznych, cała zawartość komórki zostaje wydzielona w postaci pęcherzyków do macierzy pozakomórkowej, gdzie ulega autotrawieniu. Chondroptoza nie jest zależna od fagocytozy i może służyć wyeliminowaniu komórek, które nie wykazują cech stanu zapalnego w sytuacjach, gdy fagocytoza nie jest możliwa [67, 72]. Inne badania wskazują, że śmierć chondrocytów, zwłaszcza w warstwie powierzchniowej, może zachodzić również w wyniku połączenia apoptozy i autofagii, na co wskazuje występowanie aktywnej kaspazy-3 będącej markerem apoptozy i zwiększonej ekspresji cząsteczki LC3II, która świadczy o autofagii [3].

Zakładając, że rola apoptozy chondrocytów w OA jest podstawowa, przyszłe strategie terapeutyczne polegające na podawaniu inhibitorów apoptozy bezpośrednio do stawu mogłyby się okazać obiecujące w walce z chorobą lub spowolnieniem jej rozwoju. Dotychczas wykazano, że podawanie kwasu hialuronowego [8, 80] i inhibitorów kaspaz (jak Z-DEVD-FMK, który jest selektywnym inhibitorem kaspazy-3 [19, 56]) w postaci iniekcji dostawowych, zapobiegało apoptozie chondrocytów oraz działało ochronnie na strukturę chrząstki u królików z eksperymentalnie indukowaną osteoartrozą. Zaobserwowano również korzystny wpływ rezweratrolu na obniżenie tempa śmierci apoptotycznej chondrocytów, zmniejszenie poziomu tlenu azotu w płynie maziowym [88] i mniejsze uszkodzenie chrząstki u zwierząt z indukowaną chorobą [20, 88]. Obiecujące wyniki otrzymano również w doświadczeniach *in vitro*, gdzie zaobserwowano ochronny wpływ kurkuminy na zapobieganie aktywacji kaspazy-3 i apoptozy indukowanej IL-8 [43, 74]. Wyniki tych badań świadczą o tym, że istnieje wiele potencjalnych farmakologicznych i biologicznych środków hamujących apoptozę chondrocytów, które z powodzeniem mogłyby znaleźć zastosowanie w terapii OA i poprawie jakości życia chorych.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Aigner T., Hemmel M., Neureiter D., Gebhard P.M., Zeiler G., Kirchner T., McKenna L.: 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: 1304-1312
- [2] Aitken R.J., Findlay J.K., Hutt K.J., Kerr J.B.: Apoptosis in the germ line. *Reproduction*, 2011; 141: 139-150
- [3] Almonte-Becerril M., Navarro-García F., Gonzalez-Robles A., Vega-Lopez M.A., Lavallo C., Kouri J.B.: Cell death of chondrocytes is a combination between apoptosis and autophagy during the pathogenesis of osteoarthritis within an experimental model. *Apoptosis*, 2010; 15: 631-638
- [4] Ashkavand Z., Malekinejad H., Vishwanath B.S.: The pathophysiology of osteoarthritis. *J. Pharm. Res.*, 2013; 7: 132-138
- [5] Bailey R.W., Nguyen T., Robertson L., Gibbons E., Nelson J., Christensen R.E., Bell J.P., Judd A.M., Bell J.D.: Sequence of physical changes to the cell membrane during glucocorticoid-induced apoptosis in S49 lymphoma cells. *Biophys. J.*, 2009; 96: 2709-2718
- [6] Bajt M.L., Cover C., Lemasters J.J., Jaeschke H.: Nuclear translocation of endonuclease G and apoptosis-inducing factor during acetaminophen-induced liver cell injury. *Toxicol. Sci.*, 2006; 94: 217-225
- [7] Barke R.A., Roy S., Chapin R.B., Charboneau R.: The role of programmed cell death (apoptosis) in thymic involution following sepsis. *Arch. Surg.*, 1994; 129: 1256-1261
- [8] Barreto R.B., Sadigursky D., de Rezende M.U., Hernandez A.J.: Effect of hyaluronic acid on chondrocyte apoptosis. *Acta Ortop. Bras.*, 2015; 23: 90-93
- [9] Beutler B., Cerami A.: Cachectin (tumor necrosis factor): A macrophage hormone governing cellular metabolism and inflammatory response. *Endocr. Rev.*, 1988; 9: 57-66
- [10] Bhosale A.M., Richardson J.B.: Articular cartilage: structure, injuries and review of management. *Br. Med. Bull.*, 2008; 87: 77-95
- [11] Bliddal H., Leeds A.R., Christensen R.: Osteoarthritis, obesity and weight loss: evidence, hypotheses and horizons – a scoping review. *Obes. Rev.*, 2014; 15: 578-586
- [12] Burrage P.S., Mix K.S., Brinckerhoff C.E.: Matrix metalloproteinases: Role in arthritis. *Front. Biosci.*, 2006; 11: 529-543
- [13] Carmona J.U., Prades M.: Pathophysiology of osteoarthritis. *Comp. Equine*, 2009; 4: 28-40
- [14] Caron J.P., Fernandes J.C., Martel-Pelletier J., Tardif G., Mineau F., Geng C., Pelletier J.P.: Chondroprotective effect of intraarticular injections of interleukin-1 receptor antagonist in experimental osteoarthritis. Suppression of collagenase-1 expression. *Arthritis Rheum.*, 1996; 39: 1535-1544
- [15] Charlier E., Relic B., Deroyer C., Malaise O., Neuville S., Collée J., Malaise M.G., De Seny D.: Insights on molecular mechanisms of chondrocytes death in osteoarthritis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2016; 17: 2146
- [16] Chojnacki M., Kwapisz A., Synder M., Szmaj J.: Osteoartroza: etiologia, czynniki ryzyka, mechanizmy molekularne. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2014; 68: 640-652
- [17] Cirillo D.J., Wallace R.B., Wu L., Yood R.A.: Effect of hormone therapy on risk of hip and knee joint replacement in the Women's Health Initiative. *Arthritis Rheum.*, 2006; 54: 3194-3204
- [18] D'Lima D.D., Hashimoto S., Chen P.C., Colwell C.W.Jr., Lotz M.K.: Human chondrocyte apoptosis in response to mechanical injury. *Osteoarthritis Cartilage*, 2001; 9: 712-719

- [19] D'Lima D., Hermida J., Hashimoto S., Colwell C., Lotz M.: Caspase inhibitors reduce severity of cartilage lesions in experimental osteoarthritis. *Arthritis Rheum.*, 2006; 54: 1814-1821
- [20] Elmali N., Esenkaya I., Harma A., Ertem K., Turkoz Y., Mizrak B.: Effect of resveratrol in experimental osteoarthritis in rabbits. *Inflamm. Res.*, 2005; 54: 158-162
- [21] Elmore S.: Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicol. Pathol.*, 2007; 35: 495-516
- [22] Fadok V.A., Bratton D.L., Konowal A., Freed P.W., Westcott J.Y., Henson P.M.: Macrophages that have ingested apoptotic cells *in vitro* inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF- β , PGE₂, and PAF. *J. Clin. Invest.*, 1998; 101: 890-898
- [23] Felson D.T., Naimark A., Anderson J., Kazis L., Castelli W., Meenan R.F.: The prevalence of knee osteoarthritis in the elderly. The Framingham Osteoarthritis Study. *Arthritis Rheum.*, 1987; 30: 914-918
- [24] Felson D.T., Zhang Y., Anthony J.M., Naimark A., Anderson J.J.: Weight loss reduces the risk for symptomatic knee osteoarthritis in women. The Framingham Study. *Ann. Intern. Med.*, 1992; 116: 535-539
- [25] Felson D.T., Zhang Y., Hannan M.T., Naimark A., Weissman B.N., Aliabadi P., Levy D.: The incidence and natural history of knee osteoarthritis in the elderly. The Framingham Osteoarthritis Study. *Arthritis Rheum.*, 1995; 38: 1500-1505
- [26] Fosang A.J., Last K., Knäuper V., Murphy G., Neame P.J.: Degradation of cartilage aggrecan by collagenase-3 (MMP-13). *FEBS Lett.*, 1996; 380: 17-20
- [27] Giovannetti A., Pierdominici M., Di Iorio A., Cianci R., Murdaca G., Puppo F., Pandolfi F., Paganelli R.: Apoptosis in the homeostasis of the immune system and in human immune mediated diseases. *Curr. Pharm. Des.*, 2008; 14: 253-268
- [28] Goekoop R.J., Kloppenburg M., Kroon H.M., Dirkse L.E., Huizinga T.W., Westendorp R.G., Gusssekloo J.: Determinants of absence of osteoarthritis in old age. *Scand. J. Rheumatol.*, 2011; 40: 68-73
- [29] Goldring M.B.: Osteoarthritis and cartilage: The role of cytokines. *Curr. Rheumatol. Rep.*, 2000; 2: 459-465
- [30] Greenhalgh D.G.: The role of apoptosis in wound healing. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 1998; 30: 1019-1030
- [31] Häcker G.: The morphology of apoptosis. *Cell Tissue. Res.*, 2000; 301: 5-17
- [32] Hannan M.T., Felson D.T., Anderson J.J., Naimark A., Kannel W.B.: Estrogen use and radiographic osteoarthritis of the knee in women. The Framingham Osteoarthritis Study. *Arthritis Rheum.*, 1990; 33: 525-532
- [33] Haq I., Murphy E., Dacre J.: Osteoarthritis. *Postgrad. Med. J.*, 2003; 79: 377-383
- [34] Heijink A., Gomoll A.H., Madry H., Drobnič M., Filardo G., Espregueira-Mendes J., Van Dijk C.N.: Biomechanical considerations in the pathogenesis of osteoarthritis of the knee. *Knee Surg. Sports. Traumatol. Arthrosc.*, 2012; 20: 423-435
- [35] Héraud F., Héraud A., Harmand M.F.: Apoptosis in normal and osteoarthritic human articular cartilage. *Ann. Rheum. Dis.*, 2000; 59: 959-965
- [36] Hickey M.A., Chesselet M.F.: Apoptosis in Huntington's disease. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2003; 27: 255-265
- [37] Hroudová J., Singh N., Fišar Z.: Mitochondrial dysfunctions in neurodegenerative diseases: Relevance to Alzheimer's disease. *Biomed. Res. Int.*, 2014; 2014: 175062
- [38] Hwang H.S., Kim H.A.: Chondrocyte apoptosis in the pathogenesis of osteoarthritis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2015; 16: 26035-26054
- [39] Kerr J.F., Wyllie A.H., Currie A.R.: Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer*, 1972; 26: 239-257
- [40] Krijnen P.A., Nijmeijer R., Meijer C.J., Visser C.A., Hack C.E., Nissen H.W.: Apoptosis in myocardial ischaemia and infarction. *J. Clin. Pathol.*, 2002; 55: 801-811
- [41] Kunwar A., Kumar M., Singh S.: Pathological perspective of chondrocyte apoptosis in osteoarthritis. *JOTR*, 2017; 9: 1-5
- [42] Li J., Yuan J.: Caspases in apoptosis and beyond. *Oncogene*, 2008; 27: 6194-6206
- [43] Li X., Feng K., Li J., Yu D., Fan Q., Tang T., Yao X., Wang X.: Curcumin inhibits apoptosis of chondrocytes through activation ERK1/2 signaling pathways induced autophagy. *Nutrients*, 2017; 9: E414
- [44] Ligęza-Żuber M., Boguś M.I.: Porównanie apoptozy występującej u kręgowców i bezkręgowców, na przykładzie owadów, z uwzględnieniem jej fizjologicznej roli w rozwoju organizmu. *Postępy Biochem.*, 2014; 60: 333-340
- [45] Little C.B., Barai A., Burkhardt D., Smith S.M., Fosang A.J., Werb Z., Shah M., Thompson E.W.: Matrix metalloproteinase 13-deficient mice are resistant to osteoarthritic cartilage erosion but not chondrocyte hypertrophy or osteophyte development. *Arthritis Rheum.*, 2009; 60: 3723-3733
- [46] Lo M.Y., Kim H.T.: Chondrocyte apoptosis induced by collagen degradation: Inhibition by caspase inhibitors and IGF-1. *J. Orthop. Res.*, 2004; 22: 140-144
- [47] Loeser R.F.: Aging and osteoarthritis. *Curr. Opin. Rheumatol.*, 2011; 23: 492-496
- [48] Lorenz H., Richter W.: Osteoarthritis: Cellular and molecular changes in degenerating cartilage. *Prog. Histochem. Cytochem.*, 2006; 40: 135-163
- [49] Lund L.R., Römer J., Thomasset N., Solberg H., Pyke C., Bissell M.J., Danø K., Werb Z.: Two distinct phases of apoptosis in mammary gland involution: proteinase-independent and -dependent pathways. *Development*, 1996; 122: 181-193
- [50] Maderna P., Godson C.: Phagocytosis of apoptotic cells and the resolution of inflammation. *Biochim. Biophys. Acta*, 2003; 1639: 141-151
- [51] Man G.S., Mologhianu G.: Osteoarthritis pathogenesis – a complex process that involves the entire joint. *J. Med. Life*, 2014; 7: 37-41
- [52] Mansfield J.C., Bell J.S., Winlove C.P.: The micromechanics of the superficial zone of articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*, 2015; 23: 1806-1816
- [53] Marek Ł.: Rola apoptozomu w aktywacji prokaspazy 9. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013; 67: 54-64
- [54] Martel-Pelletier J., Boileau C., Pelletier J.P., Roughley P.J.: Cartilage in normal and osteoarthritis conditions. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.*, 2008; 22: 351-384
- [55] Martinez-Ruiz G., Maldonado V., Ceballos-Cancino G., Grajeda J.P., Melendez-Zajgla J.: Role of Smac/DIABLO in cancer progression. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 2008; 27: 48
- [56] Matassov D., Kagan T., Leblanc J., Sikorska M., Zakeri Z.: Measurement of apoptosis by DNA fragmentation. *Methods Mol. Biol.*, 2004; 282: 1-17
- [57] McCracken J.M., Allen L.A.: Regulation of human neutrophil apoptosis and lifespan in health and disease. *J. Cell Death*, 2014; 7: 15-23
- [58] McIlwain D.R., Berger T., Mak T.W.: Caspase functions in cell death and disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2015; 7: a026716
- [59] Mueller M.B., Tuan R.S.: Anabolic/catabolic balance in pathogenesis of osteoarthritis: Identifying molecular targets. *PMR*, 2011; 3 (Suppl. 1): S3-S11

- [60] Musumeci G., Castrogiovanni P., Trovato F.M., Di Giunta A., Loreto C.A., Castorina S.: Microscopic and macroscopic anatomical features in healthy and osteoarthritic knee cartilage. *OA Anatomy*, 2013; 1: 25-30
- [61] Nakao J., Shinoda J., Nakai Y., Murase S., Uyemura K.: Apoptosis regulates the number of Schwann cells at the premyelinating stage. *J. Neurochem.*, 1997; 68: 1853-1862
- [62] Nayak A., Raikar A., Kotrashetti V., Nayak R., Shree S., Kambali S.: Histochemical detection and comparison of apoptotic cells in the gingival epithelium using hematoxylin and eosin and methyl green-pyronin: A pilot study. *J. Indian Soc. Periodontol.*, 2016; 20: 294-298
- [63] Neuhold L.A., Killar L., Zhao W., Sung M.L., Warner L., Kulik J., Turner J., Wu W., Billingham C., Meijers T., Poole A.R., Babij P., DeGennaro L.J.: Postnatal expression in hyaline cartilage of constitutively active human collagenase-3 (MMP-13) induces osteoarthritis in mice. *J. Clin. Invest.*, 2001; 107: 35-44
- [64] Nevitt M.C., Cummings S.R., Lane N.E., Hochberg M.C., Scott J.C., Pressman A.R., Genant H.K., Cauley J.A.: Association of estrogen replacement therapy with the risk of osteoarthritis of the hip in elderly white women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Arch. Intern. Med.*, 1996; 156: 2073-2080
- [65] Nevitt M.C., Felson D.T., Williams E.N., Grady D.: The effect of estrogen plus progestin on knee symptoms and related disability in postmenopausal women: The heart and estrogen/progestin replacement study, a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum.*, 2001; 44: 811-818
- [66] Pelletier J.P., Caron J.P., Evans C., Robbins P.D., Georgescu H.I., Jovanovic D., Fernandes J.C., Martel-Pelletier J.: *In vivo* suppression of early experimental osteoarthritis by interleukin-1 receptor antagonist using gene therapy. *Arthritis Rheum.*, 1997; 40: 1012-1019
- [67] Pérez H.E., Luna M.J., Rojas M.L., Kouri J.B.: Chondroptosis: An immunohistochemical study of apoptosis and Golgi complex in chondrocytes from human osteoarthritic cartilage. *Apoptosis*, 2005; 10: 1105-1110
- [68] Pettipher E.R., Higgs G.A., Henderson B.: Interleukin 1 induces leukocyte infiltration and cartilage proteoglycan degradation in the synovial joint. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986; 83: 8749-8753
- [69] Polzer K., Schett G., Zwerina J.: The lonely death: Chondrocyte apoptosis in TNF-induced arthritis. *Autoimmunity*, 2007; 40: 333-336
- [70] Portt L., Norman G., Clapp C., Greenwood M., Greenwood M.T.: Anti-apoptosis and cell survival: A review. *Biochim. Biophys. Acta*, 2011; 1813: 238-259
- [71] Renehan A.G., Booth C., Potten C.S.: What is apoptosis, and why is it important? *Br. Med. J.*, 2001; 322: 1536-1538
- [72] Roach H.I., Aigner T., Kouri J.B.: Chondroptosis: A variant of apoptotic cell death in chondrocytes? *Apoptosis*, 2004; 9: 265-277
- [73] Sano R., Reed J.C.: ER stress-induced cell death mechanisms. *Biochim. Biophys. Acta*, 2013; 1833: 3460-3470
- [74] Shakibaei M., Schulze-Tanzil G., John T., Mobasheri A.: Curcumin protects human chondrocytes from IL-1 β -induced inhibition of collagen type II and β 1-integrin expression and activation of caspase-3: An immunomorphological study. *Ann. Anat.*, 2005; 187: 487-497
- [75] Sharif M., Whitehouse A., Sharman P., Perry M., Adams M.: Increased apoptosis in human osteoarthritic cartilage corresponds to reduced cell density and expression of caspase-3. *Arthritis Rheum.*, 2004; 50: 507-515
- [76] Sharma A.R., Jagga S., Lee S.S., Nam J.S.: Interplay between cartilage and subchondral bone contributing to pathogenesis of osteoarthritis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2013; 14: 19805-19830
- [77] Shimohama S.: Apoptosis in Alzheimer's disease - an update. *Apoptosis*, 2000; 5: 9-16
- [78] Sophia Fox A.J., Bedi A., Rodeo S.A.: The basic science of articular cartilage: Structure, composition, and function. *Sports Health*, 2009; 1: 461-468
- [79] Stanton H., Rogerson F.M., East C.J., Golub S.B., Lawlor K.E., Meeker C.T., Little C.B., Last K., Farmer P.J., Campbell I.K., Fourie A.M., Fosang A.J.: ADAMTS5 is the major aggrecanase in mouse cartilage *in vivo* and *in vitro*. *Nature*, 2005; 434: 648-652
- [80] Takahashi K., Hashimoto S., Kubo T., Hirasawa Y., Lotz M., Amiel D.: Effect of hyaluronan on chondrocyte apoptosis and nitric oxide production in experimentally induced osteoarthritis. *J. Rheumatol.*, 2000; 27: 1713-1720
- [81] Tang B.L.: ADAMTS: a novel family of extracellular matrix proteases. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2001; 33: 33-44
- [82] Testa U.: Apoptotic mechanisms in the control of erythropoiesis. *Leukemia*, 2004; 18: 1176-1199
- [83] Tetlow L.C., Adlam D.J., Woolley D.E.: Matrix metalloproteinase and proinflammatory cytokine production by chondrocytes of human osteoarthritic cartilage: Associations with degenerative changes. *Arthritis Rheum.*, 2001; 44: 585-594
- [84] Thomas C.M., Fuller C.J., Whittles C.E., Sharif M.: Chondrocyte death by apoptosis is associated with cartilage matrix degradation. *Osteoarthritis Cartilage*, 2007; 15: 27-34
- [85] Trapani J.A., Smyth M.J.: Functional significance of the perforin/granzyme cell death pathway. *Nat. Rev. Immunol.*, 2002; 2: 735-747
- [86] Venderova K., Park D.S.: Programmed cell death in Parkinson's disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, 2012; 2: a009365
- [87] Voll R.E., Herrmann M., Roth E.A., Stach C., Kalden J.R., Girkontaitė I.: Immunosuppressive effects of apoptotic cells. *Nature*, 1997; 390: 350-351
- [88] Wang J., Gao J.S., Chen J.W., Li F., Tian J.: Effect of resveratrol on cartilage protection and apoptosis inhibition in experimental osteoarthritis of rabbit. *Rheumatol. Int.*, 2012; 32: 1541-1548
- [89] Watson E.C., Koenig M.N., Grant Z.L., Whitehead L., Trounson E., Dewson G., Coultas L.: Apoptosis regulates endothelial cell number and capillary vessel diameter but not vessel regression during retinal angiogenesis. *Development*, 2016; 143: 2973-2982
- [90] Wong R.S.: Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 2011; 30: 87
- [91] Woodcock J.: Sphingosine and ceramide signalling in apoptosis. *IUBMB Life*, 2006; 58: 462-466
- [92] Zamli Z., Adams M.A., Tarlton J.F., Sharif M.: Increased chondrocyte apoptosis is associated with progression of osteoarthritis in spontaneous Guinea pig models of the disease. *Int. J. Mol. Sci.*, 2013; 14: 17729-17743
- [93] Zamli Z., Sharif M.: Chondrocyte apoptosis: a cause or consequence of osteoarthritis? *Int. J. Rheum. Dis.*, 2011; 14: 159-166
- [94] Zhang J.H., Zhang Y., Herman B.: Caspases, apoptosis and aging. *Ageing Res. Rev.*, 2003; 2: 357-366
- [95] Zhang Y., Jordan J.M.: Epidemiology of osteoarthritis. *Clin. Geriatr. Med.*, 2010; 26: 355-369

Autorzy deklaruja brak potencjalnych konfliktow interesow.