

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΚΑΙ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ

ΕΡΕΥΝΑΣ «Ν.Σ. ΧΡΗΣΤΕΑΣ»

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΝΙΚΟΛΑΟΣ Ι. ΝΙΚΗΤΕΑΣ

**Ο ρόλος της Φετουίνης-Α στην φλεγμονώδη αντίδραση της
άρθρωσης του γόνατος- Πειραματική μελέτη σε επίμυες**

ΕΛΕΝΗ ΠΑΠΠΑ

**ΙΑΤΡΟΣ- ΕΙΔΙΚΕΥΟΜΕΝΗ ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΚΑΙ
ΤΡΑΥΜΑΤΙΟΛΟΓΙΑΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ 2019

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

ΜΗΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ
ΚΑΙ ΥΓΙΕΙΑΝ ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝ
ΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ ΕΠΙ
ΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΑΝ ΕΜΗΝ
ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΣΔΕ ΗΓΗΣΑΣΘ
ΑΙ ΜΕΝΤΟΝ ΔΙΔΑΣΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗ
Ν ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΙΚΑΙΝ ΕΜΟΙΣ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΑΣΘΑΙ Κ
ΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ Κ
ΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΕΥΤΕΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΣΤΗ
ΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΣΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ
ΗΝ ΧΡΗΖΟΥΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΣΥ
ΓΓΡΑΦΗΣ ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ
ΛΟΙΠΗΣ ΑΡΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣ
ΘΑΙ ΥΙΟΙΣ ΤΕ ΕΜΟΙΣ ΚΑΙ ΤΟΙΣ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΣΑΝ
ΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣ ΤΕ ΚΑΙ ΛΥ
ΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΜΙ
ΔΙΑΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΑΝ ΚΑΜΝΟ
ΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΑΝ ΕΜΗΝ ΕΠΙ ΔΙΚΗ
ΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ ΕΙΡΞΕΙΝ ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ
ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΜΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΜΟΝ ΟΥΔΕΥ
ΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΟΥΣ ΔΕ ΟΥ
ΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ ΑΓΝΩΣ Δ
Ε ΚΑΙ ΟΙΟΥΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝ
ΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ ΟΥ ΤΕΜΕΛ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘ
ΙΛΝΤΑΣ ΕΚΧΛΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΡΙΑΝ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡ
ΗΞΙΟΣ ΤΗΣΔΕ ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΩ
ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΑΝ ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΕΚΤ
ΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΑΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΑΣ Τ
ΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΑΛΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΣΥ
ΚΑΙΚΕΛΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΘΡΩΠΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡ
ΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ
Η ΙΔΩ Η ΔΙΟΥΣΩ Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΤΑ Β
ΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΚΑΛΕΕΣΘΑΙ
ΕΞΩ ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ ΑΡΡΗΚΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟ
ΛΩΤΑ ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕ
Α ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΣΥΓΧΕΟΝΤΙ ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘ
ΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΣΙΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ Π
ΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΔΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙ
ΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠ' ΟΡΚΟΥΝΤΙ ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ

I

*Στους γονείς μου,
Θεόδωρο και Παρασκευή*

«Η μεγαλύτερη φιλοδοξία είναι να γίνεις αυτό που είσαι»

Δημήτρης Μουταράς

Ημερομηνία αίτησης έναρξης Διδακτορικής Διατριβής: 29/10/2015

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 21/12/2015

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επίκουρος Καθηγητής Βασίλειος Νικολάου (Επιβλέπων)

Καθηγητής Σπυρίδων Πνευματικός

Καθηγήτρια Δέσποινα Περρέα

Ημερομηνία καθορισμού θέματος Διδακτορικής Διατριβής: 2/3/2016

Ημερομηνία κατάθεσης 3^{ης} προόδου: 5/6/2019

Ευχαριστίες

Τελειώνοντας αυτό το μακρόχρονο πόνημα θα ήθελα να ευχαριστήσω κάποιους ανθρώπους που χωρίς αυτούς δε θα είχε τελεσφορήσει αυτή η διδακτορική διατριβή.

Κατ' αρχάς, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου, τον Επίκουρο Καθηγητή της Β' Πανεπιστημιακής Ορθοπαιδικής Κλινικής του νοσοκομείου «Αγία Όλγα», κ. Βασίλειο Νικολάου, που στήριξε αυτήν την προσπάθεια υλικοτεχνικά και ηθικά και μου συμπαραστάθηκε με όλους τους δυνατούς τρόπους σε όποιο πρόβλημα ενέκυπτε καθώς και ήταν σημαντικός διοργανωτής της επιστημονικής μου έρευνας και συγγραφής.

Επίσης, ένα μεγάλο «ευχαριστώ» χρωστάω στην Καθηγήτρια κ. Δέσποινα Περρέα, η οποία με καθοδηγούσε ερευνητικά και προσπαθούσε μαζί μας να ξεπεράσουμε όλες τις αντιξοότητες που συναντήσαμε, αφιερώνοντας σ' εμένα ένα μεγάλο μέρος του πολύτιμου χρόνου της.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω βαθύτατα τον Καθηγητή Ορθοπαιδικής, Διευθυντή της Γ' Πανεπιστημιακής Ορθοπαιδικής Κλινικής του νοσοκομείου «ΚΑΤ» , κ Σπυρίδωνα Πνευματικό, ο οποίος με τις πολύτιμες συμβουλές του συνέβαλε τα μέγιστα για την εκπόνηση των πειραμάτων μας και στη συγγραφή της πειραματικής μας μελέτης.

Ευχαριστώ επίσης όλους όσους με βοήθησαν για να επιτευχθεί η ολοκλήρωση του πειραματικού μέρους της διατριβής, δηλαδή την Ιατρό κα Αναστασία Προδρομίδου , τους συνεργάτες του Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας «Ν. Σ. Χρηστέας» , δηλαδή τους κκ Μαρία –Λασκαρίνα Κορού, Παναγιώτη Κωνσταντόπουλο, Αφροδίτη Δασκαλοπούλου, και το προσωπικό του Εργαστηρίου , κκ Εσμεράλντα Ντούση, Νικόλαο και Παναγιώτη Τσακιρόπουλο.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Σάββα Παπαδόπουλο, Διευθυντή του Εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής του Διαγνωστικού και Θεραπευτικού Κέντρου Αθηνών «ΥΓΕΙΑ» για την πολύτιμη βοήθειά του στην ιστολογική ανάλυση των παρασκευασμάτων, καθώς και τον κ. Ιωάννη Χρυσοβέργη για την βοήθειά του στην επεξεργασία των παρασκευασμάτων.

Πάνω απ' όλα όμως, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για την υποστήριξη της σε όλη την προσπάθεια που έχω καταβάλλει αυτά τα χρόνια, με επιστέγασμα αυτήν τη διδακτορική διατριβή. Χωρίς αυτήν τη στήριξη σίγουρα δε θα έφτανα έως εδώ.

ΑΝΑΛΥΤΙΚΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

1. ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνοματεπώνυμο: Ελένη Παππά

Ημερομηνία Γέννησης: 25 Ιανουαρίου 1991

Τόπος Γέννησης: Αθήνα, Αττική

Υπηκοότητα: Ελληνική

Τηλ.Επικοινωνίας: 6934269558

e-mail: helenapp27@yahoo.gr

2. ΠΑΡΟΥΣΑ ΘΕΣΗ

Ειδικευόμενη Ορθοπαιδικής Χειρουργικής και Τραυματιολογίας, Ε' Ορθοπαιδική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο "ΚΑΤ", Κηφισιά, Αττική

3. ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ-ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ-ΔΙΠΛΩΜΑΤΑ

Α.Εγκύκλιες Σπουδές

- **2006-2009** : 1^ο Λύκειο Χαλκίδας, Εύβοια, Βαθμός Αποφοίτησης 19,9/20

Β.Προπτυχιακή Εκπαίδευση

- **2009-2015**: Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών με βαθμό 7,85 (Λίαν Καλώς)
- **5-20/08/2013**: Clinical Observership στο King's College Hospital , Harris Birthright Centre, London, England, NHS
- Άδεια Ασκήσεως Ιατρικού Επαγγέλματος: 2015, Νομαρχία Αθηνών

Γ.Μεταπτυχιακή Εκπαίδευση

- **Σεπτέμβρης 2015- Ιούνιος 2016** : Υποτροφία ομίλου «ΥΓΕΙΑ» μετεκπαιδευτικής συνεργασίας στην Β'Ορθοπαιδική Κλινική και στη ΜΕΘ
- **Ιούλιος 2016-Ιούλιος 2017:** Ιατρός Υπηρεσίας Υπαίθρου Κ.Υ Σαλαμίνας – Γενικού Νοσοκομείου Νίκαιας- «Αγίος Παντελεήμων»- 2^η υΠΕ
- **Ιούλιος 2017- Δεκέμβριος 2017:** Επιστημονικός Συνεργάτης Β'Ορθοπαιδικής Κλινικής Νοσοκομείου ΥΓΕΙΑ
- **Δεκέμβριος 2017- Ιούλιος 2018:** Ειδικευόμενη Χειρουργικής Θώρακος (θητεία Γενικής Χειρουργικής), Θωρακοχειρουργική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο «ΚΑΤ»
- **Οκτώβριος 2018 -Τώρα:** Ειδικευόμενη Ορθοπαιδικής Χειρουργικής και Τραυματιολογίας, Ε' Ορθοπαιδική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο «ΚΑΤ»

Δ. Συνεχιζόμενη Ιατρική Εκπαίδευση

- Advanced Trauma Life Support (ATLS), November 2015, Attikon University Hospital
- Advanced Life Support (ALS), October 2016, EEKA
- Advanced Course in Total Hip and Total Knee Arthroplasty, 18th EFORT Congress, Vienna, June 2017
- Advanced Elbow Course, 13-15 November 2017, Όμιλος ΥΓΕΙΑ
- Advanced Elbow Course, 7-9 September 2018, Όμιλος ΥΓΕΙΑ
- Basic Principles of Fracture Management AOTrauma Course, 9-11 May 2019, Πανεπιστήμιο Πατρών

Ε. Ξένες Γλώσσες – Υπόλοιπα

Αγγλικά (Proficiency of Cambridge, Proficiency of Michigan, IELTS)

Γαλλικά (B1)

4. ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΕΡΓΟ

- **Εκπόνηση Διατριβής με τίτλο «Ο ρόλος της φετουίνης Α στην φλεγμονώδη αντίδραση της άρθρωσης του γόνατος- Πειραματική μελέτη σε επίμυες»**

υπό τους: Διευθύντρια του Εργαστηρίου Πειραματικής Χειρουργικής και

Χειρουργικής έρευνας «Ν. Σ. Χρηστέας» Καθηγήτρια κ. Δ.Ν.Περρέα,

Διευθνή της Γ' Πανεπιστημιακής Ορθοπαιδικής Γενικού Νοσοκομείου «ΚΑΤ»

Καθηγητή κ. Σπυρίδωνος Πνευματικού και Επίκουρο Καθηγητή Ορθοπαιδικής της Β'

Πανεπιστημιακής Ορθοπαιδικής Κλινικής Γ.Ν. «Αγία Όλγα» κ. Βασίλειο Νικολάου.

5. ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΕΡΓΟ

ΔΙΕΘΝΕΙΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

- **Eleni Pappa; Savvas Papadopoulos; Laskarina- Maria Korou; Despina S Perrea; Spiridon Pneumaticos; Vasileios S Nikolaou. The role of Intra-articular Administration of Fetuin-A in Post-Traumatic Knee Osteoarthritis. An experimental study in a rat model. Journal of Experimental Orthopaedics 2019**

- **Evangelopoulos D, Chalikias S, Michalos M, Vasilakos D, Pappa E, Zisis K, Koundis G, Kokoroghiannis C . Medium-Term Results after Surgical Treatment of High-Energy Tibial Plateau Fractures. J Knee Surg. 2019 Feb 6. doi: 10.1055/s-0039-1677822**
- **Pappa E, Vergados N, Spiridakis E, Chountas G, Sourmelis S. A Retrospective Comparative Study of Different Methods of Blood Management in Total Knee Replacement. J Knee Surg 2018 Nov 13. doi: 10.1055/s-0038-1675217**
- **E. Spyridakis, N.Pentilas, G.Retziou, E.Pappa, S.Kalakonas. The use of desmopressin (DDAVP) as haemostatic agent in patients undergoing coronary artery bypass grafting (CABG) surgery. J Cardiothorac Vasc Anesth 2017, 31 S34-S69**
- **Pappa E, Perrea DS, Pneumaticos S, Nikolaou VS. Role of fetuin A in the diagnosis and treatment of joint arthritis. World J Orthop 2017; 8(6): 461-464 DOI: 10.5312/wjo.v8.i6.461**
- **Pergialiotis V, Prodromidou A, Pappa E, Vlachos GD, Perrea DN, Papantoniou N. An evaluation of calprotectin as serum marker of preeclampsia: a systematic review of observational studies. Inflamm Res. (IF: 2.35), pp1-8, 24 November 2015, PMID: 26603731**

**ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΕΡΓΑΣΙΩΝ-ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΩΝ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΚΑΙ
ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ**

«The role of Intra-articular Administration of Fetuin-A in Post-Traumatic Knee Osteoarthritis. An experimental study in a rat model»

Eleni Pappa; Savvas Papadopoulos; Laskarina- Maria Korou; Despina S Perrea; Spiridon Pneumaticos; Vasileios S Nikolaou

20TH EFORT Congress 2019, Lisbon, Portugal, Best Posters Session

“Ο ρόλος της ενδαρθρικής χορήγησης Φετουίνης-Α στην μετατραυματική αρθρίτιδα του γόνατος. Πειραματική μελέτη σε επίμυες”

Ε Παππά, Σ Παπαδόπουλος, Δ Περρέα, Σ Πνευματικός, Β Νικολάου

Πανελλήνιο Συνέδριο Ορθοπαιδικής και Τραυματιολογίας, Αθήνα, Οκτώβριος 2018

«The role of thromboelastography (TEG) in postoperative bleeding in patients undergoing Coronary Artery Bypass Grafting (CABG) with Cardiopulmonary Bypass (CPB).»

Spyridakis Emmanouil, Chatzieleftheriou Nikolaos, Pendilas Nikolaos, Eleni Pappa, Kalakonas Spyros.

The European Anesthesiology Congress, Copenhagen, Denmark, June 2018

«Η χειρουργική αντιμετώπιση των καταγμάτων μετακαρπίου.»

Ε. Παππά Ν. Βέργαδος, Γ.Χούντας, Ε. Σπυριδάκης Σ.Σουρμελής.

Πανελλήνιο Συνέδριο Ορθοπαιδικής Χειρουργικής και Τραυματιολογίας, Αθήνα,
Οκτώβριος 2017

*«Η χειρουργική αντιμετώπιση της οστεοαρθρίτιδας της καρπομετακάρπιας
άρθρωσης του αντίχειρα.»*

Ε.Παππά, Ν.Βέργαδος, Γ.Χούντας, Ε.Σπυριδάκης, Σ.Σουρμελής

Πανελλήνιο Συνέδριο Ορθοπαιδικής Χειρουργικής και Τραυματιολογίας, Αθήνα,
Οκτώβριος 2017

*«Πολυσυνδεσμικές κακώσεις γόνατος:
μεσο-μακροπρόθεσμη αξιολόγηση των ασθενών που υποβλήθηκαν σε χειρουργική
αντιμετώπιση.»*

Γ.Δημητρίου, Μ.Μητσάκου, Ε.Παππά, Κ.Κοκορόγιαννης, Δ.Ευαγγελόπουλος

Πανελλήνιο Συνέδριο Ορθοπαιδικής Χειρουργικής και Τραυματιολογίας,
Αθήνα, Οκτώβριος 2017

*“A Retrospective Comparative Study Of Different Methods Of Blood Management
In Primary Total Knee Replacement”*

Eleni Pappa, George Chountas, Nikolaos Vergados, Emmanouil Spiridakis, Savas
Sourmelis

18th EFORT Congress, Vienna, Austria, June 2017

«Κλινική περίπτωση γάγγραινας άκρου ποδός σε ασθενή με σακχαρώδη διαβήτη τύπου II»

Ελένη Παππά, Π Μπραιμάκος, Ε Παπαρηγορίου, Π Ντασιακλής, Παναγιώτα Μπάφα.
Πανελλήνιο Διαβητολογικό Συνέδριο. Αθήνα. Μάιος 2017

«Προσέλευση εξειδικευμένου παιδοκαρδιολογικού περιστατικού στην πρωτοβάθμια φροντίδα υγείας».

Ε.Παπαρηγορίου, Π.Μπραιμάκος, Π.Ντασιακλής, Ε.Παππά, Χ.Κοτούλας,
Ε.Κατσουλιέρη, Π.Μπάφα.

43^ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο. Αθήνα. Μάιος 2017

«Στατίνες και ηπατοτοξικότητα σε ασθενείς υπό αγωγή στην πρωτοβάθμια φροντίδα υγείας.»

Ε.Παπαρηγορίου, Π.Μπραιμάκος, Π.Ντασιακλής, Ε.Παππά, Χ.Κοτούλας,
Ε.Κατσουλιέρη, Π.Μπάφα. .

43^ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο. Αθήνα. Μάιος 2017

«Τρανεξαμικό οξύ: Είναι η αποτελεσματικότερη μέθοδος διαχείρισης του αίματος στην ολική αρθροπλαστική ισχίου;»

Ε.Παππά, Ε.Σπυριδάκης, Γ.Χούντας, Ν.Βέργαδος, Σ.Σουρμελής

Πανελλήνιο Συνέδριο Ορθοπαιδικής Χειρουργικής και Τραυματιολογίας, Αθήνα,
Οκτώβριος 2016

«Τρανεξαμικό Οξύ : Είναι η αποτελεσματικότερη μέθοδος διαχείρισης του αίματος στην ολική αρθροπλαστική γόνατος;»

Ε.Παππά, Γ.Χούντας, Ε.Σπυριδάκης, Ν.Βέργαδος, Σ.Σουρμελής

Πανελλήνιο Συνέδριο Ορθοπαιδικής Χειρουργικής και Τραυματιολογίας, Αθήνα,

Οκτώβριος 2016

***«Μεσοπρόθεσμα Αποτελέσματα Χειρουργικής Αντιμετώπισης
Υψηλής Ενέργειας Καταγμάτων Κνημιαίων Κονδύλων.»***

Σ.Χαλικιάς, Μ.Μίχαλος, Ε.Παππά, Γ.Κουντής, Κ.Κοκορόγιαννης, Δ.
Ευαγγελόπουλος.

Πανελλήνιο Συνέδριο Ορθοπαιδικής Χειρουργικής και Τραυματιολογίας, Αθήνα,

Οκτώβριος 2016

***«Συγκριτική μελέτη των μεθόδων περιεγχειρητικής διαχείρισης του αίματος στην
ολική αρθροπλαστική ισχίου.»***

Παππά Ε, Σπυριδάκης Ε, Χούντας Γ, Βέργαδος Ν, Σουρμελής Σ

Πανελλήνιο Συνέδριο Μεταγγισιοθεραπείας, Καβάλα, Μάιος 2016

***«Συγκριτική μελέτη των μεθόδων περιεγχειρητικής διαχείρισης του αίματος στην
ολική αρθροπλαστική γόνατος.»***

Παππά Ε, Σπυριδάκης Ε, Χούντας Γ, Βέργαδος Ν, Σουρμελής Σ

Πανελλήνιο Συνέδριο Μεταγγισιοθεραπείας, Καβάλα, Μάιος 2016

***“The outcome of a neglected Monteggia fracture dislocation in a child, treated with
the Bell Tawse technique: A case report.”***

Christos Zambakides, Eleni Pappa, Konstantinos Tolis, Stavros Chalikias.

FESSH Congress. Santander, Spain, May 2016

“Ενδομυελική ήλωση σε πειραματικό μοντέλο επίμυων”

Chalikias S, Kountis G, Pappa E, Perpirakis K, Panteliou S, Donta I.

Συμπόσιο Ενδομυελικών Ηλώσεων, ΕΕΧΟΤ, Φεβρουάριος 2015, Δημητσάνα

“Αντιμετώπιση οστικού ελλείματος με τη χρήση πολυδύναμων μεσεγχοματικών κυττάρων”

Παππά Ε, Χασεμάκη Ν, Τζανετάκου Ε, Κορού Λ Μ, Περρέα Δ.

20th Scientific Congress Φοιτητών Ιατρικής (ΕΕΦΙΕ) και 8th International Forum .

Μάιος 2014, Θεσσαλονίκη

6. ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ – ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ – ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΕΣ – ΕΘΕΛΟΝΤΙΣΜΟΣ

- **2009:** Υποτροφία από το Αφεντάκειο Ίδρυμα στο πλαίσιο βράβευσης αριστούχων μαθητών στις Πανελλήνιες Εξετάσεις
- **2013-2015:** Εθελοντική παρουσία στις Εφημερίες και τις δραστηριότητες της Ε’Ορθοπαιδικής Κλινικής Γενικού Νοσοκομείου «ΚΑΤ»
- **2015:** Συμμετοχή στο πρόγραμμα Ιατρική Απόβαση της ΕΕΦΙΕ με εθελοντική πρακτική εξάσκηση στο Κ.Υ. Παξών

7. ΜΕΛΟΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΩΝ ΕΤΑΙΡΕΙΩΝ

- **2016-2017:** Ιατρικός Σύλλογος Πειραιά
- **2017-τώρα:** Ιατρικός Σύλλογος Αθηνών
- **2015- τώρα:** General Medical Council, NHS Trust, UK

8. ΛΟΙΠΕΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΕΣ

- Διαπιστευμένη κάτοχος του ειδικού πτυχίου της Αρμονίας της Θεωρίας της μουσικής με δυνατότητα εκπαιδευτή
- Γνώσεις Ηλεκτρονικού Υπολογιστή (Windows Offices, OSX)

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ	21
2.ΑΙΤΙΟΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΟΥΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ ΟΣΤΕΟΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ.....	22
2.1 Η Φλεγμονώδης αντίδραση της οστεοαρθρίτιδας.....	23
2.2 Ο Ρόλος της Οστικής Αναδόμησης.....	28
2.3 Η Φλεγμονώδης Αντίδραση της άρθρωσης κατά την μετατραυματική οστεοαρθρίτιδα.....	33
3.ΦΕΤΟΥΙΝΗ-Α.....	43

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ	49
2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ	50
2.1 Ζωικό πρότυπο και οργάνωση πειράματος	50
2.2. Ανάλυση αίματος	59
2.2.1. ELISA.....	61
2.3. Ανάλυση ιστών	63
2.3.1. Παθολογοανατομική εξέταση	63
2.3.2. Ανάλυση εικόνας	64
2.4. Στατιστική ανάλυση	65
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	66
3.1. Επίδραση της φετουίνης-Α στην ανάπτυξη και στο σωματικό βάρος των πειραματόζωων	66
3.2. Η επίδραση της φετουίνης-Α στα επίπεδα των IL-2, IL-7, BMP-2, BMP-4, BMP-7, ASHG, CRP.....	67
3.3. Ιστολογική Ανάλυση	76
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	83
5.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ	91
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	92

ABSTRACT	94
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	96

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η φλεγμονώδης αντίδραση του γόνατος περιλαμβάνει πολλές μορφές, όπως η οστεοαρθρίτιδα, η σηπτική αρθρίτιδα καθώς και ρευματοειδής αρθρίτιδα. Στην παρούσα μελέτη, με την έννοια της φλεγμονώδους αντίδρασης του γόνατος μελετήθηκε η δευτεροπαθής μετατραυματική οστεοαρθρίτιδα του γόνατος. (Post-Traumatic Osteoarthritis-PTOA).

Η οστεοαρθρίτιδα (ΟΑ) αποτελεί νόσο του μυοσκελετικού συστήματος όπου η μείωση του αρθρικού χόνδρου είναι παρούσα, ταυτόχρονα με την σταδιακή αποδόμηση του υποχόνδριου οστού.⁽¹⁾ Η οστεοαρθρίτιδα περιλαμβάνει μία εκτεταμένη φλεγμονώδη αντίδραση η οποία επάγεται από πληθώρα κυτταροκινών οι οποίες παράγονται από την τοπική δράση των μακροφάγων, των ιντερλευκινών, των μεταλλεινοπρωτεϊνών (MMPs), τα οποία είναι παρόντα στο αρθρικό υγρό και στον ορό και έχουν την ικανότητα να επάγουν την αποδόμηση του αρθρικού χόνδρου.⁽²⁾

Έχοντας υπόψιν την αντιφλεγμονώδη ικανότητα της πρωτεΐνης Φετουίνης-Α και της δυνατότητάς της στη ρύθμιση της δράσης των προφλεγμονωδών κυτταροκινών, υποθέσαμε πως η τοπική ενδοαρθρική χορήγηση Φετουίνης-Α σε ένα πειραματικό πρωτόκολλο επίμυων όπου θα είχε προκληθεί μετατραυματική αρθρίτιδα του γόνατος, θα μπορούσε να αναχαιτίσει την εξέλιξη της φλεγμονώδους αντίδρασης της μετατραυματικής οστεοαρθρίτιδας του γόνατος. Με βάση την παρούσα βιβλιογραφία, η επίδραση της ενδοαρθρικής χορήγησης Φετουίνης-Α στην εξέλιξη της οστεοαρθρίτιδας του γόνατος δεν έχει μελετηθεί. Αν λοιπόν η αρχική μας υπόθεση επιβεβαιωθεί, τότε ένα καινούριο φαρμακευτικό μέσο προστίθεται στην φαρέτρα της αντιμετώπισης της αρθρίτιδας του γόνατος και της συνοδού φλεγμονώδους αντίδρασης.

Αντικείμενο αυτής της διατριβής είναι η μελέτη της αντιφλεγμονώδους επίδρασης της Φετουίνης-Α στην ανάπτυξη οστεοαρθριτικών βλαβών σε επίμυες όπου έγινε

χειρουργική πρόκληση μετατραυματικής αρθρίτιδας του γόνατος κατόπιν ρήξης του προσθίου χιαστού συνδέσμου και του έσω πλαγίου συνδέσμου του δεξιού γόνατος. Επίσης μελετήθηκε η επίδραση της Φετουίνης-A στα επίπεδα ιντερλευκίνης (interleukin IL)-2, 7, στα επίπεδα β-μορφογενετικών πρωτεϊνών (BMPs) -2,4,7, στα επίπεδα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) και στα ίδια τα επίπεδα της φετουίνης-A στον ορό του περιφερικού αίματος των επίμυων.

2. ΑΙΤΙΟΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΟΣΤΕΟΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ

Η οστεοαρθρίτιδα αποτελεί εκφυλιστική μυοσκελετική νόσο η οποία περιλαμβάνει την μείωση του αρθρικού χόνδρου αλλά επίσης και την σταδιακή εκφύλιση του υποχόνδριου οστού. Θεωρείται γνωστό ότι η φλεγμονώδης αντίδραση της άρθρωσης προάγεται από κυτταροκίνες οι οποίες παράγονται από την τοπική δράση των μακροφάγων. Οι κυτταροκίνες αυτές περιλαμβάνουν τις ιντερλευκίνες IL-1a έως IL-10, και τις μεταλλεινοπρωτεϊνάσες (MMPs). Οι κυτταροκίνες αυτές είναι μετρήσιμες στον ορό αλλά και στο αρθρικό υγρό και όλες συνδράμουν στην εκφύλιση του παρόντος χόνδρου. Επιπρόσθετα με την φλεγμονώδη αντίδραση που μεσολαβείται από τις άνωθι κυτταροκίνες, το κολλαγόνο τύπου 1 μετατρέπεται σε κολλαγόνο τύπου 2, ενώ παράλληλα πραγματοποιείται και μείωση του αριθμού των τοπικών χονδροκυττάρων. (2,3)

Από την παρούσα βιβλιογραφία είναι γνωστό ότι η δραστηριότητα της IL-1 διαδραματίζει πρωταγωνιστικό ρόλο στην φλεγμονώδη αντίδραση της οστεοαρθρίτιδας, οδηγώντας στην παραγωγή MMPs η οποία κατόπιν οδηγεί στην εκφύλιση του παρόντος χόνδρου. (3)

2.1 Η ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΟΣΤΕΟΑΡΘΡΙΤΙΑ

Η αρθρική ομοιόσταση πραγματοποιείται μέσω της ισορροπίας ανάμεσα στους καταβολικούς παράγοντες του αρθρικού χόνδρου (IL-1 και Tumor Necrosis Factor-TNF) αλλά και στα αναβολικά μέσα όπως οι ινσουλινομημητικοί αυξητικοί παράγοντες (Insulin Growth Factor-IGF), οι β-μορφογενητικές πρωτεΐνες (BMP) όπως η BMP-7, καθώς και οι μορφογενητικές πρωτεΐνες προερχόμενες από τον χόνδρο CDMPs, TGF-b (transforming growth factor-b) και τους αυξητικούς παράγοντες των ινοβλαστών (fibroblast growth factors-FGFs). (4)

Η πρωτεΐνη CDMP-1 εκφράζεται από τις εν τω βάθει περιοχές του χόνδρου που έχει υποστεί εκφυλιστική καταστροφή, η οποία οδηγεί σε αύξηση του αριθμού των τοπικών χονδροκυττάρων αλλά ταυτόχρονα προάγει την παραγωγή πρωτεογλυκάνων. (5)

Ανάμεσα στις μορφογενητικές πρωτεΐνες, η BMP-7 διαδραματίζει πρωταγωνιστικό ρόλο στην διατήρηση της ενδαρθρικής ομοιόστασης. Η BMP-7 παράγεται από το επιπόλης στρώμα του αρθρικού χόνδρου ακολουθώντας την έκφραση των υποδοχέων BMP ((BMPR- I A, I B, and II). Η β-μορφογενητική πρωτεΐνη-7 διαθέτει πολλαπλούς ρόλους στην φλεγμονώδη αντίδραση της άρθρωσης, περιλαμβάνοντας την διατήρηση των επιφανειών του αρθρικού χόνδρου προωθώντας την έκφραση του φαινοτύπου των χονδροκυττάρων από τα αδιαφοροποίητα ενδαρθρικά κύτταρα, αυξάνοντας την σύνθεση του παράγοντα αναχαίτισης των μεταλαιοπρωτεϊνών (tissue inhibitor of metalloproteinase -TIMP). Επιπρόσθετα, οδηγεί στην έκφραση του παράγοντα IGF1 και των κυτταροσκελετικών πρωτεϊνών των χονδροκυττάρων. (6)

Τα ανατομικά στοιχεία της άρθρωσης, όπως ο οστικός μυελός, ο αρθρικός χόνδρος και το περίοστεο, περιλαμβάνουν πολυδύναμα μεσεγχυματικά κύτταρα τα οποία έχουν την δυνατότητα να προωθήσουν την παραγωγή χονδροκυττάρων. Προτείνεται λοιπόν από τα παρόντα επιστημονικά δεδομένα, πως η απορρύθμιση και πιο συγκεκριμένα η αύξηση της δραστηριότητας του TFG-b και των BMPs είναι ικανά να επάγουν τον αριθμό των υπάρχοντων πολυδύναμων μεσεγχυματικών κυττάρων, τα οποία με την σειρά τους παράγουν περίσσεια ποσότητα χόνδρου, οστού και ινικής. Με αυτόν τον τρόπο προκαλείται η ίνωση και στη δημιουργία οστεοφύτων , χαρακτηριστικά της νόσου της οστεοαρθρίτιδας. Έτσι λοιπόν οποιαδήποτε ανισορροπία μεταξύ των παραγόντων που προαναφέρθηκαν είναι ικανή να οδηγήσει στην εγκατάσταση της φλεγμονώδους αντίδρασης της άρθρωσης με την μορφή της οστεοαρθρίτιδας. (7)

Ωστόσο, ο οστίτης ιστός διαθέτει ο ίδιος τον πρωταγωνιστικό ρόλο στην εξέλιξη της οστεοαρθρίτιδας. Το στάδιο της οστικής αναδιαμόρφωσης διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο ειδικά κάτω από τις συνθήκες μηχανικής φόρτισης, όπως μάλιστα αποδεικνύεται από συνεχείς πειραματικές μελέτες. (8) Επί του παρόντος, νέοι κλινικοί βιοδείκτες έχουν αναπτυχθεί με στόχο να διευκυνθεί ο οστικός φαινότυπος των ασθενών που πάσχουν από οστεοαρθρίτιδα. Αυτή η διαστρωμάτωση είναι ικανή να οδηγήσει σε περισσότερο στοχευμένες θεραπείες με σκοπό την αναχαίτιση της εξέλιξης της οστεοαρθρίτιδας αλλά και για εξατομικευμένα θεραπευτικά πρωτόκολλα. (9)

Η πρόοδος της εκφυλιστικής νόσου της άρθρωσης είναι δυνατόν να οδηγήσει στην χειρουργική αντικατάσταση της άρθρωσης. Στην περίπτωση της άρθρωσης του γόνατος, 12% των ασθενών θα χρειαστούν ολική αρθροπλαστική γόνατος ως μέσο

αντιμετώπισης της οστεοαρθρίτιδας του γόνατος, ειδικά στην περίπτωση της μετατραυματικής αρθρίτιδας. (10)

Χαρακτηριστικά της φλεγμονώδους αντίδρασης της οστεοαρθρίτιδας αποτελούν η απώλεια γλυκοζαμινογλυκάνων (GAG) και του κολλαγόνου τύπου II στον αρθρικό χόνδρο. Οι ιντερλευκίνες 17 και 18 αποτελούν πρόσθετες κυτταροκίνες οι οποίες είναι πολυδύναμοι μεσολαβητές στην καταβολική απάντηση της φλεγμονώδους αντίδρασης από τα χονδροκύτταρα., οι οποίες επάγουν την παραγωγή IL-6, iNOS, COX-2, και MMPs. (11,12)

Ο αρθρικός χόνδρος περιλαμβάνει τα χονδροκύτταρα και την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία που αποτελείται από κολλαγόνο τύπου 2, αγγρεκάνες και υαλουρονάνη. Κατά την πρόοδο της οστεοαρθρίτιδας παρατηρείται αύξηση της φιβρονεκτίνης (fibronectin- FN) στον αρθρικό χόνδρο και στο αρθρικό υγρό των ασθενών με οστεοαρθρίτιδα. (13,14)

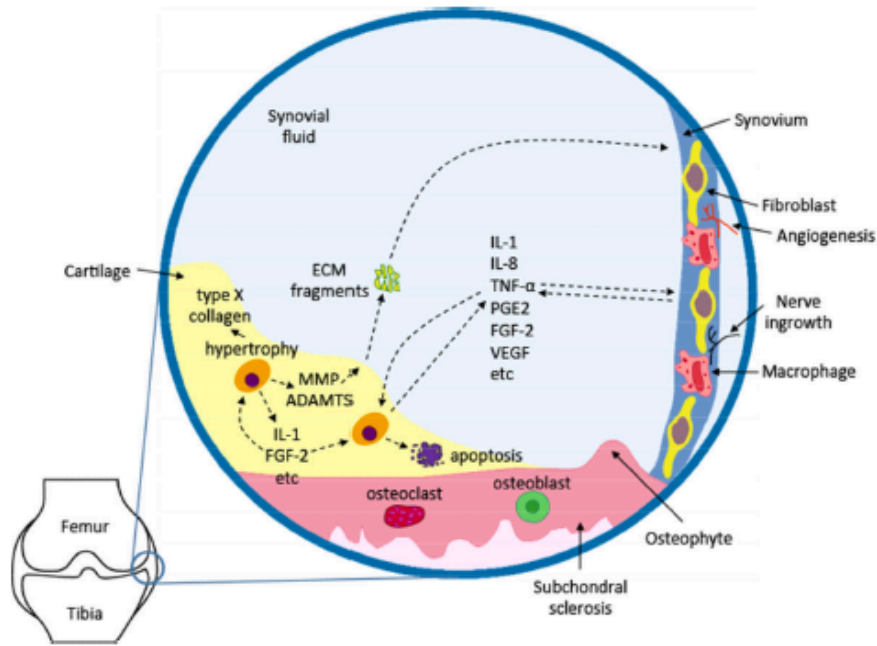
Η IL-6, η οποία αποτελεί κυτταροκίνη της προφλεγμονώδους αντίδρασης κατά την οστεοαρθρίτιδα , συνδέεται επίσης με την υπεραλγησία και την υπερευαισθησία στους αρθρικούς ιστούς κατά την εξέλιξη της οστεοαρθρίτιδας.(15)

Κατά την προφλεγμονώδη περίοδο στον αρθρικό χόνδρο, παράγονται πολυάριθμα προσταγλανοειδή προϊόντα του ενζύμου της κυκλο-οξυγενάσης (COX), περιλαμβανομένων των PGE2, PGD2, PGF2a, Θρομβοξάνη και PGI2 [16]. Η ενεργοποίηση της COX ευοδώνει την παραγωγή μεταλλοπρωτεϊνών-3, ενώ

αναστέλει την σύνθεση της προσταγλανδίνης και κολλαγόνου, προωθώντας την απόπτωση των χονδροκυττάρων. (17)

Ανάμεσα στις παραγόμενες προσταγλανδίνες, η PGE2 θεωρείται ο κύριος μεσολαβητής για την πρόκληση άλγους κατά τα στάδια της φλεγμονώδους αντίδρασης της άρθρωσης. (18)

Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να αναφερθεί και ο ρόλος του βασικού αυξητικού παράγοντα των ινοβλαστών (basic fibrogen growth factor- FGF) στην ομοίωση της άρθρωσης. (19) Ο παράγοντας FGF-2 παράγεται σε υπέρμετρες ποσότητες κατά την μηχανική φόρτιση και τον τραυματισμό του αρθρικού χόνδρου και ενεργοποιεί πολλαπλά σηματοδοτικά μονοπάτια κινασών, όπως τα ERK, p38, και JNK. Με αυτόν τον τρόπο τροποποιείται η γονιδιακή έκφραση και τη κυτταρική λειτουργία, οδηγώντας στην μείωση των επιπέδων προσταγλανδινών και προκαλώντας ανταγωνισμό στη δράση του IGF-1 και της BMP-7 στον αρθρικό χόνδρο. [20]. Ευοδώνεται επίσης η έκφραση της MMP-13, η οποία είναι ο κύριος παράγοντας καταβολισμού του κολλαγόνου II. (21)



Εικόνα 1. Η πολύπλοκη ενδοαρθρική κυτταρική αλληλεπίδραση στην περίπτωση της οστεοαρθρίτιδας

Σε αρθρώσεις όπου λαμβάνει χώρα η φλεγμονώδης αντίδραση της οστεοαρθρίτιδας, τα ενεργοποιημένα χονδροκύτταρα παράγουν καταλυτικές πρωτεάσες της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (MMPs, aggrecanases), προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (π.χ IL-1), και καταβολικούς αυξητικούς παράγοντες (FGF-2). Οι πρωτεΐνες αυτές μπορούν να εκκριθούν στο αρθρικό υγρό και κατ'έκταση να δράσουν στα κύτταρα του αρθρικού υγρού. Τα θραύσματα της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας είναι επίσης παρόντα στο αρθρικό υγρό και δρουν ως καταβολικοί μεσολαβητές. Στην οστεοαρθρίτιδα, ένας υποπληθυσμός χονδροκυττάρων υφίσταται υπερτροφικές αλλαγές, καθώς εκφράζεται το κολλαγόνο τύπου X. Ως απάντηση στην απώλεια χόνδρου, πραγματοποιείται παθολογική οστική αναδόμηση του υποχόνδριου οστού, οδηγώντας σε οστεοσκλήρυνση και παραγωγή οστεοφύτων. Οι ινοβλάστες και τα μακροφάγα κύτταρα συνθέτουν επίσης πρωτεάσες και κυτταροκίνες οι οποίες ασκούν αρνητική παλίνδρομη επίδραση στον αρθρικό χόνδρο και υμένα. Οι παθοφυσιολογικές αλλαγές στα υμενοκύτταρα οδηγούν στην αγγειογένεση η οποία συνάδει στη συμπτωματολογία της φλεγμονώδους αντίδρασης της οστεοαρθρίτιδας.

2.2 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΔΟΜΗΣΗΣ

Ο ανθρώπινος σκελετός υφίσταται συνεχή οστική αναδόμηση (bone remodeling) κατά την διάρκεια της ενήλικης ζωής. Για να διατηρηθεί η σκελετική ομοιόσταση, κρίνεται απαραίτητη η συνεργασία δύο κυρίων κυττάρων: Των οστεοκλαστών, οι οποίοι απορροφούν οστίτη ιστό και αποτελούν πολυπύρηννα κύτταρα τα οποία προκύπτουν από την διαφοροποίηση των μακροφάγων/μονοκυττάρων, και αφετέρου των οστεοβλαστών, οι οποίοι εναποθέτουν ασβεστοποιημένο οστίτη ιστό και προκύπτουν από την διαφοροποίηση των πολυδύναμων μεσεγχυματικών κυττάρων του μυελού των οστών. (22), (23)

Ο κύκλος της οστικής αναδόμησης χαρακτηρίζεται από 3 φάσεις:

(Α) έναρξη, κατά την διάρκεια της οποίας οι οστεοκλάστες δομούνται και απορροφούν κατεστραμμένο οστίτη ιστό

(Β) αναστροφή, η μετάβαση των οστεοκλαστών σε οστεοβλαστική δραστηριότητα . Βασικά σημεία κατά τη διάρκεια της περιόδου της αναστροφής περιλαμβάνουν τον τερματισμό της οστικής απορρόφησης από τους οστεοκλάστες και την διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών κυττάρων, η οποία μάλιστα διαμεσολαβείται και από το μικροπεριβάλλον του οστικού μυελού.

(Γ) δόμηση, όταν οι οστεοβλάστες αντικαθιστούν το τμήμα του οστίτη ιστού που αποδομήθηκε (24).

Η παραθυρεοειδής ορμόνη (PTH) είναι υπεύθυνη για την ομοιόσταση του ασβεστίου και διαδραματίζει πρωταγωνιστικό ρόλο στην οστική αναδιαμόρφωση, οργανώνοντας το μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών καθώς και ρυθμίζοντας την οστεογενετική σηματοδότηση. (25, 26,27).

Ο παράγοντας TGF-β1, ο οποίος βρίσκεται άφθονος στον οστικό μυελό, απελευθερώνεται και ενεργοποιείται από τους οστεοκλάστες έτσι ώστε να σηματοδοτήσει την μετανάστευση των μεσεγχυματικών κυττάρων σε σημεία οστικής απορρόφησης (28,29,30). Εκτός από τον παράγοντα TGF-β1 ενεργοποιούνται κι άλλοι παράγοντες όπως οι Wnts, B-μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMP), και ο ινσουλινομιμητικός παράγοντας IGF-1, οι οποίοι ρυθμίζουν την μετανάστευση και διαφοροποίηση των πολυδύναμων μεσεγχυματικών κυττάρων. (31, 32, 33).

Επίσης η PTH προκαλεί την παραγωγή CD8+ T λεμφοκυττάρων τα οποία με την σειρά τους παράγουν ποσότητες Wnt10b, ο οποίος σηματοδοτεί την ενεργοποίηση του Wnt οδηγώντας με τη σειρά του στη διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών κυττάρων του μυελού σε οστεοβλάστες (34). Παράλληλα, η PTH προκαλεί την εγκατάσταση μικρών αιμοφόρων αγγείων πλησιέστερα στο τμήμα οστικής αναδόμησης μέσω της ρύθμισης του παράγοντα VEGFA και neuropilin 1 και 2 , δημιουργώντας καλύτερες συνθήκες για οστική αναδόμηση. (35)

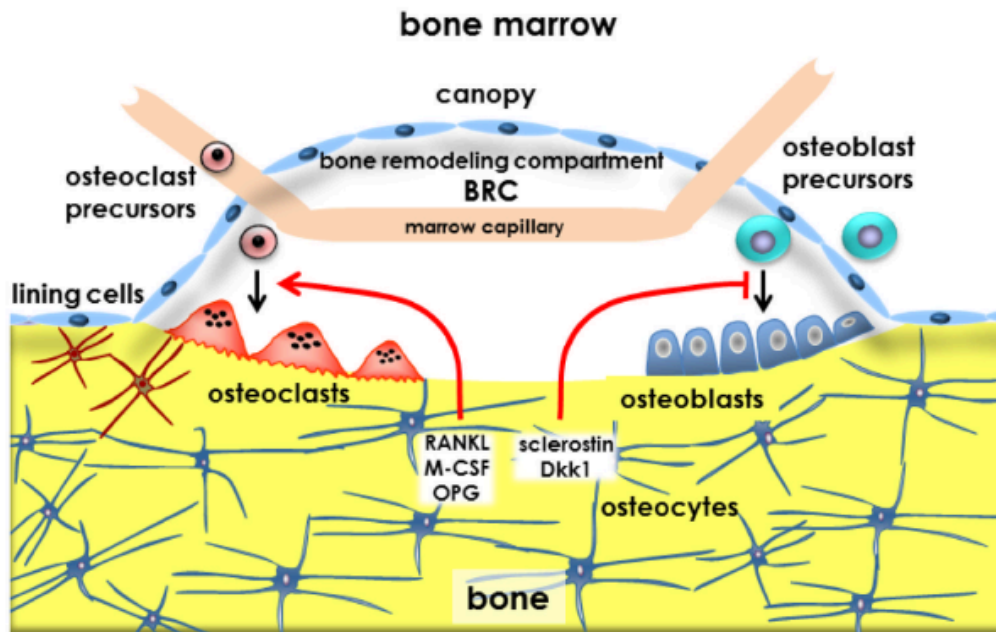
Τα οστεοκύτταρα αποτελούν πρώην οστεοβλάστες τα οποία ενταφιάζονται σε όλο το μήκος του επασβεστωμένου οστίτη ιστού. Αποτελούν το 90% των κυττάρων στο στρώμα των οστέινων επιφανειών. Τα οστεοκύτταρα απελευθερώνουν σκληροστίνη, το πρωτεϊνικό προϊόν του γονιδίου Sost, η οποία ανταγωνίζεται την δράση των

πρωτεϊνών της οικογένειας BMP, και επίσης συνδέεται με το σύμπλεγμα LRP5/LRP6, εμποδίζοντας την σηματοδότηση του παράγοντα Wnt, αναχαιτίζοντας κατ' επέκταση την οστική σύνθεση. (36,37,38,39) Η παραθυροειδής ορμόνη ασκεί αρνητική παλίνδρομη δράση στην πρωτεΐνη σκληροστίνη. (40)

Η απόπτωση των οστεοκυττάρων ενεργοποιεί την οστεοκλαστογένεση μέσω της παραγωγής του παράγοντα RANK από τα οστεοβλαστικά κύτταρα του στρώματος.

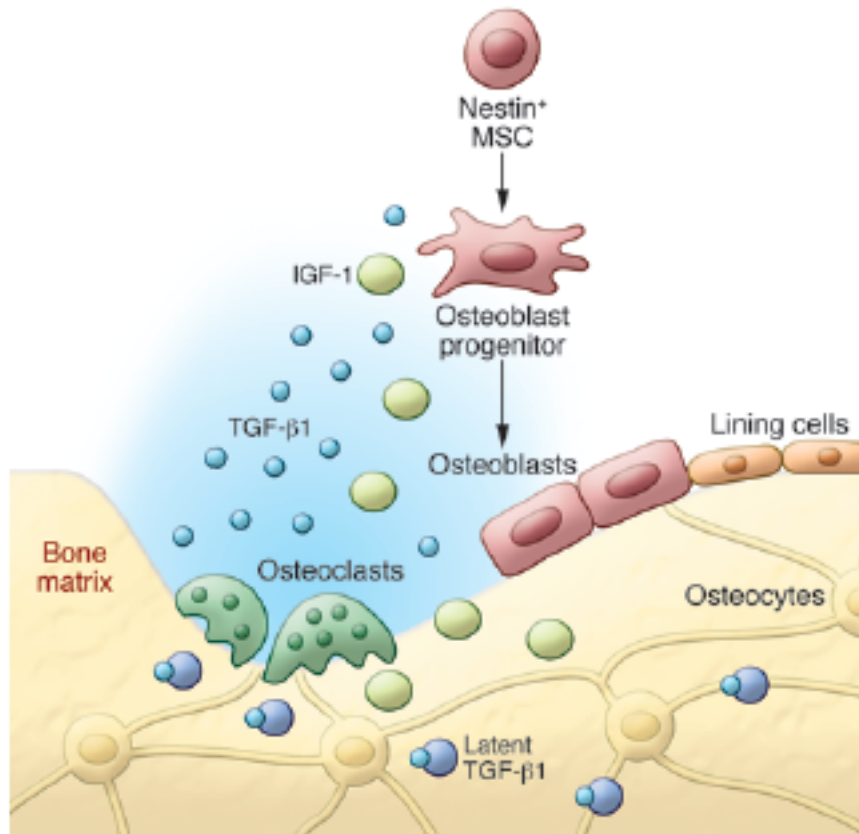
Ωστόσο τα ίδια τα οστεοκύτταρα έχουν την δυνατότητα παραγωγής παράγοντα RANK, μάλιστα σε υψηλότερα επίπεδα και από τους οστεοβλάστες (41). Η αλληλεπίδραση μεταξύ του RANKL της επιφάνειας των οστεοκυττάρων και της επιφάνειας των προγόνων των οστεοκλαστών σηματοδοτεί την οστεοκλαστογένεση. (42)

Τα οστεοκύτταρα εκκρίνουν επίσης οστεοπροτεγερίνη (OPG), η οποία ανταγωνίζεται τον παράγοντα RANK στην σύνδεση του στα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών. Η έκκριση OPG ρυθμίζεται από το μονοπάτι Wnt/ β -κατενίνης (42). Ο κυτταρικός θάνατος προκαλείται μέσω της απόπτωσης και είναι δυνατόν να προκύπτει από μείωση μηχανικών ερεθισμάτων, μείωση των οιστρογόνων, αύξηση των ελευθέρων ριζών O₂ (ROS), οδηγώντας έτσι στην ανισορροπία νεοσχηματισθέντος οστίτη ιστού και στην μείωση της οστικής πυκνότητας με την πάροδο της ηλικίας. (43,44,45,46)



Εικόνα 2. Η Βασική πολυκυτταρική μονάδα (ΒΠΜ) και οστική αναδόμηση.

Τα αποπτωτικά οστεοκύτταρα οδηγούν στην έναρξη της οστικής αναδόμησης αποστέλλοντας σήματα ενεργοποίησης των κυττάρων του στρώματος, τα οποία αλληλεπιδρούν με τα κύτταρα της οστικής επιφάνειας για να δομήσουν την μονάδα οστικής αναδόμησης (ΒΠΜ). Οι πρόγονοι των οστεοκλαστών μεταφέρονται στην ΒΠΜ μέσω τριχοειδών του μυελού, διαφοροποιούνται σε ώριμους οστεοκλάστες κάτω από την επίδραση προ και αντι-οστεοκλαστογενών κυτταροκινών (RANKL, M-CSF και OPG) και ξεκινούν την οστική αναδόμηση. Πρόγονοι των οστεοβλαστών από τον μυελό των οστών ή την κυκλοφορία διαφοροποιούνται σε ώριμα, οστεοπαραγωγά κύτταρα σε απάντηση σε παράγοντες που αποδεσμεύονται από το στρώμα του μυελού. Η διαφοροποίηση και η ωριμάση των οστεοβλαστών ρυθμίζεται από την σκληροστίνη και Dkk1.



Εικόνα 3. Η πορεία της ΒΠΜ.

Η ενεργοποίηση του παράγοντα $TGF-\beta$ επανδρώνει τα πολυδύναμα μεσεγχυματικά κύτταρα κατά τη διάρκεια της οστικής αναδόμησης. Ο $TGF-\beta 1$ παράγεται από το στρώμα του μυελού και ενεργοποιείται κατά την οστική απορρόφηση από τους οστεοκλάστες. Ο $TGF-\beta 1$ επάγει την μετανάστευση των MSCs σε σημεία οστικής αναδόμησης. Το μικροπεριβάλλον της βασικής πολυκυτταρικής μονάδας επάγει επίσης της διαφοροποίηση των πολυδύναμων μεσεγχυματικών κυττάρων.

2.3 Η ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΡΘΡΩΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΜΕΤΑΤΡΑΥΜΑΤΙΚΗ ΟΣΤΕΟΑΡΘΡΙΤΙΔΑ

Ο ενδαρθρικός τραυματισμός αποτελεί βασικό παράγοντα εγκατάστασης μετατραυματικής οστεοαρθρίτιδας. 12% των περιπτώσεων οστεοαρθρίτιδας προκαλούνται λόγω προϋπάρχοντος τραυματισμού. (47) Συχνές κακώσεις σχετιζόμενες με εξέλιξη μετατραυματικής οστεοαρθρίτιδας (post-traumatic osteoarthritis-PTOA) για την άρθρωση του γόνατος αποτελούν η τραυματική ρήξη του Προσθίου Χιαστού Συνδέσμου (ΠΧΣ) (48), η ρήξη μηνίσκου (49) καθώς και τα ενδαρθρικά κατάγματα (50). Το επακόλουθο αίμαρθρο, ο θάνατος χονδροκυττάρων και ο μωλωπισμός του υποκείμενου οστού οδηγούν στην απελευθέρωση φλεγμονωδών παραγόντων κατά την οξεία φάση του τραυματισμού. Κατά την μετατραυματική περίοδο όμως παρατηρούνται και αντιφλεγμονώδεις παράγοντες. Πιο συγκεκριμένα, στην περίπτωση ρήξης ΠΧΣ, έχουν παρατηρηθεί αυξημένα επίπεδα IL-10 στο αρθρικό υγρό, η οποία σε συνδυασμό με την IL-4 ασκούν προστατευτική δράση στην διατήρηση του ενδαρθρικού χόνδρου και των χονδροκυττάρων κατά τη διάρκεια του μετατραυματικού αίμαρθρου. (51,52)

Τα επίπεδα του ανταγωνιστή του υποδοχέα της IL-1 (IL-1 Ra) παρουσιάζουν αυξημένες τιμές στο αρθρικό υγρό της άρθρωσης του γόνατος στην οξεία φάση κατόπιν ρήξης ΠΧΣ. Κατόπιν της οξείας μετατραυματικής φάσης, τα επίπεδα κυτταροκινών μειώνονται, ωστόσο μπορούν να παρουσιάσουν αυξημένες τιμές ακόμα και έτη κατόπιν της κάκωσης. (53)

Σύμφωνα με κλινικές μελέτες της χρόνιας ρήξης ΠΧΣ, κατόπιν αναρρόφησης αρθρικού υγρού πέραν των 6 μηνών μετατραυματικά, παρουσιάστηκε διαφορά στα επίπεδα της IL-1β ανάμεσα στους ασθενείς και στους μάρτυρες, με τα επίπεδα μάλιστα να είναι ανάλογα της χόνδρινης καταστροφής. Τα επίπεδα IL-1Ra του αρθρικού υγρού ήταν επίσης υψηλότερα σε σύγκριση με των μαρτύρων. (54) Υποστηρίζεται επίσης από τη σύγχρονη βιβλιογραφία ότι οι τιμές IL-1 του αρθρικού υγρού επανέρχονται στα φυσιολογικά επίπεδα 3 μήνες κατόπιν της κάκωσης, ενώ αντίστοιχα οι τιμές των IL-6 και TNFα παρέμειναν αυξημένες έως και 6 μήνες κατόπιν της κάκωσης. (55)

Πληθώρα ζωικών πειραματικών μοντέλων έχουν χρησιμοποιηθεί για την μελέτη της φλεγμονώδους αντίδρασης της μετατραυματικής αρθρίτιδας στην άρθρωση του γόνατος. Για την εγκατάσταση ΡΤΟΑ χρησιμοποιούνται χειρουργικά, τραυματικά και χημικά μέσα.(56) Ανάμεσα στις χειρουργικές μεθόδους στα επεμβατικά πειραματικά πρωτόκολλα, συχνότερα αποτελούν η ρήξη του έσω πλαγίου συνδέσμου και η ρήξη του ΠΧΣ. (57,58)

Ομοίως, και στην περίπτωση των ζωικών μοντέλων ,τα επίπεδα IL-1, IL-6 και IL-8 ήταν αυξημένα στο αρθρικό υγρό κατά τις πρώτες 2 εβδομάδες κατόπιν της κάκωσης , αλλά επανήλθαν στα φυσιολογικά επίπεδα σε 20 εβδομάδες, αποδεικνύοντας τη λύση της οξείας φάσης της φλεγμονώδους αντίδρασης στην περίπτωση που δεν εγκατασταθεί χρόνια αστάθεια. (59) Αρθρικά μακροφάγα, ινοβλάστες και χονδροκύτταρα αποτελούν πηγές κυταροκινών και χημειοκινών.

Σύμφωνα μάλιστα με την παρούσα βιβλιογραφία, το λιπώδες σώμα στην άρθρωση του γόνατος στην περίπτωση ασθενών που πάσχουν από οστεοαρθρίτιδα παρουσιάζει

αυξημένες τιμές μακροφάγων, κοκκιοκυττάρων και λεμφοκυττάρων, καθιστώντας τον ιστό αυτό ικανό για την εγκατάσταση της φλεγμονώδους αντίδρασης του γόνατος στην περίπτωση της μετατραυματικής αρθρίτιδας. (60)

Πολλές μελέτες έχουν επικεντρωθεί στην ανάδειξη των πηγών των προφλεγμονωδών κυττάρων και των ενζυμικών μεσολαβητών κατά την σταδιακή απώλεια χόνδρου. Ο αρθρικός χόνδρος, τα τενοντώδη στοιχεία και ο χόνδρινος ιστός αποτελούν πηγές MMP-13 και ADAMTS-4 κατά τις δύο πρώτες εβδομάδες κατόπιν ρήξης του ΠΧΣ. (61)

Σύγχρονες μελέτες επίσης προτείνουν ότι κοινά ευρήματα κατά την ΡΤΟΑ αποτελούν η κυτταρική διήθηση του αρθρικού χόνδρου καθώς και η διεύρυνση αυτού, όπως έχει αποδειχθεί σε ζωικά πρωτόκολλα πειραματισμού. Η παρούσα υμενίτιδα ήταν πιο σοβαρή κατά τις πρώτες 2 εβδομάδες κατόπιν της χειρουργικής εγκατάστασης της ΡΤΟΑ. Τα παρόντα δεδομένα μάλιστα υποστηρίζουν ότι η χόνδρινη τροποποίηση εγκαθίσταται πρώιμα κατόπιν της κάκωσης, και έχει άμεση σχέση με το μέγεθος και την ενέργεια του τραυματισμού. (62,63,64)

Εκτός όμως από τους τοπικούς παράγοντες φλεγμονής, η φλεγμονώδης αντίδραση της άρθρωσης κατά την ΡΤΟΑ επηρεάζεται και από συστηματικούς παράγοντες. Ανάμεσα σε αυτούς, πρωταγωνιστικό ρόλο κατέχει η παχυσαρκία. (65) Η συστηματική συμμετοχή της παχυσαρκίας οφείλεται κατά βάση στην διαμεσολάβηση φλεγμονωδών μέσων (ελεύθερα λιπαρά οξέα, ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, κυτταροκίνες και αντιποκίνες), τα οποία παράγονται από τον λιπώδη ιστό και διαχέονται στην συστηματική κυκλοφορία. (66) Συγκεκριμένες αντιποκίνες όπως η λεπτίνη και η

αντιπονεκτίνη διαθέτουν φλεγμονώδεις και καταβολικές επιδράσεις στην άρθρωση. (67) Επιπρόσθετα, η παχυσαρκία είναι συνδεδεμένη με υψηλότερα επίπεδα IL-6 και TNFα στην συστηματική κυκλοφορία. (68) Η μείωση μάλιστα του συνολικού λίπους συνοδεύεται με χαμηλότερα επίπεδα CRP , και πιο συγκεκριμένα η απώλεια κοιλιακού λίπους οδηγεί στην μείωση των επιπέδων IL-6.(69) Δεδομένα που προκύπτουν από πειραματικές μελέτες αναδεικνύουν αλληλεπίδραση μεταξύ παχυσαρκίας, συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης και μηχανικής φόρτισης της άρθρωσης. (70)

Εκτός από την πληθώρα αναφορών σχετικά με τα επίπεδα της IL-1 κατόπιν της αρθρικής κάκωσης, η κυτταροκίνη αυτή αποτελεί κύριο διαμεσολαβητή του καταβολισμού του αρθρικού χόνδρου κατόπιν της κάκωσης και πολλά πρωτόκολλα υποστηρίζουν το ρόλο της στην ΡΤΟΑ. Σύμφωνα με αποτελέσματα πειραματικών ερευνών, αποδείχθηκε ότι η ενδαρθρική χορήγηση IL-1Ra κατόπιν ρήξης του ΠΧΣ σε ζωικά πειραματικά πρωτόκολλα , αναχάιτισε την παραγωγή οστεοφύτων στον αρθρικό χόνδρο της άρθρωσης του γόνατος (71). Επίσης, η μεταφορά IL-1Ra ενδαρθρικά μέσω αδενοϊών αποδεικνύεται να έχει ικανότητα αναστολής της προόδου της ΡΤΟΑ .(72, 73) Επίσης, knockout επίμυες για την IL-1β διέθεταν προστασία απέναντι στην αρθρική εκφύλιση σε πρωτόκολλα μηνισκεκτομής, ενώ ανταγωνιστές της IL-1 μείωσαν τα επίπεδα ΡΤΟΑ κατόπιν ενδαρθρικών καταγμάτων του κνημιαίου πλατώ σε πειραματικά πρωτόκολλα επίσης με επίμυες .(74, 75, 76)

Οι *Zhang et al* συνδύασαν αντιφλεγμονώδεις προσεγγίσεις, χρησιμοποιώντας ανασυνδυασμό με ρετροϊούς έτσι ώστε να υπερεκφραστούν τα γονίδια των IL-10 και IL-1Ra σε κονίκλους, κατόπιν ρήξης του έσω πλαγίου συνδέσμου και έσω

μηνισκεκτομής. Η έκφραση και των δύο άνωθι παραγόντων επιβράδυνε την εκφύλιση του ενδαρθρικού χόνδρου 2 εβδομάδες κατόπιν του τραυματισμού. (77)

Ωστόσο, περιορισμένες κλινικές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί. Όπως αναφέρεται από την βιβλιογραφία, ενδαρθρική χορήγηση IL-1Ra σε 160 ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα του γόνατος δεν συνοδεύτηκε με βελτίωση των λειτουργικών scores σε σύγκριση με την χορήγηση placebo. (78) Αντιθέτως, σε κλινική μελέτη με 11 ασθενείς στους οποίους χορηγήθηκε ενδαρθρικά IL-1Ra εντός 30 ημερών κατόπιν ρήξης του ΠΧΣ, σημειώθηκε βελτίωση των λειτουργικών scores σε σύγκριση με χορήγηση placebo στις 2 εβδομάδες μετατραυματικά. (79) Παρά λοιπόν τον περιορισμένο αριθμό των υπαρχόντων δεδομένων από την βιβλιογραφία, η χορήγηση των αντιφλεγμονωδών παραγόντων αυτών μπορεί να έχει λειτουργικό αποτέλεσμα κατά την οξεία φάση κατόπιν της φλεγμονώδους αντίδρασης του γόνατος που προκύπτει από μηχανισμό κάκωσης.

Επίσης, ο υποδοχέας της IL-17 εκφράζεται στον αρθρικό χόνδρο κατά τα στάδια της ΡΤΟΑ (80). Η IL-17 είναι δυνατόν να προωθήσει την παραγωγή κι άλλων αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών από τα χονδροκύτταρα και από τους ινοβλάστες in vitro. (81)

Ο κίνδυνος εξέλιξης της ΡΤΟΑ σχετίζεται άμεσα με ένα φλεγμονώδες προφίλ παρά με την μεσολάβηση μονήρους παράγοντα. Σύμφωνα με την παρούσα βιβλιογραφία, αναδεικνύεται η κρίσιμη ισορροπία ανάμεσα στους προστατευτικούς και επιβαρυντικούς παράγοντες που μεσολαβούν στην αρχική φλεγμονώδη αντίδραση στον τραυματισμό, η οποία αντανακλά τον ρόλο της απάντησης στην ιστική επούλωση.

Καθώς οι ίδιοι φλεγμονώδεις μεσολαβητές έχουν ειδικότητα ως προς τη δράση τους σε κύτταρα και σε χρονική περίοδο, η έκφραση τους σε πολλαπλές αρθρώσεις και χρονικές στιγμές χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση. Εναλλακτικά, η στοχοποίηση εξειδικευμένων μονοπατιών που οδηγούν στην χρόνια φλεγμονή, αποδεικνύεται ιδιαίτερα ελπιδοφόρα. Σύγχρονες μελέτες μάλιστα αποκάλυψαν νέα μοριακά μονοπάτια τα οποία είναι σημαντικά στην πρόκληση αλλά και στην εξέλιξη της φλεγμονώδους αντίδρασης της άρθρωσης του γόνατος κατόπιν τραυματισμού. (82)

Ο καταρράκτης του Συμπληρώματος αποτελεί απαραίτητο μηχανισμό της φλεγμονώδους αντίδρασης ως προς την καταστροφή των παθογόνων και κατεστραμμένων κυττάρων. (83) Η κατανομή του συμπληρώματος στον αρθρικό χόνδρο από ασθενείς με ρήξη μηνίσκου έχει μελετηθεί και στο παρελθόν. (84) Πρόσφατα, αναδεικνύεται η ενεργός παραγωγή συστατικών του συμπληρώματος από τα χονδροκύτταρα και τα αρθρικά μακροφάγα, και η παραγωγή αυτή αυξάνεται κατά τα στάδια της ΟΑ. (85,86).

Οι υποδοχείς αναγνώρισης Toll-like receptors (TLRs) , NOD –like receptors (NLRs) καθώς και ο υποδοχέας RAGE (receptor for advanced glycation end-products), χρησιμοποιούνται κατά την ανοσολογική απάντηση στον ιστικό τραυματισμό. (87)

Στην περίπτωση φλεγμονώδους καταστροφής των ιστών, χωρίς να μεσολαβεί λοιμώδης παράγοντας, οι υποδοχείς αυτοί ανταποκρίνονται σε μία πληθώρα μοριακών μονοπατιών σχετιζόμενων με την καταστροφή (damage-associated molecular patterns - DAMPS), ως “σήματα κινδύνου” τα οποία παράγονται κατά την καταστροφή της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Κατόπιν ενεργοποιείται η παραγωγή κυτταροκινών και χημειοκινών. Τέτοια σήματα κινδύνου αποτελούν οι HMGB1 [88], S100A8 και

S100A9 [89], tenascin C [90], τα οποία παράγονται από τα κύτταρα κατόπιν επίδρασης του οξειδωτικού και μεταβολικού στρες ή από τα προϊόντα καταστροφής του εξωκυττάριου χώρου. (91) Ο ρόλος αυτών των παραγόντων έχει μελετηθεί στην περίπτωση της ΡΤΟΑ.

Οι πρωτεΐνες S100A παράγονται από πολλαπλά είδη κυττάρων (μακροφάγα, ουδετερόφιλα κτλ.) και ανευρίσκονται στον ορό και στο αρθρικό υγρό ασθενών με οστεοαρθρίτιδα. (92,93) Τα ανθρώπινα χονδροκύτταρα παράγουν τέτοια μόρια και η έκθεση προϊόντων του χόνδρου στις πρωτεΐνες S100A8 και S100A9 ευοδώνει την παραγωγή καταβολικών γονιδίων (MMP-1, MMP-3, MMP-13, IL-6, IL-1), ενώ αναστέλλεται η έκφραση αναβολικών γονιδίων (aggrecan και Collagen type II), πάντα αλληλένδετα με τον υποδοχέα TLR-4. (94)

Επιπρόσθετα, αυξημένα επίπεδα Tenascin-C (TnC), η οποία συνδέεται με τον TLR4, παρατηρούνται στην άρθρωση κατόπιν του τραυματισμού. Η TnC προάγει την παραγωγή γλυκοζαμινογλυκάνων και την δραστηριότητα της αγγρεκανάσης στον αρθρικό χόνδρο, όπως σημειώθηκε σε καλλιέργειες χονδροκυττάρων. (95) Επίσης, η έκφραση της δραστηριότητας της αγγρεκανάσης πραγματοποιείται και σε πειραματικά μοντέλα επίμυων με ρήξη ΠΧΣ. (96)

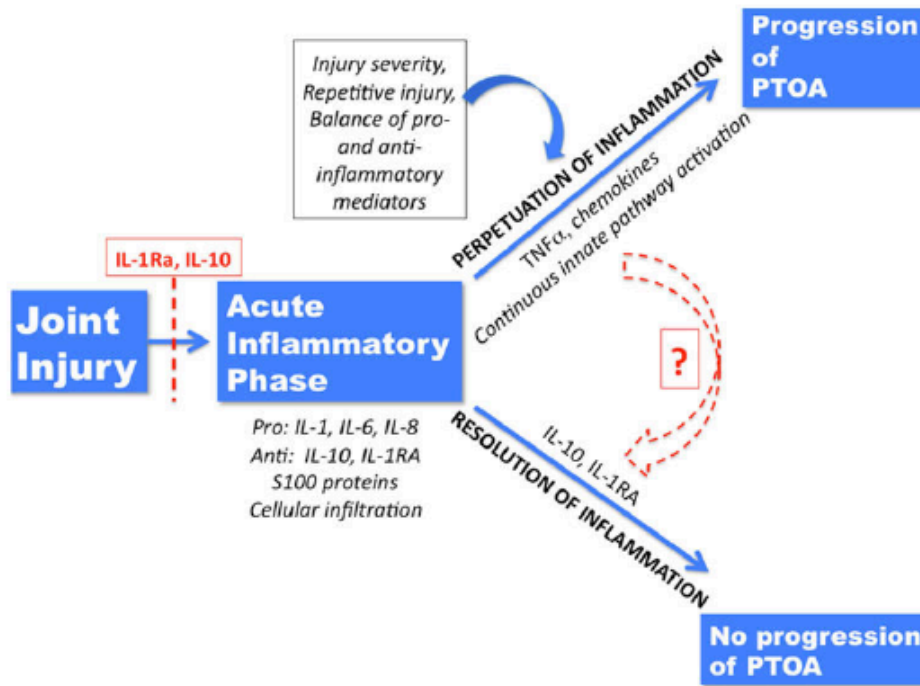
Ο προφλεγμονώδης ρόλος των μοριακών σημάτων κινδύνου διαμεσολαβείται από πληθώρα υποδοχέων αναγνώρισης. Ανάμεσα στους υποδοχείς αυτούς, οι TLRs έχουν μελετηθεί στην περίπτωση της ΡΤΟΑ. Η καταβολική απάντηση λοιπόν στην φλεγμονώδη αντίδραση διαμεσολαβείται από τους υποδοχείς TLR-2 και TLR-4. (97)

Παρά την μελέτη όλων των παραπάνω μοριακών σηματοδοτικών μονοπατιών κατά την φλεγμονώδη αντίδραση που προκύπτει στην ΡΤΟΑ, η επιστημονική κοινότητα έχει ακόμα περιορισμένη γνώση όσον αφορά την κατανόηση των μηχανισμών που ανταποκρίνονται στην φλεγμονώδη αντίδραση κατόπιν του τραυματισμού. Η φλεγμονώδης απάντηση στον τραυματισμό της άρθρωσης μπορεί να τροποποιηθεί από πολλαπλούς συστηματικούς παράγοντες όπως την γήρανση, την παχυσαρκία καθώς και το είδος της ίδιας της μηχανικής κάκωσης. Η απώλεια βάρους καθώς και η φυσική δραστηριότητα συνοδεύονται από αντιφλεγμονώδεις επιδράσεις τόσο σε κλινικές όσο και σε πειραματικές μελέτες, με αποτέλεσμα οι μη-φαρμακολογικές μέθοδοι αντιμετώπισης της ΡΤΟΑ να διατηρούν ένα σημαντικό ρόλο.

Πειραματικά μοντέλα επίσης ανέδειξαν την στοχοποίηση συγκεκριμένων παραγόντων για την αντιμετώπιση του άλγους, της υμενίτιδας και περιορισμού της λειτουργικής ικανότητας της άρθρωσης κατά τα στάδια της ΡΤΟΑ. Ωστόσο, τα αποτελέσματα από τις προς το παρόν μελέτες αναδεικνύουν την πολυπλοκότητα στην φλεγμονώδη αντίδραση κατόπιν της κάκωσης. Η πολυπλοκότητα των μηχανισμών αυτών πηγάζει από την ποικιλία πηγών και στόχων κατά την φλεγμονώδη αντίδραση στην κάκωση, καθώς και από τον ρόλο της φλεγμονής στην ιστική επούλωση. Έτσι, πολλαπλά μοντέλα τα οποία εκφράζουν διαφορετικό φαινότυπο πρέπει να μελετηθούν ώστε να καταλήξουμε σε μία κατανοητή εικόνα του ρόλου της φλεγμονής κατά την ΡΤΟΑ.

Ο ισχυρός σύνδεσμος της φλεγμονώδους απάντησης με το άλγος και τη δυσλειτουργία της άρθρωσης του γόνατος εξάρει την ανάγκη μελέτης συμπτωματικών μέτρων αντιμετώπισης της ΡΤΟΑ στους ασθενείς. Είναι πιθανό η φύση και η επίδραση μελλοντικών αντι-φλεγμονωδών παραγόντων να είναι εξαρτημένες από τον χρόνο

κατόπιν της κάκωσης (Οξεία-Χρόνια), καθώς και από το είδος κυττάρου και υποδοχέα που στοχοποιείται. Παρά λοιπόν την κατοχυρωμένη γνώση της πρώιμης παρέμβασης στην διατήρηση του χόνδρου, είναι δυνατόν να υφίσταται και χρονικό παράθυρο έγκαιρης αντιφλεγμονώδους παρέμβασης έτσι ώστε να αναχαιτισθεί η εξέλιξη της ΡΤΟΑ μέσω της τοπικής χορήγησης αντιφλεγμονωδών παραγόντων.



Εικόνα 4. Η εξέλιξη της φλεγμονώδους αντίδρασης που οδηγεί στην PTOA.

Η ενδοαρθρική κάκωση προκαλεί οξεία φλεγμονώδη απάντηση η οποία περιλαμβάνει προ- και αντιφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, μοριακά «σήματα κινδύνου», όπως η πρωτεΐνη της οικογένειας S100, την ενεργοποίηση του καταρράκτη του συμπληρώματος. Η δράση αντιφλεγμονωδών παραγόντων (όπως IL-10 και IL-1RA) κατά την οξεία μετατραυματική φάση είναι δυνατόν να προλάβουν την εξέλιξη σε PTOA. Ωστόσο, η εξέλιξη της φλεγμονώδους απάντησης διαμεσολαβείται μέσω της συνεχούς ενεργοποίησης μοριακών μονοπατιών που συνδράμουν στην εξέλιξη σε PTOA στην άρθρωση. Πολλαπλοί παράγοντες μεσολαβούν στην εξέλιξη της φλεγμονώδους αντίδρασης. Αυτοί περιλαμβάνουν την σοβαρότητα της αρχικής κάκωσης, την ισορροπία μεταξύ προ και αντιφλεγμονωδών παραγόντων κατά την οξεία και υποξεία φάση μετατραυματικά καθώς και οι συνεχόμενοι κύκλοι μικροτραυματισμών που προκαλούνται από τη λειτουργία της άρθρωσης και επανεκκινούν νέους κύκλους φλεγμονώδους αντίδρασης. Οι αντιφλεγμονώδεις προσελάσεις όπως η ενδοαρθρική χορήγηση αντιφλεγμονωδών παραγόντων, ειδικά κατά την οξεία φάση της μετατραυματικής περιόδου είναι ικανές να αναχαιτίσουν την εξέλιξη της PTOA (κόκκινη γραμμή). Η λύση της χρόνιας φλεγμονής (κόκκινο βέλος) είναι υπό μελέτη όσον αφορά την ικανότητα της στην αναχαίτιση της εξέλιξης της PTOA.

3. ΦΕΤΟΥΙΝΗ -Α

Οι πρωτεΐνες οξείας φάσης (Acute Phase Proteins) (APPs), όπως η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα στους ασθενείς σε προχωρημένο στάδιο οστεοαρθρίτιδας. (98) Σχετικά με τις πρωτεΐνες οξείας φάσης, η πρωτεΐνη Φετουΐνη-Α πρόσφατα προσέλκυσε το επιστημονικό ενδιαφέρον όσον αφορά τον πιθανό της αντιφλεγμονώδη ρόλο στη συστηματική φλεγμονώδη απάντηση. (99) Η πλήρης δομή από το σύμπλεγμα ολιγοσακχαριδίων της Φετουΐνης-Α έχει τεκμηριωθεί στην παρούσα βιβλιογραφία. Χάρη στην χρωματογραφία με ανταλλαγή ιόντων κατόπιν επεξεργασίας προνάσης, ταυτοποιήθηκε η δομή της πρωτεΐνης Φετουΐνης-Α μέσω της δομής σιαλικού οξέος, μαννόζης και N-ακετυλογλυκοζαμίνης σε αναλογία 3:3:3:5. (100)

Η Φετουΐνη-Α είναι επίσης γνωστή ως α-2-υδρο-γλυκοπρωτεΐνη (alpha-2-HS-glycoprotein -AHSG) για το ανθρώπινο ομόλογο και πρώτα είχε ταυτοποιηθεί ως κύρια εμβρυική πρωτεΐνη. Κατά την εμβρυική ανάπτυξη, πραγματοποιείται έκφραση αυτής στο ήπαρ, νεφρούς, γαστρεντερική οδό, δέρμα και εγκέφαλο. (101) Κατά την ενήλικη ζωή, η Φετουΐνη-Α παράγεται από το ήπαρ. Πρόσφατα προσέλκυσε το επιστημονικό ενδιαφέρον σχετικά με τον πιθανό αντιφλεγμονώδη της ρόλο στο τραύμα και στη συστηματική λοίμωξη, κατηγοριοποιώντας της ως αρνητική πρωτεΐνη οξείας φάσης λόγω της ρύθμισης των κυτταροκινών TNF, IL-1, IL-6 και ιντερφερόνης (IFN)- γ , αλλά και ως θετική πρωτεΐνη οξείας φάσης λόγω της μεσολάβησης της HMGB1. (High-mobility group box protein 1). (102)

Η HMGB1 αποτελεί πυρηνική πρωτεΐνη συνδεδεμένη με το DNA , η οποία απελευθερώνεται από την παθητική διάχυση των νεκρωτικών κυττάρων και των ενεργοποιημένων μακροφάγων , τα οποία εμφανίζονται στον εξωκυττάριο χώρο κατά τη διάρκεια της εξέλιξης της υμενίτιδας. (103)

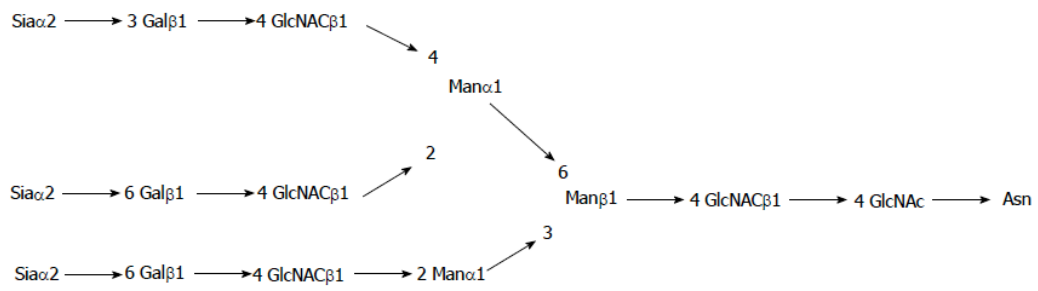
Η HMGB1 συνδέεται με τους υποδοχείς TLR2, TLR4, και RAGE [104,105], οδηγώντας στην συνέχιση της φλεγμονώδους αντίδρασης μέσω της παραγωγής προφλεγμονωδών κυτταροκινών όπως TNF- α , IL-1 β , και IL-6. (106,107)

Πρόσφατες μελέτες αναφέρουν χαμηλότερα επίπεδα Φετουίνης-A στον ορό ασθενών που πάσχουν από οστεοαρθρίτιδα, συνοδευόμενα μάλιστα από χαμηλότερα επίπεδα BMPs (108). Επίσης, σύμφωνα με την σύγχρονη βιβλιογραφία τα επίπεδα της Φετουίνης-A στον ορό σχετίζονται κατά αντίστροφο τρόπο με τα αντίστοιχα επίπεδα CRP.(109) Επιπρόσθετα, έχει αναφερθεί ότι η Φετουίνη-A συσχετίζεται με το μεταβολικό σύνδρομο , την παχυσαρκία και την δυσλιπιδαιμία, ακόμη και με την ρύθμιση της αρτηριακής υπέρτασης (110 ,111, 112). Η πρωτεΐνη Φετουίνη-A σχετίζεται με τον Σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 , και μάλιστα αρκετοί συγγραφείς την καταδεικνύουν ως ανεξάρτητο παράγοντα για την εξέλιξη της νόσου, καθώς αυξημένα επίπεδα Φετουίνης-A στον ορό αυξάνουν τον κίνδυνο εκδήλωσης σακχαρώδους διαβήτη. (113,114). Η Φετουίνη-A θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως μια πολυπαραγοντική πρωτεΐνη καθώς έχει μελετηθεί ο ρόλος της και στην καρδιαγγειακή νόσο (109,115,116,117)

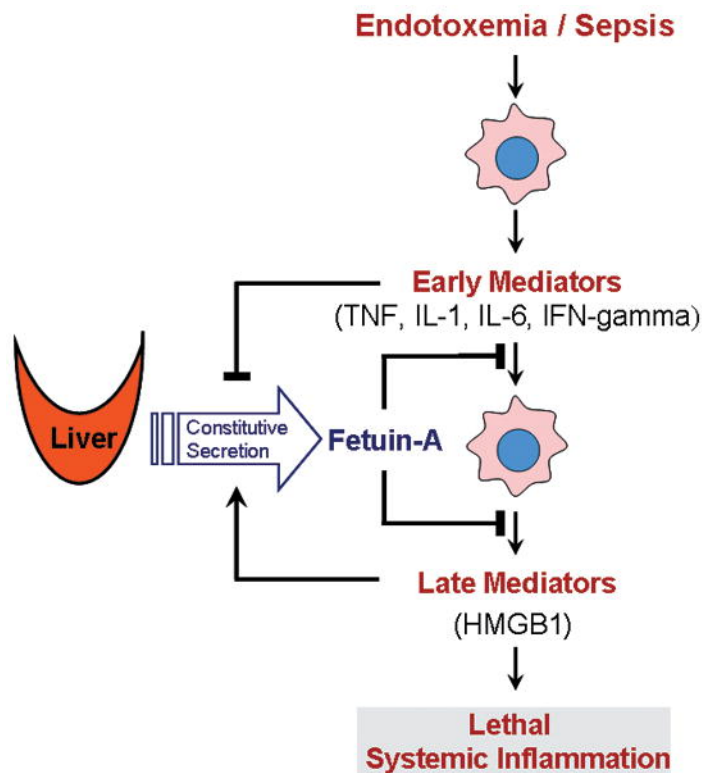
Η Φετουίνη-A ανταγωνίζεται τους TGF-b/BMP, καθώς αναφέρεται στη βιβλιογραφία πως ανταγωνίζεται την οστεογενετική δράση του παράγοντα TGF-b in vitro. Πιο

συγκεκριμένα, τα αμινοξέα 18-19 της πρωτεΐνης της Φετουίνης είναι όμοια με τα αντίστοιχα του υποδοχέα II του TGF-b (TBR II), και αποτελούν το ανταγωνιστικό σημείο για τις πρωτεΐνες της οικογένειας BMP. Το σημείο αυτό απευθύνεται επίσης και στον υποδοχέα του TGF-b, TRH1, με αποτέλεσμα να μην συνδέεται με τον παράγοντα TBR II. (118) Έτσι, φλεγμονώδεις νόσοι, όπως η φλεγμονώδης νόσος της άρθρωσης του γόνατος με την μορφή της οστεοαρθρίτιδας, οι οποίες χαρακτηρίζονται από χαμηλά επίπεδα Φετουίνης-A στον ορό, οδηγούν σε μη ρύθμιση του παράγοντα TGF-b και των BMPs, προκαλώντας περαιτέρω ίνωση, οστεόφυτα και έκτοπο σχηματισμό οστίτη ιστού. (119) Κατά την πρόοδο της οστεοαρθρίτιδας, πραγματοποιείται αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση της παραγωγής Φετουίνης-A από το ήπαρ, η οποία οδηγεί σε χαμηλότερα επίπεδα αυτής στον ορό. (108) Επίσης, τα αυξημένα επίπεδα MMPs τα οποία παράγονται από τη φλεγμαίνουσα άρθρωση, ειδικά οι MMP-1,3, 9, είναι ικανές να προκαλούν τα μειωμένα επίπεδα Φετουίνης στον ορό στην περίπτωση της φλεγμονώδους αρθρίτιδας. Ωστόσο, σύγχρονες μελέτες αναφέρουν ότι η χορήγηση MMPs είτε τοπικά είτε συστηματικά είναι δυνατόν να αναχαιτίσει την παραγωγή Φετουίνης-A. (120)

Ωστόσο, το σημείο κλειδί στην αναχαίτιση της εξέλιξης της οστεοαρθρίτιδας αποτελούν οι προληπτικές και θεραπευτικές παρεμβάσεις οι οποίες πρέπει να πραγματοποιούνται κατά τα πρώτα στάδια της νόσου, όπου τα χονδροκύτταρα είναι ικανά να ανταποκριθούν στους αναβολικούς παράγοντες της φλεγμονώδους αντίδρασης. (121) Σε αυτό το σημείο, τα επίπεδα της BMP-7 θα μπορούσαν να είναι προγνωστικά σχετικά με το θεραπευτικό παράθυρο της παρέμβασης.



Εικόνα 5: Μοριακή δομή της πρωτεΐνης Φετουίνης-Α



Εικόνα 6. Ο μηχανισμός δράσης της Φετουίνης-Α κατά την φλεγμονώδη αντίδραση

Κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος (όπως τα μακροφάγα) κατά την φλεγμονώδη αντίδραση παράγουν προφλεγμονώδεις παράγοντες (π.χ TNF και IFN-γ) και όψιμους φλεγμονώδεις διαμεσολαβητές (π.χ HMGB1). Οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες συμμετέχουν στην αρνητική παλίνδρομη έκφραση της Φετουίνης-Α από το ήπαρ, οδηγώντας στην ευόδωση της φλεγμονώδους αντίδρασης καθώς οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες αθροίζονται. Ωστόσο, η HMGB1 προωθεί την έκφραση της Φετουίνης-Α από το ήπαρ, ανανεώνοντας έτσι τα κυκλοφορούντα επίπεδα Φετουίνης-Α κατά τα όψιμα στάδια της φλεγμονώδους αντίδρασης. Η πρωτεΐνη Φετουίνη-Α δρα ως αρνητικός μεσολαβητής στην φλεγμονώδη αντίδραση ασκώντας αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση στην παραγωγή HMGB1 από τα μακροφάγα.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.ΣΚΟΠΟΣ

Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η εξέλιξη της φλεγμονώδους αρθρικής αντίδρασης με τη μορφή της μετατραυματικής αρθρίτιδας μπορούν να αναχαιτιστούν με την έγκαιρη τοπική χορήγηση αντιφλεγμονωδών παραγόντων, όπως σε πειραματικές μελέτες με επίμυες και με άλλα ζωικά πρότυπα. (122-124)

Εκμεταλλευόμενοι τα δεδομένα αυτά, χρησιμοποιήσαμε τους επίμυες ως το κατάλληλο ζωικό πρότυπο. Απ'όσο γνωρίζουμε όμως δεν έχει μελετηθεί η ενδοαρθρική χορήγηση της αντιφλεγμονώδους πρωτεΐνης Φετουίνης-A στην άρθρωση του γόνατος μετά την εγκατάσταση φλεγμονώδους αντίδρασης της άρθρωσης και συγκεκριμένα δευτεροπαθούς μετατραυματικής αρθρίτιδας. Ο σκοπός αυτής της μελέτης είναι να διερευνηθεί η επίδραση της Φετουίνης-A στην εξέλιξη της φλεγμονώδους αντίδρασης της άρθρωσης του γόνατος με την μορφή μετατραυματικής δευτεροπαθούς αρθρίτιδας, καθώς και η επίδραση της ενδοαρθρικής χορήγησης στα συστηματικά επίπεδα φλεγμονωδών δεικτών, όπως οι IL-2,4, 7, BMP2, 4, 7, CRP και Φετουίνης-A σε επίμυες Sprague Dowley.

2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ

2.1 Ζωικό πρότυπο και οργάνωση πειράματος

Για την εκπόνηση του πειραματικού μέρους της διατριβής αποκτήθηκαν 30 αρσενικοί επίμυες Sprague Dowley ηλικίας 6 μηνών που τοποθετήθηκαν ανά 3 επίμυες σε ατσάλινα κλουβιά, όπου παρέμειναν καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Οι επίμυες αποκτήθηκαν από πιστοποιημένο εργαστήριο του νομού Αττικής που εκτρέφει επίμυες για πειραματικούς σκοπούς. Οι επίμυες διατηρούνταν σε κλιματιζόμενο περιβάλλον (19 ± 2 °C με 60 ± 5 % υγρασία) με 12ωρη εναλλαγή φωτός-σκότους (5:30 π.μ. έως 5:30 μ.μ.), με 15 ανακυκλώσεις αέρα/ώρα και είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε φαγητό και νερό. Για τους σκοπούς του πειράματος η κατανάλωση νερού του κάθε ζώου μετριοταν ξεχωριστά και καθημερινά. Ένας κτηνίατρος εξέταζε τα ζώα κλινικά κατά τη διάρκεια ολόκληρης της πειραματικής περιόδου και λαμβάνονταν όλα τα απαραίτητα μέτρα για την αποφυγή πόνου και ταλαιπωρίας σε κάθε στάδιο του πειράματος. Οι παρεμβάσεις που θα μπορούσαν να προκαλέσουν δυσφορία ή στρες στα ζώα (όπως οι αιμοληψίες), καθώς και η χειρουργική παρέμβαση στην άρθρωση του γόνατος, πραγματοποιήθηκαν υπό ήπια νάρκωση με ενδομυϊκή χορήγηση κεταμίνης-ξυλαζίνης. Η μεταχείριση των επίμυων ήταν σύμφωνη με τις Ευρωπαϊκές Κοινοτικές Οδηγίες της 22ας Σεπτεμβρίου του 2010 (276/33/20.10.2010) και το πρωτόκολλο εγκρίθηκε από τη Γενική Διεύθυνση της Κτηνιατρικής του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων (Αρ. Έγκρισης: 908/23.02.2016). Τα πειραματόζωα παρέμειναν για εγκλιματισμό στο Εργαστήριο για 2 εβδομάδες προ της ενάρξεως του πειράματος και στη συνέχεια χωρίστηκαν μετά από τυχαία επιλογή σε 2 πειραματικές ομάδες:

Την ομάδα Ελέγχου ($n=15$) όπου η εγκατάσταση μετατραυματικής αρθρίτιδας του γόνατος πραγματοποιήθηκε μέσω της χειρουργικής ρήξης του ΠΧΣ και του έσω

πλαγίου συνδέσμου του δεξιού γόνατος. Και την ομάδα Φετουίνης (n=15), όπου πραγματοποιήθηκε η ίδια χειρουργική παρέμβαση στην δεξιά άρθρωση του γόνατος, αλλά πραγματοποιήθηκε και η ενδαρθρική χορήγηση 1 ml 3% w/v bovine fetuin άμεσα μετεγχειρητικά.

Όσον αφορά την χειρουργική προσπέλαση, στην άρθρωση του γόνατος των επίμυων, ο έσω μηνισκοκνημιαίος σύνδεσμος εγκαθιστά τον έσω μηνίσκο στο έσω κνημιαίο πλατώ, ενώ ο ΠΧΣ περιορίζει την πρόσθια μετατόπιση του οστού της κνήμης σε σχέση με το μηριαίο οστό, όπως και στην ανθρώπινη άρθρωση του γόνατος. Η χειρουργική προσπέλαση για προσπέλαση άμφω του ΠΧΣ και του έσω πλαγίου συνδέσμου βασίστηκε στο χειρουργικό πρωτόκολλο των *Glasson et al.* (125)

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε μέση τομή του δέρματος του δεξιού γόνατος μήκους 2 cm, και έσω παραεπιγονατιδική προσπέλαση. Επιτυγχάνεται άμεση πρόσβαση στην άρθρωση μέσω επιμήκους τομής του επιγονατιδικού συνδέσμου με νυστέρι # 11 και στη συνέχεια για διάνοιξη των ιστών χρησιμοποιήθηκε ψαλίδι μικροχειρουργικής. Κατόπιν γίνεται αμβλύς διαχωρισμός του λιπώδους σώματος της άρθρωσης του γόνατος άνωθεν των κνημιαίων κονδύλων, και πραγματοποιείται προσπέλαση της διακονδυλιαίας περιοχής, έτσι ώστε να αποκτηθεί ορατότητα στον ΠΧΣ και στον έσω πλάγιο σύνδεσμο. Κατά τον αμβλύ διαχωρισμό του λιπώδους σώματος παρατηρήθηκε μέτρια αιμορραγία η οποία αντιμετωπίστηκε με επιπωματισμό με γάζα.

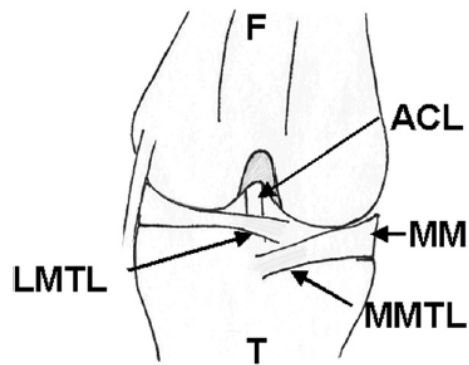
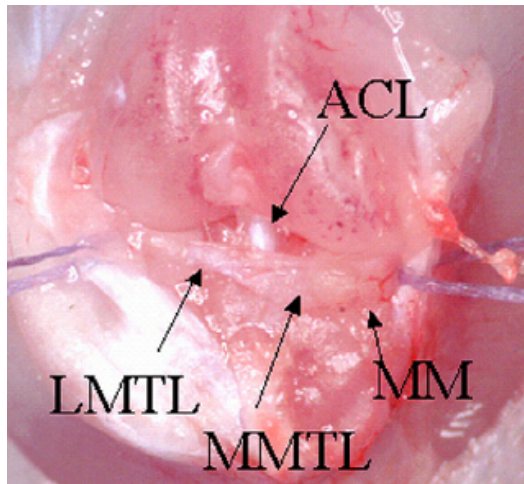
Ο ΠΧΣ στην άρθρωση των επίμυων εκφύεται από το οπισθο-πλάγιο τμήμα της διακονδυλιαίας περιοχής του μηριαίου οστού και καταφύεται στο κέντρο του κνημιαίου πλατώ. Ο ΠΧΣ ευρίσκεται πλάγια του Οπίσθιου Χιαστού Συνδέσμου

(ΟΧΣ) , ο οποίος δεν ήταν άμεσα ορατός μέσω της προσπέλασής μας. Για την ρήξη του ΠΧΣ, πραγματοποιήθηκε μετακίνηση προς στα έξω της επιγονατίδας έτσι ώστε να επιτευχθεί μεγαλύτερη ορατότητα της άρθρωσης. Κατά την διάρκεια της εξάρθρωσης της επιγονατίδας, η άρθρωση διατηρήθηκε ενυδατωμένη μέσω επιποματισμού με γάζα εμποτισμένη με 0,9% n/s. Η ρήξη του ΠΧΣ πραγματοποιήθηκε υπό άμεση όραση, παραμερίζοντας τον ΟΧΣ, ενώ η τέλεια ρήξη επιτεύχθηκε με την εφαρμογή πρόσθιου συρταριού στην άρθρωση.

Ο έσω πλάγιος σύνδεσμος εγκαθιστά τον έσω μηνίσκο στο έσω κνημιαίο πλατώ. Το λιπώδες σώμα γύρω από το πρόσθιο κέρασ του έσω μηνίσκου διατάμει μέσω λαβίδας Jewelers. Ο έσω πλάγιος σύνδεσμος ταυτοποιήθηκε μέσω της πορείας του από το πρόσθιο κέρασ του έσω μηνίσκου πλάγιως στο πρόσθιο κνημιαίο πλατώ. Η τομή του έσω πλάγιου συνδέσμου πραγματοποιήθηκε μέσω νυστεριού μεγέθους # 11 , με προσανατολισμό πλάγια και προς τα έξω, δίνοντας και αστάθεια στον έσω μηνίσκο. Η κίνηση αυτή προσφέρει επιφάνεια μεγαλύτερου μεγέθους όπου η μηχανική φόρτιση είναι μεγαλύτερη. Κατόπιν της μετατόπισης του έσω μηνίσκου , δημιουργείται αυξημένο μηχανικό στρες στην περιοχή με την φόρτιση του σκέλους. Σε αυτό το σημείο πρέπει να λάβουμε υπόψιν ότι κατά τη φόρτιση του σκέλους στου επίμυες, η άρθρωση παραμένει σε κάμψη, και έτσι η παρέμβαση αυτή αυξάνει το μηχανικό στρες στο έσω τμήμα του κνημιαίου πλατώ. Στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε συρραφή των ιστών κατά στρώματα με Vicryl 2-0. Η συρραφή του δέρματος πραγματοποιήθηκε με διακοπτόμενη συρραφή με Nylon 3-0. Οι επίμυες ανέκτησαν πλήρη κινητικότητα 2 ώρες μετεγχειρητικά. (125)

Το παρόν πειραματικό πρωτόκολλο σεβάστηκε την πρακτική των 3Rs (Replacement, Refinement, Reduction). Επίσης, η κάθε ομάδα χωρίστηκε σε δύο επιμέρους υπό-ομάδες, με βάση την χρονική στιγμή του πειραματικού πρωτοκόλλου (5 εβδομάδες και 8 εβδομάδες μετεγχειρητικά). Στην ομάδα μαρτύρων πραγματοποιήθηκε το ελάχιστο των παρεμβάσεων. Ωστόσο, τα αποτελέσματα του πειραματικού πρωτοκόλλου από την ομάδα Φετουίνης αναμένονται με περισσότερο επιστημονικό ενδιαφέρον, με βάση την παρούσα πρόοδο στην παρούσα βιβλιογραφία. Η συνολική διάρκεια του πειραματικού πρωτοκόλλου ορίστηκε στις 8 εβδομάδες, σύμφωνα με την παρούσα βιβλιογραφία.

(125) Η Φετουίνη-A χορηγήθηκε ενδαρθρικά στην δεξιά κατά γόνυ άρθρωση στην μορφή bovine fetuin. Αποφασίστηκε η ενδαρθρική χορήγηση άμεσα μετεγχειρητικά κατά την διάρκεια της νάρκωσης, έτσι ώστε να ελαχιστοποιηθεί το στρες που θα υφίστατο οι επίμυες.



Εικόνα 7. Διάγραμμα της ανατομίας της άρθρωσης του γόνατος των επίμων.

F: μηριαίο οστό, T:κνήμη, MM: έσω μηνίσκος, ACL:πρόσθιος χιαστός σύνδεσμος MMTL: έσω πλάγιος σύνδεσμος LMTL: έξω πλάγιος σύνδεσμος. Η ρήξη του έσω πλαγίου συνδέσμου στο συγκεκριμένο χειρουργικό πρωτόκολλο προκαλεί αστάθεια στον έσω μηνίσκο, ενώ ταυτόχρονα πραγματοποιείται και χειρουργική ρήξη του προσθίου χιαστού συνδέσμου.



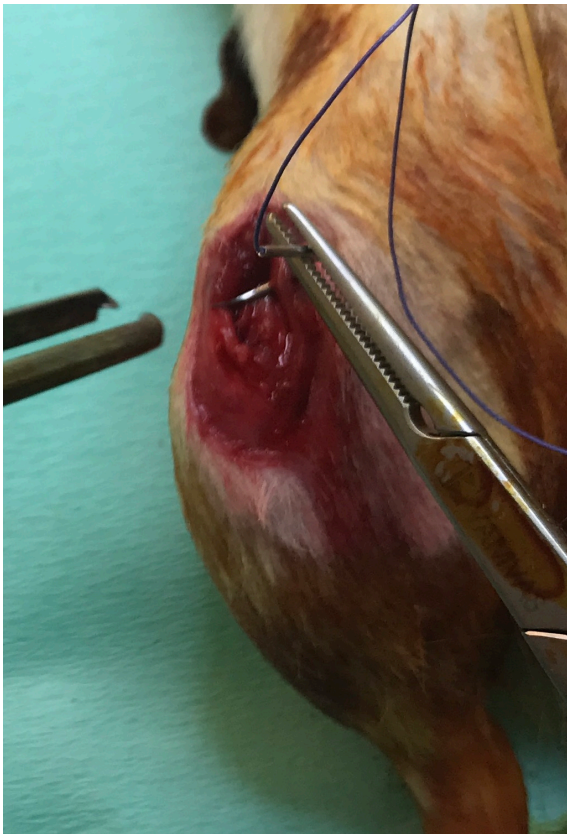
A.



B.



Γ.



Δ.



Ε.

Εικόνα 9. Διαδικασία χειρουργικού πρωτοκόλλου

A. Αντισηψία

B. Μέση τομή και έσω παραεπιγονατιδική προσπέλαση για πρόσβαση στην άρθρωση του γόνατος.

Γ. Πρόσβαση στον ΠΧΣ και χειρουργική ρήξη αυτού και του Έσω πλαγίου Συνδέσμου

Δ. Σύγκλειση τραύματος κατά στρώματα

Ε. Ενδαρθρική χορήγηση 1μl διαλύματος 3%w/v bovine fetuin

Οι αιμοληψίες πραγματοποιήθηκαν σε τρεις χρονικές περιόδους: προεγχειρητικά (T0), 5 εβδομάδες μετεγχειρητικά (T1) και 8 εβδομάδες μετεγχειρητικά (T2) , και στις δύο ομάδες ζώων. Η ευθανασία των επίμων πραγματοποιήθηκε μέσω χορήγησης μάσκας αιθέρα, κατόπιν αναισθητοποίησης τους με ενδομυϊκή χορήγηση κεταμίνης-ξυλαζίνης, αντίστοιχα στις 5 και 8 εβδομάδες μετεγχειρητικά και σύμφωνα με τις αντίστοιχες υποομάδες. Κατόπιν της ευθανασίας, πραγματοποιήθηκε αφαίρεση των αρθρώσεων του γόνατος άμφω, καθώς και η αριστερή κατά γόνυ άρθρωση χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας. Τα οστά του μηριαίου-κνήμης-περόνης και επιγονατίδας με τους παρόντες συνδέσμους αφαιρέθηκαν.

Πίνακας 1. Οργάνωση Ομάδων

Ομάδες	Αριθμός Πειραματόζων	Είδος Παρέμβασης
Ελέγχου	15	Ρήξη ΠΧΣ+ Έσω πλαγίου Συνδέσμου ΔΕ γόνατος
Φετουίνης	15	Ρήξη ΠΧΣ+ Έσω πλαγίου Συνδέσμου ΔΕ γόνατος + ενδαρθρική inj 1 μλ 3% bovine fetuin

Υπο-ομάδες Ομάδας Ελέγχου	Αριθμός Πειραματοζών
T1(ευθανασία στις 5 εβδομάδες MTX)	7
T2 (ευθανασία στις 8 εβδομάδες MTX)	8

Υπο-ομάδες Ομάδας Φετουίνης	Αριθμός Πειραματοζών
T1 (ευθανασία στις 5 εβδομάδες MTX)	6
T2 (ευθανασία στις 8 εβδομάδες MTX)	9

2.2. Ανάλυση αίματος

Πραγματοποιήθηκε λήψη περιφερικού αίματος των επίμυων για τον προσδιορισμό των επιπέδων IL-2, IL-7, BMP-7, BMP-4, BMP-2, Φετουίνης-A και CRP. Παρακάτω θα αναλύσουμε τις ιδιότητες των άνωθι κυτταροκινών.

Η παραγωγή IL-2 έχει μελετηθεί στους οστεοαρθρικούς πληθυσμούς, και χαρακτηρίζεται ως αυξημένη στα αρχικά στάδια της νόσου ενώ κατά την εξέλιξη αυτής μειώνεται σε επίπεδα. (126)

Η IL-7 αποτελεί κυτταροκίνη η οποία συμμετέχει στη ρύθμιση της ανάπτυξης των B κυττάρων και στην επιβίωση αυτών. Κατά την διάρκεια της οστεοαρθρίτιδας, η IL-7 είναι ικανή να διαδραματίζει καίριο ρόλο καθώς τα επίπεδα της στο αρθρικό υγρό και στον ορό ασθενών που πάσχουν από οστεοαρθρίτιδα έχει ανιχνευθεί σε υψηλότερα σε συνδυασμό με την παραγωγή της CRP. Η IL-7 παράγεται από τον αρθρικό χόνδρο από μακροφάγα, ινοβλάστες και ενδοθηλιακά κύτταρα τα οποία εκφράζουν σηματοδοτικά μόρια και είναι δυνατόν να οδηγούν στην επιβίωση των B κυττάρων από την απόπτωση. Από πειραματικές μελέτες, οι επίμυες οι οποίοι έλαβαν IL-7 κατά την διάρκεια οστεοαρθρίτιδας επαγόμενης με κολλαγόνο τύπου II (CIA), παρουσίασαν μια διεύρυνση της διαθεσιμότητας B και T κυττάρων αλλά και πιο εκτεταμένη ενδαρθρική καταστροφή. (127)

Η BMP-7 διαδραματίζει πρωταγωνιστικό ρόλο στην διατήρηση της ομοιόστασης του αρθρικού χόνδρου. Η BMP-7 δρα στο επιφανειακό στρώμα του αρθρικού χόνδρου σε συνεργασία με τους υποδοχείς BMP (BMPR-IA, IB, και II). Υπάρχουν πολλοί κρίσιμοι ρόλοι της BMP-7 στην φλεγμονώδη αντίδραση της άρθρωσης, περιλαμβάνοντας την διατήρηση και την επιδιόρθωση των αρθρικών επιφανειών μέσω

της μεσολάβησής της στην έκφραση του φαινοτύπου των χονδροκυττάρων και των διαφοροποιημένων μεσεγχυματικών κυττάρων, αυξάνοντας έτσι την σύνθεση του αναστολέα της ιστικής μεταλαιοπρωτεϊνάσης (tissue inhibitor of metalloproteinase - TIMP), αλλά επίσης και της έκφρασης του IGF1 και των κυτταροσκελετικών πρωτεϊνών των χονδροκυττάρων. (128)

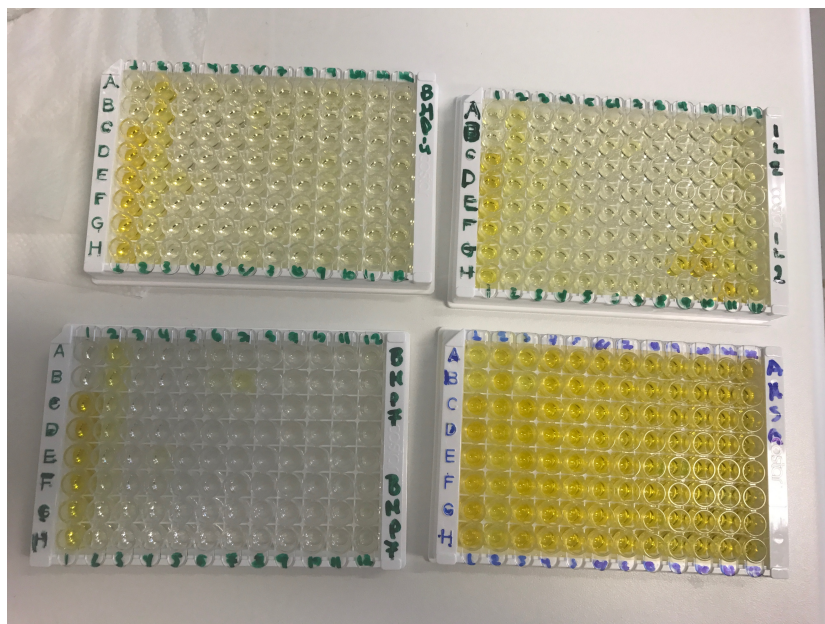
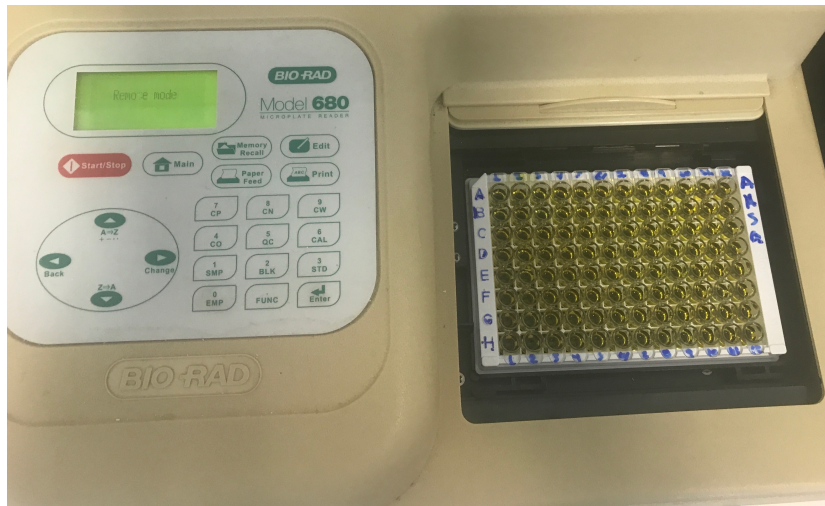
Όσον αφορά την BMP- 2, η σύγχρονη βιβλιογραφία αναφέρει ότι τα επίπεδά της είναι αυξημένα στην OA, ανάλογα με την σοβαρότητα της νόσου. Σε αρθρικό χόνδρο που έχει επηρεαστεί σε σημαντικό βαθμό από οστεοαρθρίτιδα, η τοπική παραγωγή BMP-2 επεκτείνεται στην εν τω βάθει ζώνη. Επίσης, προτείνεται επίσης από την σύγχρονη βιβλιογραφία ότι τα χονδροκύτταρα βασίζονται στο remodeling του αρθρικού χόνδρου ή στις επιδιορθωτικές ικανότητες της BMP-2 για να διατηρηθεί ο αναβολικός μεταβολισμός κατά την πρόοδο της OA, αυξάνοντας έτσι την πιθανότητα η BMP-2 να διαδραματίζει πρωταγωνιστικό ρόλο στην εξέλιξη της OA. (129)

Η BMP-4 επάγει την παραγωγή χονδροκυττάρων στον εξωκυττάριο διάμεσο χώρο και υποστηρίζει την επούλωση των οστικών καταγμάτων. Η υπερέκφραση της BMP-4 οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή αρθρικού χόνδρου και επάγει την διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων, χωρίς όμως να διαταράσσει την αρθρική ομοιόσταση. Κατόπιν μελέτης του αρθρικού υγρού ασθενών που έπασχαν από οστεοαρθρίτιδα, η BMP-4 βρέθηκε σε χαμηλότερα επίπεδα σε σύγκριση με εκείνη ασθενών που έπασχαν από Ρευματοειδή Αρθρίτιδα. (130)

Τα δείγματα διατηρήθηκαν στους -80°C μέχρι να πραγματοποιηθεί η ανάλυση.

2.2.1 ELISA

Τα επίπεδα των ιντερλευκινών, BMPs , Φετουίνης-A και CRP στον ορό μελετήθηκαν με την χρήση ELISA μέσω ειδικών kit από εξειδικευμένο πάροχο . Οι τιμές της οπτικής πυκνότητας των ανωτέρων παραγόντων εξακριβώθηκαν μέσω ειδικού micro-plate αναλυτή (BIORAD 680), στα 430 nm. Κάτωθι αναγράφονται τα επιμέρους kit που χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή των τιμών των ιντερλευκινών, BMPs , Φετουίνης-A και CRP. (Rat CRP ELISA Kit, Wuhan Fine Biotech Co,Ltd, Catalog No ER0016, www.fn-test.com, Rat IL-7 ELISA Kit, Wuhan Fine Biotech Co,Ltd, Catalog No ER0146, www.fn-test.com, Rat Ahsg ELISA Kit, Wuhan Fine Biotech Co,Ltd, Catalog No ER0246, www.fn-test.com, Rat BMP-4 ELISA Kit, Wuhan Fine Biotech Co,Ltd, Catalog No ER0080, www.fn-test.com, Rat IL-2 ELISA Kit, Wuhan Fine Biotech Co,Ltd, Catalog No ER0039, Rat BMP-7 ELISA Kit, Wuhan Fine Biotech Co,Ltd, Catalog No ER0772Rat BMP-2 ELISA Kit, Wuhan Fine Biotech Co,Ltd, Catalog No ER0010, www.fn-test.com).



Εικόνα 10. Μέσα πραγματοποίησης της μεθόδου Elisa

Ο μικροαναλυτής BIORAD 680 χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση των επιπέδων ILs, BMPs, Φετουίνης-A και CRP στο παρόν πειραματικό πρωτόκολλο.

2.3. Ανάλυση ιστών

2.3.1. Παθολογοανατομική εξέταση

Η ιστολογική εκτίμηση των αφαιρεθέντων αρθρώσεων του γόνατος πραγματοποιήθηκε με βάση την μελέτη των *Pritzker et al.* (131). Πιο συγκεκριμένα, η αφαιρεθείσα άρθρωση υπέστη πλήρη καθαρισμό από τα συνοδά μαλακά μόρια και πραγματοποιήθηκαν επιμήκεις τομές. Η απομόνωση της άρθρωσης πραγματοποιήθηκε άμεσα κατόπιν της ευθανασίας των ζώων, στις 5 και 8 εβδομάδες μετεγχειρητικά. Τα απομονωθέντα τμήματα περιλάμβαναν το μηριαίο οστό, το οστό της κνήμης, την επιγονατίδα και την περόνη. Το σύνολο του αρθρικού σχηματισμού του γόνατος συντηρήθηκε με εμποτισμένες γάζες με 0,9% n/s στους -80°C , σύμφωνα με την τεχνική συντήρησης ιστών fresh frozen. Προ της μονιμοποίησης με παραφίνη, τα δείγματα παρέμειναν σε θερμοκρασία δωματίου (18°C), εμποτισμένα σε 10% διάλυμα φορμαλδεΐδης για 24 ώρες. Κατόπιν τα δείγματα εμβυθίστηκαν σε διάλυμα EDTA 10% για αφαλάτωση για επιπλέον 24 ώρες. Οι τομές παραφίνης είχαν πάχος 3 μm και κατόπιν υπεβλήθησαν σε χρώση με αιματοξυλίνη και ηωσίνη για περαιτέρω μικροσκοπική μελέτη. Ωστόσο, υπάρχουν κι άλλες χρώσεις για την παρατήρηση της εκφύλισης του αρθρικού χόνδρου, όπως οι Safranin O/Fast green, Masson's Trichrome, Methylene blue, Picro-sirius Red, Toluidine blue ή ανοσοιστοχημεία, οι οποίες όμως δεν συμπεριλήφθηκαν στην συγκεκριμένη μελέτη. Η ιστολογική μελέτη των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε από ειδικό παθολογοανατόμο ο οποίος δεν ήταν ενήμερος για την αντιστοιχία στις ομάδες τους πειράματος.

2.3.2. Ανάλυση εικόνας

Η μελέτη της ιστολογικής εικόνας των αρθρικών επιφανειών πραγματοποιήθηκε μέσω ειδικών μέσων ανάλυσης εικόνας. Οι ιστολογικές εικόνες ψηφιοποιήθηκαν μέσω μικροσκοπίου (Olympus BX61) με προσαρμοσμένη ψηφιακή κάμερα (Olympus DP70). Στη συνέχεια, οι ψηφιακές εικόνες μεταφορτώθηκαν σε ηλεκτρονικό υπολογιστή με το κατάλληλο λογισμικό (Olympus Micro/DP-BSW) και η φλεγμονώδης διαδικασία της άρθρωσης μετρήθηκε και εκτιμήθηκε σύμφωνα με το σύστημα ταξινόμησης OARSI (Osteoarthritis Cartilage Histopathology Assessment System) και το τροποποιημένο σύστημα βαθμονόμησης κατά Mankin.

Σχτικά με το σύστημα ταξινόμησης της οστεοαρθρίτιδας OARSI, όλοι οι βαθμοί και τα στάδια αυτού προκύπτουν από την ιστική αντίδραση της άρθρωσης και τα μικροσκοπικά χαρακτηριστικά οστεοαρθρίτιδας. Το σύστημα αυτό χρησιμοποιεί ένα τμήμα της άρθρωσης και συγκρίνει τα μικροσκοπικά χαρακτηριστικά της οστεοαρθριτικής εκφύλισης. Μία αρθρική επιφάνεια χρησιμοποιείται για την παραγωγή του αντίστοιχου βαθμού οστεοαρθρίτιδας. Η ιστολογική εκτίμηση πραγματοποιείται σε χαμηλούς βαθμούς μικροσκόπησης. Η ουσία του παραπάνω συστήματος ταξινόμησης βασίζεται στο γεγονός ότι ανεξαρτήτως των βιολογικών μηχανισμών, οι πρώιμες οστεοαρθριτικές αλλοιώσεις προκύπτουν στην επιφάνεια του αρθρικού χόνδρου. Καθώς η εκφύλιση του αρθρικού χόνδρου εξελίσσεται, όλο και βαθύτερα στρώματα αρθρικού χόνδρου επηρεάζονται. Στο τελικό στάδιο, ο αρθρικός χόνδρος καταρρίπτεται και το υποχόνδριο οστό λαμβάνει τον ρόλο της αρθρικής επιφάνειας. Στην εικόνα του φυσιολογικού χόνδρου δίδεται ο βαθμός 0, ενώ η σοβαρότητα της οστεοαρθρίτιδας χωρίζεται σε 6 βαθμούς. Οι βαθμοί 1-4

περιλαμβάνουν μεταβολές μόνο στον αρθρικό χόνδρο, ενώ οι βαθμοί 5 και 6 περιλαμβάνουν μεταβολές και στο υποχόνδριο οστό. (131, 132)

Επιπρόσθετα, χρησιμοποιήσαμε το τροποποιημένο σύστημα βαθμονόμησης Mankin, όπως προτάθηκε από τους *Sluijs et al*, το οποίο προσφέρει με πιο κατανοητό τρόπο το στάδιο της οστεοαρθρίτιδας και χρησιμοποιείται συχνά σε ζωικά πρωτόκολλα πειραματισμού. Το σύστημα βαθμονόμησης Mankin είναι ένα συνδυαζόμενο σύστημα βαθμολογίας, αξιολογώντας την δομή (0-6 βαθμοί), κυτταρικές ανωμαλίες (0-3 βαθμοί), χρώση στρώματος (0-4 βαθμοί), και ακεραιότητα του tidemark (0-1 βαθμοί). Έτσι, 0 βαθμοί αξιολογούν τον φυσιολογικό χόνδρο ενώ 14 βαθμοί χαρακτηρίζουν τις σοβαρά επηρεασμένες περιοχές από οστεοαρθρίτιδα. Σημειώνεται επίσης ότι η διαστρωμάτωση της σοβαρότητας της εξέλιξης της οστεοαρθρίτιδας επηρεάζεται από την μεταβολική κατάσταση των χονδροκυττάρων στα διάφορα στάδια της οστεοαρθρίτιδας. (133)

2.4. Στατιστική ανάλυση

Για την στατιστική ανάλυση των δεδομένων που προέκυψαν από το πειραματικό πρωτόκολλο, χρησιμοποιήσαμε μη παραμετρικές μεθόδους, τόσο λόγω του μικρού μεγέθους του δείγματος όσο και για την μη κανονική κατανομή των παραμέτρων. Η στατιστική ανάλυση συμπεριέλαβε: a) paired sample Wilcoxon test 2) Mann – Whitney U Test. Τα αποτελέσματα προέκυψαν με μορφή mean \pm SD. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε μέσω του προγράμματος IBM SPSS v23 (IBM Corp. Released 2015. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.) Οι τιμές $p < 0.05$ ορίστηκαν ως το όριο στατιστικής σημαντικότητας.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Η επίδραση της χορήγησης Φετουίνης-Α στο σωματικό βάρος των επίμυων

Κατά τη διάρκεια του πειραματικού πρωτοκόλλου, το σύνολο των επίμυων αύξησε το σωματικό του βάρος, αλλά δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο ομάδες. Η μέση τιμή του βάρους των επίμυων στις δύο ομάδες και στις δύο χρονικές περιόδους αναγράφεται στον **πίνακα 2**. Η μέση τιμή του βάρους των επίμυων της ομάδας ελέγχου στις 5 και στις 8 εβδομάδες μετεγχειρητικά ήταν 571 ± 48 g και 543 ± 41 , αντίστοιχα. Η μέση τιμή του βάρους των επίμυων της ομάδας φετουίνης ήταν 556 ± 37 g και 545 ± 30 g στις 5 και 8 εβδομάδες μετεγχειρητικά. Όσον αφορά τις αρχικές τιμές του βάρους των επίμυων, για την ομάδα ελέγχου η μέση τιμή ήταν 530 ± 35 g και για του επίμυες της ομάδας φετουίνης 531 ± 39 g, μεγέθη συγκρίσιμα και άνευ στατιστικά σημαντικής διαφοράς.

Πίνακας 2.

Τα αποτελέσματα έχουν την μορφή $mean \pm SD$

	<i>GROUP</i>	<i>0 Weeks</i>	<i>5 Weeks</i>	<i>8 Weeks</i>
Body Weight (g)	Control	530±35	571±48	543±41
	Fetuin	531±39	556±37	545±30

3.2 Η επίδραση της Φετουίνης-Α στα επίπεδα των IL-2, IL-7, BMP-7, BMP-4, BMP-2, ASHG, και CRP στην συστηματική κυκλοφορία

Όπως αναφέρεται στον **Πίνακα 3**, το σύνολο των παραμέτρων στην χρονική στιγμή 0 (προεγχειρητικά), έλαβαν τιμές που ήταν συγκρίσιμες στην αρχή του πειραματικού πρωτοκόλλου.

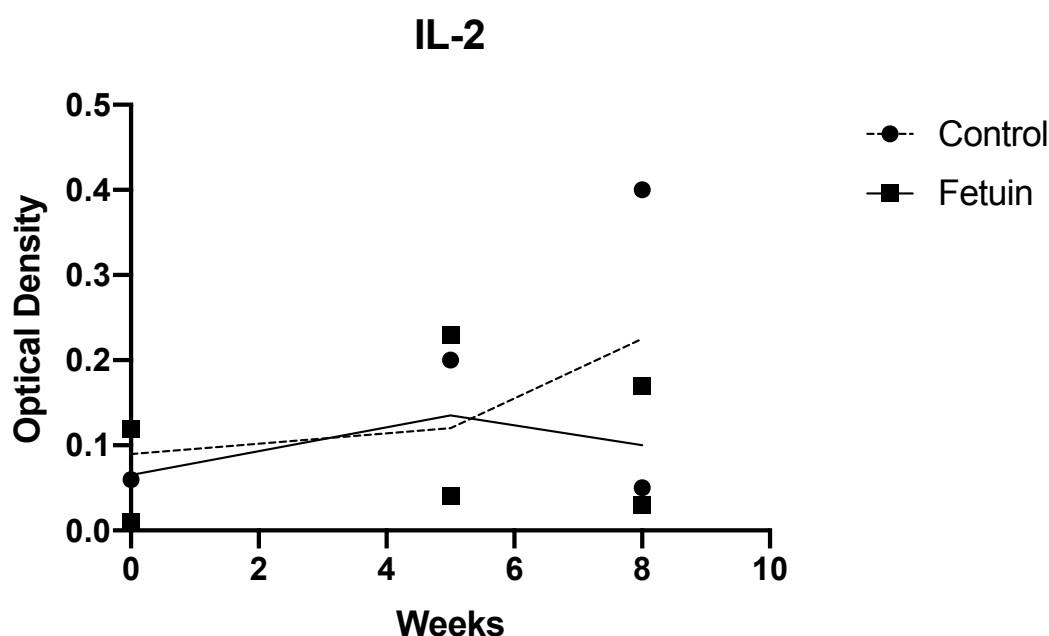
Πίνακας 3. Αποτελέσματα των τιμών IL-2, IL-7, BMPs, ASHG, CRP ανά ομάδα, στις 0,5,8 εβδομάδες του πειραματικού πρωτοκόλλου

Οι παραπάνω τιμές αποτελούν αποτελέσματα από το *Paired Samples Wilcoxon test* προσαρμοσμένο με τη διαδικασία *Benjamini-Hochberg*.

^a Τα αποτελέσματα έχουν την μορφή *mean ± SD*, ^a $p < 0.05$ vs. *baseline*, ^b $p < 0.05$ vs. *5 weeks*, ^c $p < 0.05$ vs. *Ομάδας ελέγχου*, *Ομάδα ελέγχου (n = 15)*, *Ομάδα Φετουίνης (n=15)*

	GROUP	0 Weeks	5 Weeks	8 Weeks
IL-2 (OD)	Control	0,12±0,06	0,20±0,04	0,4±0,05
	Fetuin	0,12±0,01	0,23±0,04	0,17±0,03 ^b
IL-7 (OD)	Control	0,20±0,05	0,22±0,09	0,25±0,09
	Fetuin	0,16±0,06	0,3±0,16	0,49±0,45
BMP-7 (OD)	Control	0,05±0,008	0,09±0,001	0,11±0,001
	Fetuin	0,05±0,008	0,12±0,009	0,09±0,001
BMP-4(OD)	Control	0,11±0,003	0,21±0,04	0,25±0,04
	Fetuin	0,1±0,003	0,25±0,03	0,22±0,02
BMP-2(OD)	Control	0,18±0,1	0,15±0,11	0,21±0,17
	Fetuin	0,17±0,09	0,24±0,15	0,28±0,12 ^a
ASHG (OD)	Control	1±0,07	1,68±0,1	1,61±0,15
	Fetuin	0,98±0,10	1,64±0,26	1,63±0,22
CRP(OD)	Control	0,65±0,14	0,76±0,34	0,95±0,2
	Fetuin	0,68±0,14	0,93±0,12 ^c	1,12±0,13 ^a

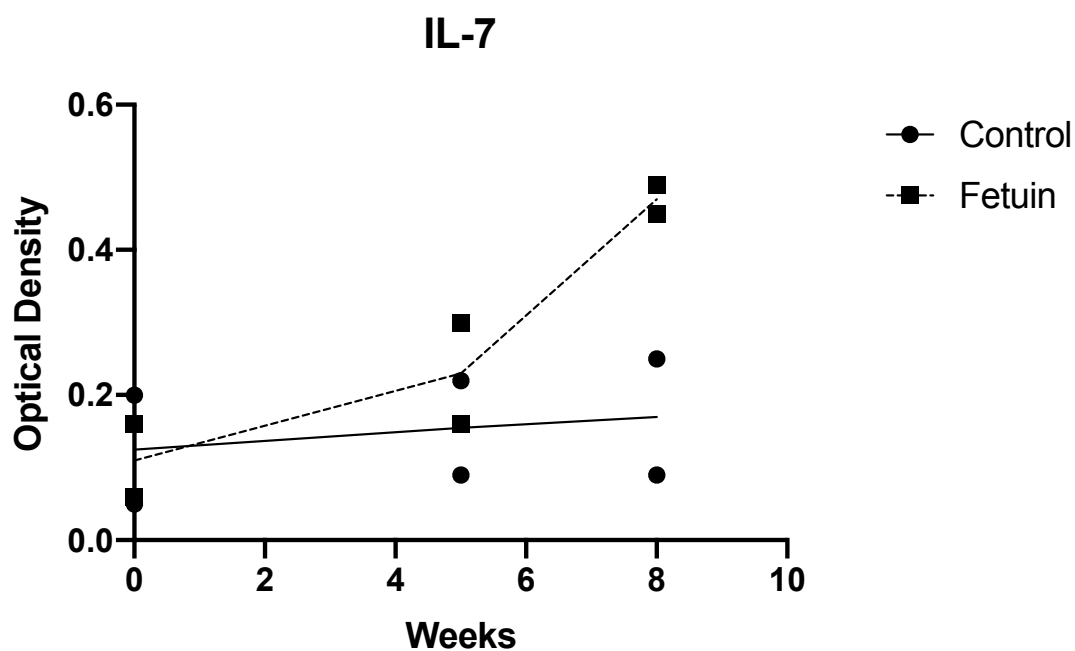
Η μέση τιμή της οπτικής πυκνότητας της IL-2 στην ομάδα ελέγχου στις 5 και 8 εβδομάδες μετεγχειρητικά ήταν $0,20 \pm 0,04$ και $0,4 \pm 0,05$ αντίστοιχα, χωρίς να σημειώνεται στατιστικά σημαντική διαφορά. Στην ομάδα Φετουίνης, τα επίπεδα της IL-2 αυξήθηκαν στις 5 εβδομάδες μετεγχειρητικά ($0,23 \pm 0,04$), ωστόσο μειώθηκαν στις 8 εβδομάδες ($0,17 \pm 0,03$), σε στατιστικά σημαντική διαφορά με την ομάδα ελέγχου ($p=0.04$). Δεν υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στα επίπεδα IL-2 στην έναρξη του πειραματικού πρωτοκόλλου ανάμεσα στις δύο ομάδες. ($0,12 \pm 0,06$ για την ομάδα ελέγχου και $0,12 \pm 0,01$ για την ομάδα Φετουίνης).



Εικόνα 11. Η μεταβολή των τιμών της IL-2 ανά ομάδα, στις 0, 5, 8 εβδομάδες

Τα επίπεδα IL-7 ακολούθησαν ανιούσα πορεία στις 5 και 8 εβδομάδες και για τις δύο ομάδες. Στην ομάδα ελέγχου, η αρχική τιμή OD της IL-7 ήταν $0,20 \pm 0,05$, $0,22 \pm 0,09$ 5 εβδομάδες του πειραματικού πρωτοκόλλου και $0,25 \pm 0,09$ στις 8 εβδομάδες. Ωστόσο, στην ομάδα Φετουίνης, η μέση τιμή της IL-7 ήταν $0,16 \pm 0,06$ στην έναρξη του

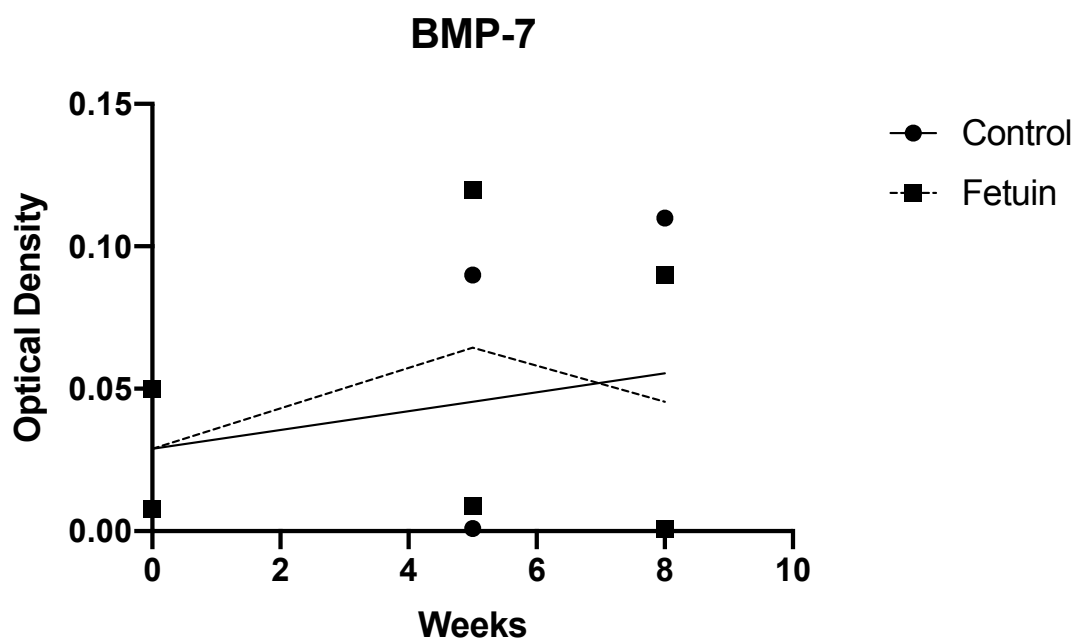
πειράματος, $0,3\pm 0,16$ στις 5 εβδομάδες και $0,49\pm 0,45$ στις 8 εβδομάδες. Δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο ομάδες στις διάφορες χρονικές στιγμές του πειραματικού πρωτοκόλλου.



Εικόνα 12. Η μεταβολή των τιμών της IL-7 ανά ομάδα, στις 0,5,8 εβδομάδες

Τα επίπεδα BMP-7 εμφανίστηκαν αυξημένα στην ομάδα ελέγχου, καθώς οι τιμές κατά την έναρξη του πειράματος ήταν $0,05\pm 0,008$, κατόπιν στις 5 εβδομάδες $0,09\pm 0,001$ και στις 8 εβδομάδες $0,11\pm 0,001$, χωρίς να σημειώνεται στατιστικά σημαντική διαφορά. Στην ομάδα Φετουίνης, η μέση τιμή των επιπέδων BMP-7 αυξήθηκε στις 5 εβδομάδες ($0,12\pm 0,009$ από τα επίπεδα στην χρονική στιγμή T0, $0,05\pm 0,008$), αλλά

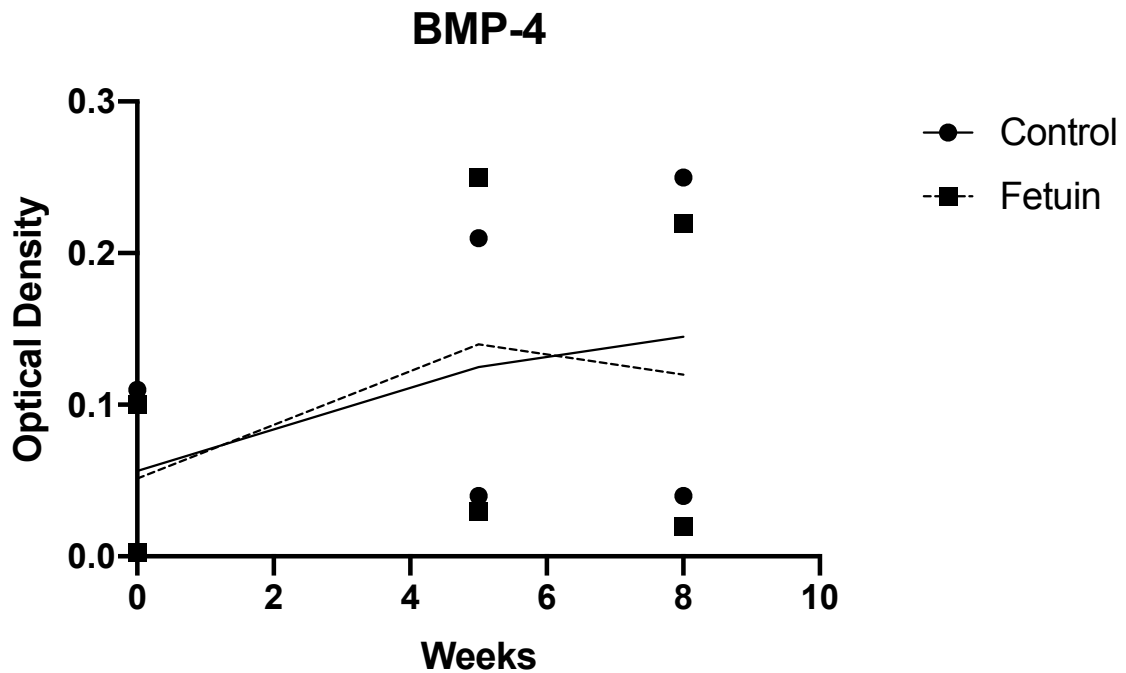
στις 8 εβδομάδες σημείωσαν καθοδική πορεία ($0,09 \pm 0,001$), χωρίς να σημειώνεται στατιστικά σημαντική διαφορά ($p > 0,05$). Στατιστικά σημαντική διαφορά δεν σημειώθηκε ούτε στις αρχικές τιμές ανάμεσα στις δύο ομάδες.



Εικόνα 13. Η μεταβολή των τιμών της BMP-7 ανά ομάδα, στις 0,5,8 εβδομάδες

Η BMP-4 σημείωσε αυξημένα επίπεδα στην ομάδα ελέγχου ($0,11 \pm 0,003$ στην T0, στις 5 εβδομάδες $0,21 \pm 0,04$ και στις 8 εβδομάδες $0,25 \pm 0,04$). Στην ομάδα Φετουίνης, τα επίπεδα BMP-4 αυξήθηκαν στις 5 εβδομάδες ($0,25 \pm 0,03$), ωστόσο κατόπιν μειώθηκαν στις 8 εβδομάδες ($0,22 \pm 0,02$), χωρίς να σημειώνεται στατιστικά σημαντική διαφορά.

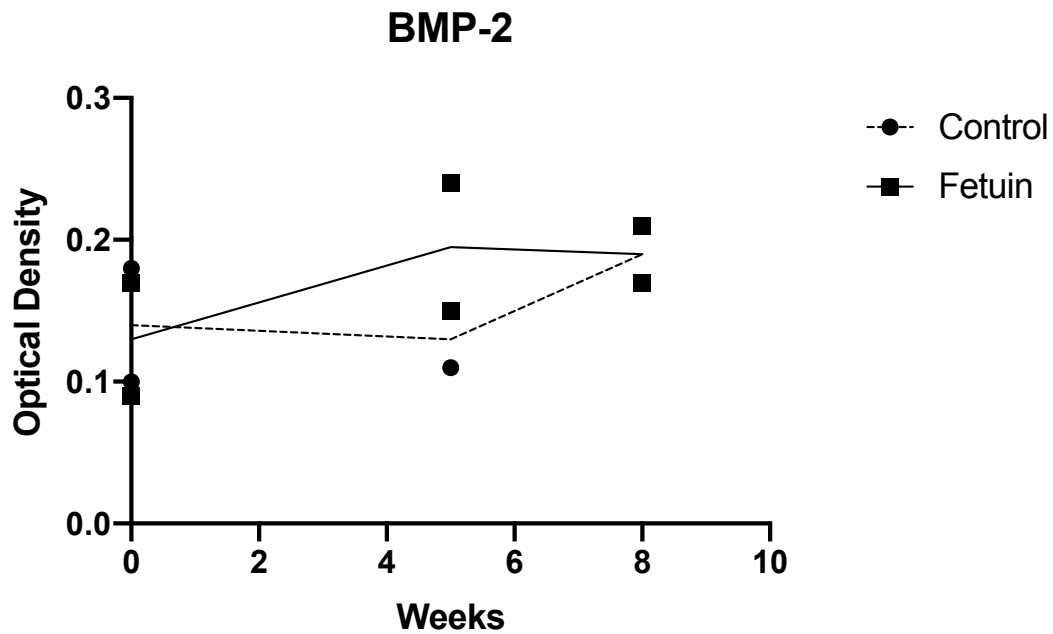
Οι αρχικές τιμές την χρονική στιγμή T0 ανάμεσα στις δύο ομάδες δεν σημείωσαν στατιστικά σημαντική διαφορά. ($0,11 \pm 0,003$ για την ομάδα ελέγχου και $0,1 \pm 0,003$ για την ομάδα Φετουίνης).



Εικόνα 14. Η μεταβολή των τιμών BMP-4 ανά ομάδα , στις 0,5,8 εβδομάδες

Η μέση τιμή της οπτικής πυκνότητας της BMP-2 στην ομάδα ελέγχου $0,15 \pm 0,11$ στις 5 εβδομάδες και $0,21 \pm 0,17$ στις 8 εβδομάδες, χωρίς να σημειώνεται στατιστικά σημαντική διαφορά. Στην ομάδα Φετουίνης, η BMP-2 στις 5 εβδομάδες ήταν

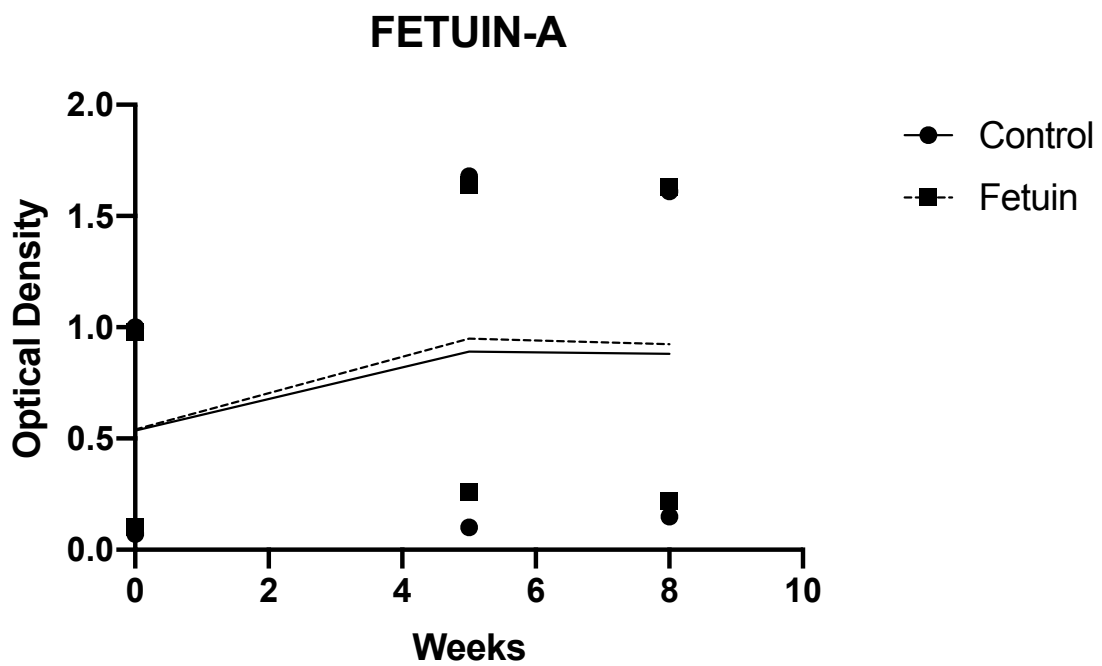
0,24±0,15 και στις 8 εβδομάδες 0,28±0,12, με την παρουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς σε σύγκριση με τα επίπεδα στη χρονική στιγμή T0. (p=0.045).



Εικόνα 15. Η μεταβολή των τιμών BMP-2 ανά ομάδα, στις 0,5,8 εβδομάδες

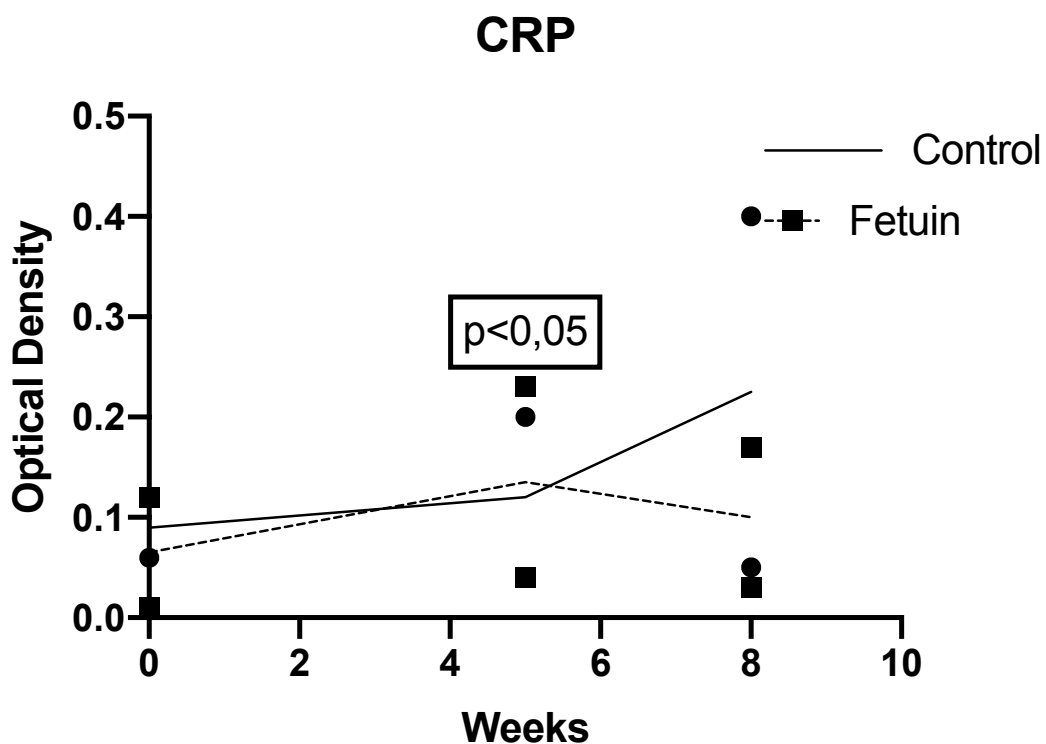
Τα συστηματικά επίπεδα Φετουίνης στην ομάδα ελέγχου στις 5 εβδομάδες ήταν $1,68 \pm 0,1$ και κατόπιν μειώθηκαν στα $1,61 \pm 0,15$ στις 8 εβδομάδες, χωρίς να σημειώνεται στατιστικά σημαντική διαφορά. Στην ομάδα Φετουίνης, τα επίπεδα

συστηματικής Φετουίνης-A ήταν $1,64 \pm 0,26$ στις 5 εβδομάδες και $1,63 \pm 0,22$ στις 8 εβδομάδες . Δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο ομάδες στη χρονική στιγμή T0.



Εικόνα 16. Η μεταβολή των συστηματικών τιμών της Φετουίνης-A ανά ομάδα, στις 0,5,8 εβδομάδες

Η μέση τιμή των επιπέδων της CRP αυξήθηκε στην ομάδα ελέγχου στις 5 και 8 εβδομάδες ($0,76\pm 0,34$ και $0,95\pm 0,2$ αντίστοιχα) χωρίς να σημειώνεται στατιστικά σημαντική διαφορά. Ωστόσο, στην ομάδα Φετουίνης, η μέση τιμή των επιπέδων της CRP στις 5 εβδομάδες ήταν περισσότερο αυξημένη σε σύγκριση με εκείνη της ομάδας ελέγχου την ίδια χρονική στιγμή ($0,93\pm 0,12$, $p=0.043$, $p< 0.05$), και στις 8 εβδομάδες, τα επίπεδα CRP της ομάδας Φετουίνης ήταν περισσότερο αυξημένα σε σύγκριση με εκείνα της χρονικής στιγμής T0 , σημειώνοντας στατιστικά σημαντική διαφορά. ($1,12\pm 0,13$, $p<0.05$)



Εικόνα 17. Η μεταβολή των τιμών CRP ανά ομάδα, στις 0,5,8 εβδομάδες

3.3 Ιστολογική Ανάλυση

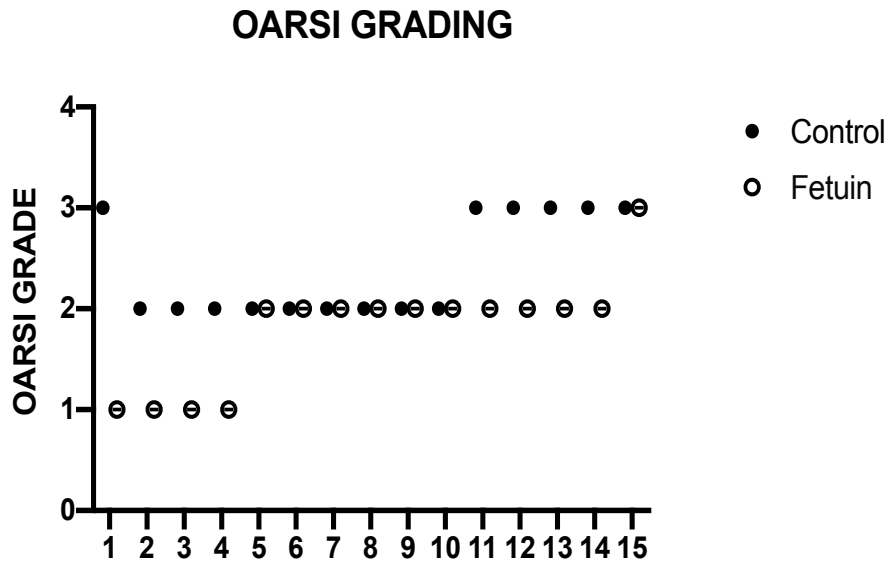
Παρατηρήσαμε τις διαφορές που έλαβαν χώρα στην αρθρική επιφάνεια του γόνατος στην ομάδα Ελέγχου και της Φετουίνης. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στους Πίνακες 4 και 5 και στις εικόνες 18, 19, 20, 21 .

Σύμφωνα με το σύστημα ταξινόμησης OARSI, διακοπή της συνέχειας της αρθρικής επιφάνειας σημειώθηκε και στις δύο ομάδες (Grade 2), η οποία ήταν εντονότερη στην ομάδα ελέγχου. Επίσης, κάθετες ρωγμές στον αρθρικό χόνδρο (Grade 3) σημειώθηκαν και στις δύο ομάδες, ωστόσο σημείωσαν μεγαλύτερη συχνότητα στην ομάδα ελέγχου. Τέλος, ανέπαφη αρθρική επιφάνεια (Grade 1), με μικροσκοπικές ρωγμές στην επιφανειακή ζώνη ήταν παρούσες στην ομάδα Φετουίνης , ενώ ήταν απύσες από την ομάδα ελέγχου. Δεν παρατηρήθηκαν υποχόνδριες βλάβες και παραμορφώσεις και στις δύο ομάδες.

Πίνακας 4. Βαθμολογία κατά την ταξινόμηση OARSI ανάμεσα στις ομάδες

<i>OARSI GRADE</i>	<i>Control (n=15)</i>	<i>Fetuin (n=15)</i>
Grade 1	0 (0)	26 (4)
Grade 2	60 (9)	66 (10)
Grade 3	40 (6)	6 (1)

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται με την μορφή του επί της (%) ποσοστού



Εικόνα 18.

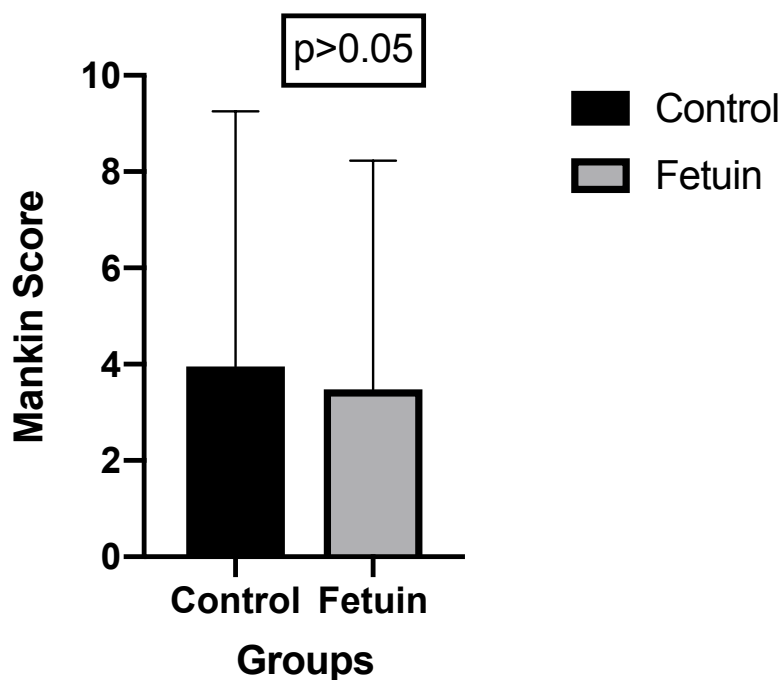
Scatter-Plot κατανομής της βαθμολόγησης OARSI μεταξύ των ομάδων Ελέγχου και Φετουίνης ($p > 0.05$)

Σχετικά με το σύστημα ταξινόμησης κατά Mankin, τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον **πίνακα 5**. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων.

Πίνακας 5. Βαθμολογία κατά το τροποποιημένο σύστημα ταξινόμησης κατά Mankin.

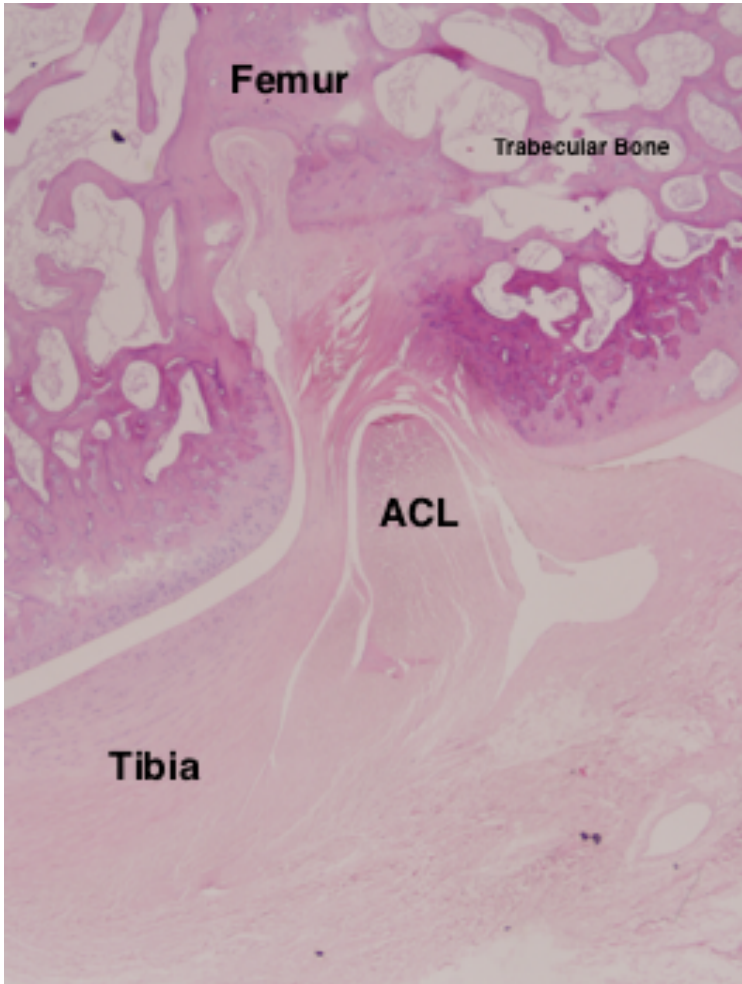
	Control (n=15)	Fetuin (n=15)	P value (vs control)
Structure	0.15± 0.36	0	n.s
Cellular abnormalities	1.76± 0.70	1.4 ±0.45	n.s
Matrix Staining	2.1 ± 0.8	2	n.s
Total Score (0-14)	11.88± 1.35	10.5±0.8	n.s

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται με την μορφή mean ± SD. P <0,05 ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας.
n.s: non significant

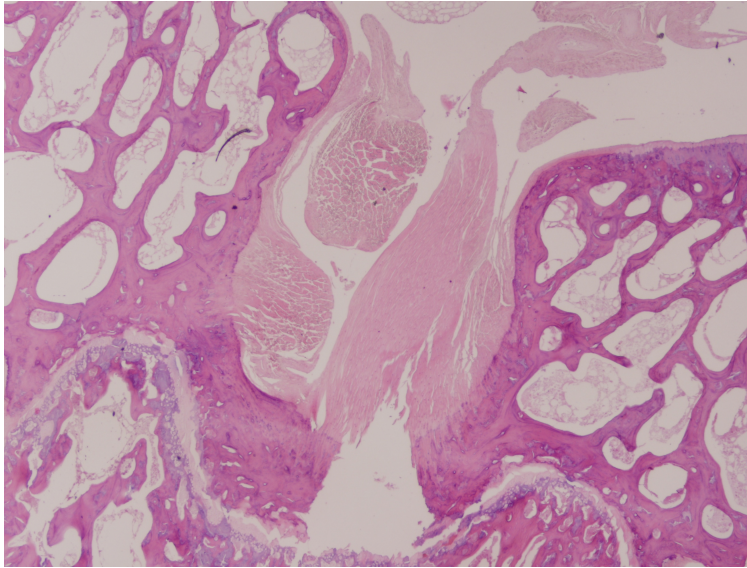


Εικόνα 19.

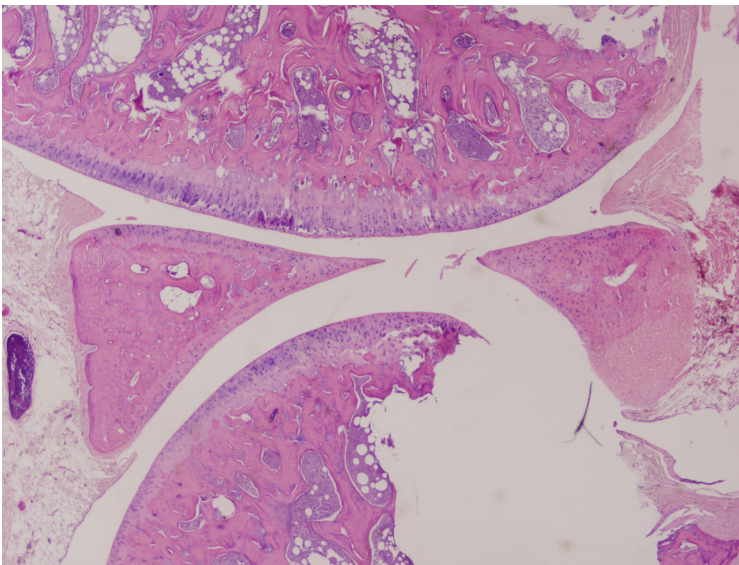
Mankin Score ιστογράμματα μεταξύ των δύο ομάδων του πειραματικού πρωτοκόλλου. (p>0.05)



4.



B.



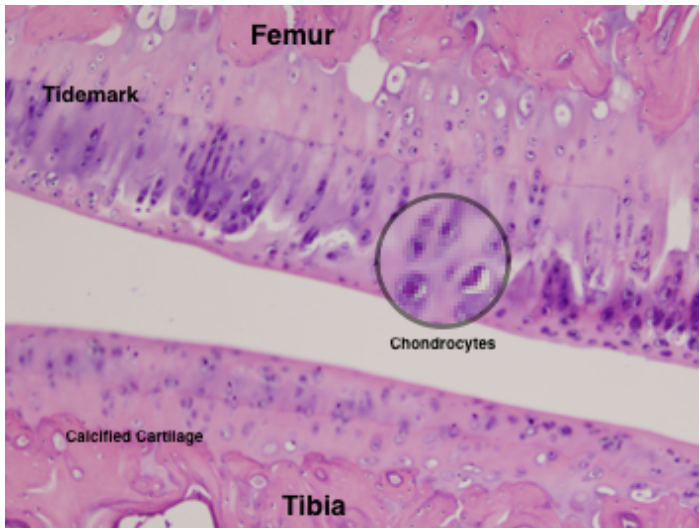
Γ.

Εικόνα 20 Ενδεικτικές τομές της AP άρθρωσης του γόνατος των επίμων, χωρίς να έχει πραγματοποιηθεί παρέμβαση. Χρώση με Αιματοξυλίνη-ηωσίνη.

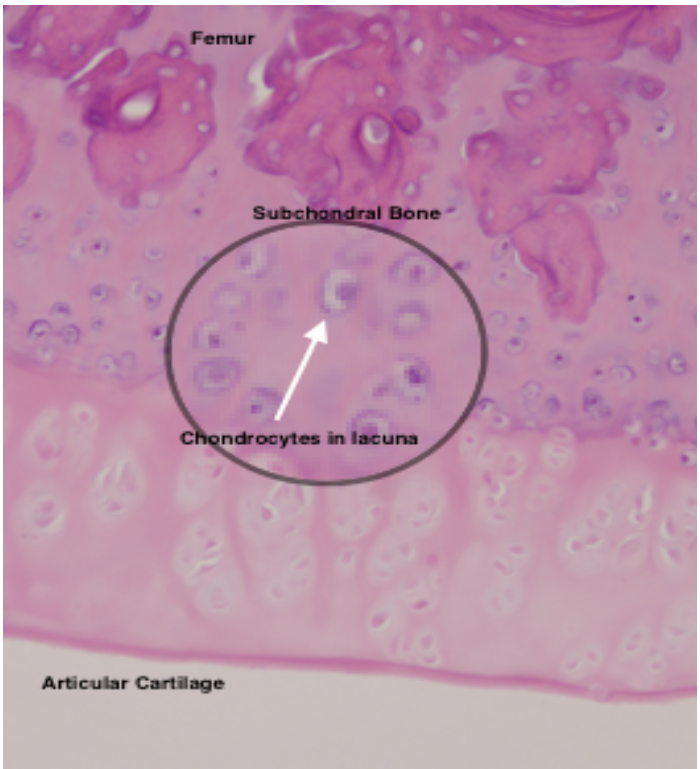
A. Πρόσθιος χιαστός σύνδεσμος, εγκάρσια τομή. Μεγέθυνση 2x

B. Πρόσθιος χιαστός σύνδεσμος, επιμήκης τομή. Μεγέθυνση 2x

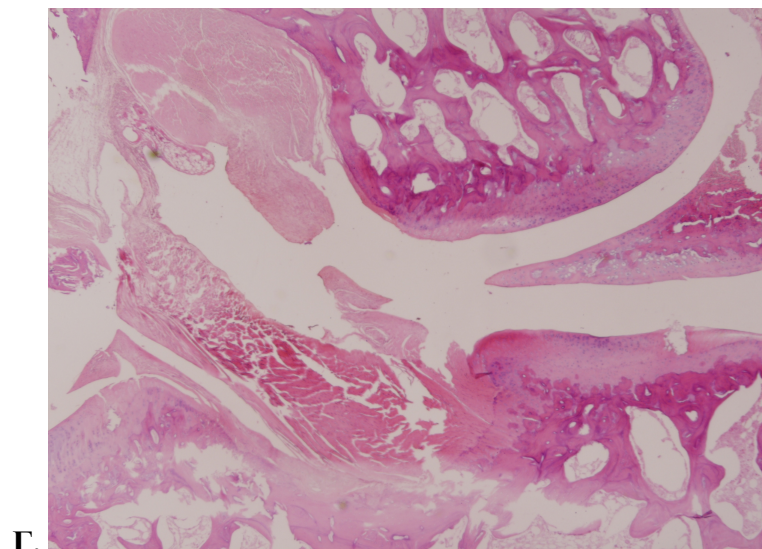
Γ. Πρόσθιο και οπίσθιο κέρα εσω μηνίσκου. Εγκάρσια τομή. Μεγέθυνση 2x



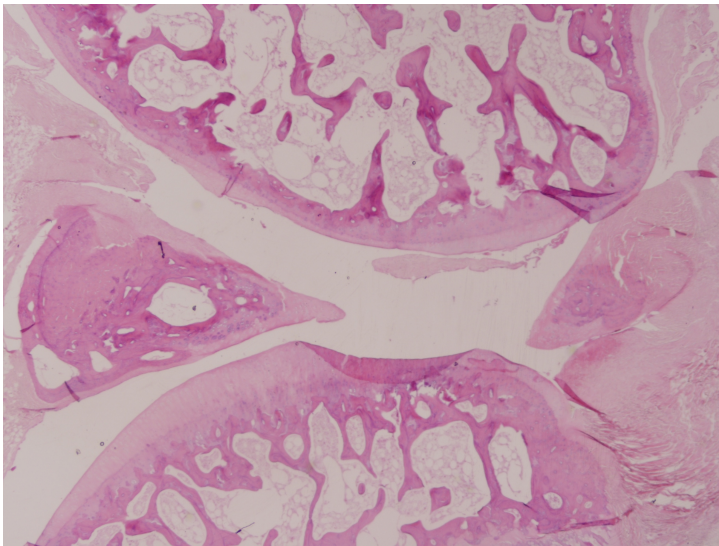
A.



B.



Γ.



Δ.

Εικόνα 21. Ενδεικτικές τομές της ΔΕ κατά γόνυ άρθρωσης των επίμυων, κατόπιν της ρήξης του ΠΧΣ και του έσω πλάγιου συνδέσμου. Χρώση με αιματοξυλίνη-ηωσίνη.

Α. Ομάδα ελέγχου. Μεγέθυνση 20x. 5^η εβδομάδα MTX.

Β. Ομάδα Φετουίνης. Μεγέθυνση 20x. 5^η εβδομάδα MTX.

Γ. Ομάδα Φετουίνης. Μεγέθυνση 2x. 8^η εβδομάδα MTX.

Δ. Ομάδα Ελέγχου. Μεγέθυνση 2x. 8^η εβδομάδα MTX.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα πειραματική μελέτη, πραγματοποιήσαμε μία προσπάθεια για να διαλευκάνουμε τον πιθανό αντιφλεγμονώδη ρόλο της ενδοαρθρικής χορήγησης Φετουίνης-A στην αντιμετώπιση της φλεγμονώδους αντίδρασης της άρθρωσης του γόνατος που προκύπτει από την μετατραυματική αρθρίτιδα της άρθρωσης λόγω ρήξης του ΠΧΣ και του έσω πλαγίου συνδέσμου . Τα αξιοσημείωτα αποτελέσματα της μελέτης που πραγματοποιήθηκε περιλαμβάνουν τα στατιστικά σημαντικά μειωμένα επίπεδα IL-2 στην ομάδα της Φετουίνης. Επίσης, όσον αφορά τα ιστολογικά αποτελέσματα, η ομάδα Φετουίνης σημείωσε σαφώς καλύτερη βαθμολογία σύμφωνα με το σύστημα ταξινόμησης της OARSI και του συστήματος βαθμονόμησης κατά Mankin , σε αντίθεση με την ομάδα ελέγχου, χωρίς όμως να σημειώνεται στατιστικά σημαντική διαφορά. Ωστόσο, τα επίπεδα των υπολοίπων ιντερλευκινών, , BMPs και συστηματικής Φετουίνης-A δεν επηρεάστηκαν από την ενδοαρθρική χορήγηση της Φετουίνης-A , ενώ άλλο ένα αξιοσημείωτο αποτέλεσμα ήταν η στατιστικά σημαντικά αυξημένες τιμές CRP στην ομάδα Φετουίνης.

Τα ζωικά πειραματικά μοντέλα έχουν χρησιμοποιηθεί ιδιαίτερα συχνά για την μελέτη της φλεγμονώδους αντίδρασης της οστεοαρθρίτιδας. (134) Στην συγκεκριμένη μελέτη, επικεντρωθήκαμε στην διερεύνηση της φλεγμονώδους αντίδρασης της δευτεροπαθούς μετατραυματικής οστεοαρθρίτιδας της άρθρωσης του γόνατος . Όσον αφορά τα πειραματικά πρωτόκολλα με τη χρήση ζωικών μοντέλων, η μετατραυματική δευτεροπαθής οστεοαρθρίτιδα έχει μελετηθεί σε μεγάλο βαθμό μέσω παρεμβατικών πειραματικών μοντέλων. (135) Η χειρουργική πρόκληση οστεοαρθρίτιδας σε πειραματικά μοντέλα επίμυων χαρακτηρίζεται ως αναπαραγωγίσιμη και καθιστά μία

σωστή επιλογή για βραχύχρονες μελέτες, όπως το παρόν πειραματικό πρωτόκολλο. Πολλές μελέτες στην παρούσα βιβλιογραφία χρησιμοποιούν το παρόν ζωικό μοντέλο, όπως επίσης τα μέσα για την πραγματοποίησή του είναι εύκολα διαθέσιμα. Εφόσον μελέτες έχουν αποδείξει ότι τα επεμβατικά μοντέλα πρόκλησης δευτεροπαθούς μετατραυματικής οστεοαρθρίτιδας με τη χρήση ζωικών μοντέλων επίμυων συνοδεύονται από τα άνωθι χαρακτηριστικά, θεωρήσαμε ότι το καταλληλότερο ζωικό πρότυπο για την παρούσα μελέτη θα ήταν εκείνο των επίμυων. Επίσης, η ρήξη του ΠΧΣ μαζί με την ρήξη του έσω πλαγίου συνδέσμου επιλέχθηκαν ως τρόποι χειρουργικής πρόκλησης μετατραυματικής αρθρίτιδας του γόνατος προκειμένου να μελετηθεί η φλεγμονώδης αντίδραση αυτής. (136, 137)

Ο ρόλος της φλεγμονώδους αντίδρασης κατά την εξέλιξη της δευτεροπαθούς μετατραυματικής οστεοαρθρίτιδας χαρακτηρίζεται ως μεγίστης σημασίας. (138, 139) Λαμβάνοντας υπόψιν τις ευρέως γνωστές αντιφλεγμονώδεις ικανότητες της πρωτεΐνης Φετουίνης-A, επιλέξαμε να μελετήσουμε την αντιφλεγμονώδη αντίδραση της άρθρωσης του γόνατος μέσω της χειρουργικής πρόκλησης δευτεροπαθούς οστεοαρθρίτιδας σε πειραματικό μοντέλο επίμυων, καθώς κατόπιν της παρέμβασης επιτεύχθηκαν αρχικά στάδια οστεοαρθρίτιδας.

Προηγούμενες μελέτες που επικεντρώθηκαν στον αντιφλεγμονώδη ρόλο της Φετουίνης-A έχουν δείξει ποικιλόμορφα αποτελέσματα. Το 1998, οι *Wang et al* απέδειξαν μέσω παρατήρησης κυτταροκαλλιιεργειών από επίμυες, ότι η Φετουίνη-A μπορεί να χρησιμοποιηθεί από τα μακροφάγα ως οψονίνη για τα μόρια απενεργοποίησης αυτών. Η Φετουίνη χρησιμοποιείται από τα μακροφάγα για να αποκτήσουν πρόσβαση στην εξωκυττάρια σπερμίνη, η οποία κατ' επέκταση ασκεί

αρνητική παλίνδρομη δράση στις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και εμποδίζει την εξέλιξη της φλεγμονώδους αντίδρασης στον παρόντα ιστό. (139) Ακόμα, οι *Rittenberg et al* ,το 2005, μελέτησαν την ελεγχόμενη ενδαρθρική χορήγηση BMP-7 μέσω ενδαρθρικής συγχορήγησης Φετουίνης-A σε κλινικές μελέτες. (140) Επιπρόσθετα, οι *Wang et al* το 2010 απέδειξαν τον προστατευτικό ρόλο της Φετουίνης-A στην ισχαιμική εγκεφαλική φλεγμονώδη αντίδραση σε πειραματικά πρωτόκολλα επίμυων μαζί με την καταστολή μεσολαβητών της σηπτικής αντίδρασης σε προχωρημένα στάδια σηπτικής κατάστασης . (141) Επιπροσθέτως, οι *Wang et al* το 1997 ανέφεραν ότι η παραγωγή TNF η οποία αυξάνεται από τα ενεργοποιημένα από τα λιποπολυσακχαρίδια μακροφάγα, επιβραδύνθηκε σημαντικά σε μελέτη επίσης σε ζωικό πρωτόκολλο. (142) Ενδεχομένως, η συγχορήγηση Φετουίνης-A και BMPs, είναι ικανή να αποτελεί θεραπευτική μέθοδο για την εκφυλιστική οστική νόσο, λαμβάνοντας μάλιστα υπόψιν τον αντιφλεγμονώδη ρόλο των ανωτέρω παραγόντων. Το 2011, οι *Albilis et al* μέσω κλινικής μελέτης που περιλάμβανε 30 ασθενείς στους οποίους επρόκειτο να πραγματοποιηθεί ολική αρthroπλαστική είτε ισχίου είτε γόνατος, περιέγραψαν αυξημένα επίπεδα BMP-2,4 και μειωμένες τιμές Φετουίνης-A στον κυκλοφορούντα ορό των ασθενών αυτών που έπασχαν από προχωρημένα στάδια οστεοαρθρίτιδας. (143) Ωστόσο, οι *Seto et al*, το 2012, απέδειξαν ότι επίμυες στους οποίους δεν εκφραζόταν το γονίδιο της Φετουίνης-A, διέθεταν φυσιολογική μάζα σπογγώδους οστού στην σπονδυλική στήλη, ωστόσο διέθεταν αυξημένη σκληρότητα της φλοιώδους μοίρας του μηριαίου οστού. (144) Τα μακρά οστά, και ιδιαίτερα τα εγγύς οστά των άκρων των επίμυων αυτών , όπως τα μηριαία οστά, παρουσίασαν αυξημένη εμβιομηχανική σταθερότητα στα 3-point bending tests, οδηγώντας στην αναχαίτιση της ενεργούς επιμετάλλωσης η οποία είναι απαραίτητη για την ορθή ανάπτυξη των μακρών οστών. Στην δική μας μελέτη, τα επίπεδα Φετουίνης του ορού

των επίμυων παρέμειναν αναλλοίωτα, ανεξάρτητα από την ενδοαρθρική χορήγηση Φετουίνης-A στην δεξιά κατά γόνυ άρθρωση. Και στις δύο ομάδες, οι τιμές Φετουίνης αυξήθηκαν στις 5 και 8 εβδομάδες της πειραματικής μελέτης, μειώθηκαν σε ελάχιστο βαθμό χωρίς όμως να σημειώνεται στατιστικά σημαντική διαφορά. Μάλιστα, στην παρούσα μελέτη, υπογραμμίσαμε ότι η χορήγηση Φετουίνης-A εγκατέστησε ιστολογικά τον αντιφλεγμονώδη ρόλο της, καθώς η ομάδα Φετουίνης σημείωσε καλύτερη βαθμολογία στο σύστημα ταξινόμησης OARSI και Mankin, σε αντίθεση με την ομάδα ελέγχου, χωρίς ωστόσο να σημειώνεται στατιστικά σημαντική διαφορά.

Η πρωτεΐνη οξείας φάσης CRP έχει επίσης προταθεί ως παράγοντας εκτίμησης της εξέλιξης της οστεοαρθρίτιδας. Το 2003, οι *Sturmer et al* συσχέτισαν την αυξημένης ευαισθησίας CRP με το στάδιο εξέλιξης της οστεοαρθρίτιδας σε ασθενείς με προχωρημένη οστεοαρθριτική νόσο είτε της άρθρωσης του ισχίου ή του γόνατος, μέσω μίας κλινικής μελέτης η οποία συμπεριλάμβανε 770 ασθενείς. (145) Σύμφωνα με τα ευρήματα της παρούσας μελέτης, οι τιμές της CRP αυξήθηκαν σταθερά και στις ομάδες, κατά την 5η και 8η εβδομάδα του πειραματικού πρωτοκόλλου. Ωστόσο, στην ομάδα Φετουίνης, κατά την 5η εβδομάδα του πειράματος, τα επίπεδα CRP αυξήθηκαν κατά στατιστικά σημαντικό τρόπο σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, ενώ κατά την 8η εβδομάδα αυξήθηκαν κατά στατιστικά σημαντικό τρόπο σε σύγκριση με τις προεγχειρητικές τιμές.

Το 2006, οι *Hulejova et al* απέδειξαν την προ φλεγμονώδη αντίδραση κατά τη διάρκεια της οστεοαρθρίτιδας, με τα αυξημένα επίπεδα κυτταροκινών, όπως των ιντερλευκινών, και μεταλλοπρωτεϊνών, όπως περιγράφηκε από την κλινική τους μελέτη η οποία περιλάμβανε 55 ασθενείς με προχωρημένα στάδια οστεοαρθρίτιδας της άρθρωσης του

ισχίου . (2) Επίσης, σχετικά με τα επίπεδα IL-2 , παρουσίασαν μειωμένες τιμές στην ομάδα Φετουίνης σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Η IL-7 σημείωσε αυξημένα επίπεδα στις 5 και 8 εβδομάδες και στις δύο ομάδες , χωρίς όμως να σημειώνεται στατιστικά σημαντική διαφορά. Και η IL-2 και η IL-7 έχουν αναφερθεί στην σύγχρονη βιβλιογραφία για τον προφλεγμονώδη ρόλο τους στην εξέλιξη της φλεγμονώδους αντίδρασης της οστεοαρθρίτιδας. Ανάμεσα στους προφλεγμονώδεις παράγοντες, είναι γνωστό πως και η IL-1 και ο TNF- α , είναι εκείνοι που ευοδώνουν την παραγωγή των πρωτεολυτικών ενζύμων του αρθρικού χόνδρου κατά την εξέλιξη της ΟΑ, καθώς καθοδηγούν τις μεταβολές στην θεμέλια ουσία μέσω της διαφοροποίησης των χονδροκυττάρων, την μεταβολή του τύπου του κολλαγόνου καθώς και την αυξημένη βιοσύνθεση πρωτεογλυκάνων ως απόπειρα ιστικής επούλωσης. (146) Η αναβολική δραστηριότητα των χονδροκυττάρων προωθείται από αυξητικούς παράγοντες όπως ο IGF-I. Ο IGF-I σε συνδυασμό με τον TGF- β (transforming growth factor) και τις πρωτεΐνες της οικογένειας των BMPs , αποτελούν τους πιο σημαντικούς παράγοντες παραγωγής χονδροκυττάρων. (147)

Τουλάχιστον 13 πρωτεΐνες αποτελούν μέλη της οικογένειας των BMPs . (148) Μερικές από τις πρωτεΐνες των BMPs, όπως οι BMP-2,4,7, αποτελούν αξιοσημείωτους μεσολαβητές στην παραγωγή πρωτεογλυκάνων του αρθρικού χόνδρου in vitro, ενώ η πρωτεΐνη BMP-7 έχει αποδείξει στην σύγχρονη βιβλιογραφία ότι είναι ικανή να αντισταθμίσει την δράση της IL-1, η οποία ασκεί αρνητική παλίνδρομη δράση στην παραγωγή αρθρικών χονδροκυττάρων in vitro. (149,150) Στην περίπτωση της παρούσας μελέτης, τα επίπεδα BMPs δεν επηρεάστηκαν από την ενδαρθρική χορήγηση Φετουίνης-A. Στην ομάδα ελέγχου, οι τιμές των BMP-2,4, και 7 αυξήθηκαν σε μικρό βαθμό στις 5 και 8 μετεγχειρητικά, χωρίς όμως να σημειώνεται

στατιστικά σημαντική διαφορά. Στην ομάδα Φετουίνης, τα επίπεδα των πρωτεϊνών BMP-4,7 εμφάνισαν μικρού βαθμού μείωση κατά τις 8 εβδομάδες του πειράματος, χωρίς να σημειωθεί στατιστικά σημαντική διαφορά.

Όσον αφορά τα ιστολογικά ευρήματα σύμφωνα με την ταξινόμηση OARSI και Mankin, στην μελέτη που πραγματοποιήσαμε , 6 συνολικά σοβαρά επιβαρυνόμενες αρθρώσεις από ΡΤΟΑ παρατηρήθηκαν, ενώ το σύνολό τους ανήκει στην ομάδα ελέγχου. Εκτός όμως από το σύστημα ταξινόμησης OARSI και Mankin , κι άλλα συστήματα βαθμολογίας και κατάταξης της εξέλιξης της φλεγμονώδους αντίδρασης της ΟΑ έχουν προταθεί από την σύγχρονη βιβλιογραφία. (151)

Επίσης, οι *Chambers et al* ανακάλυψαν μια μη ραδιενεργή μέθοδο in-situ υβριδισμού μέσω της χρήσης ολιγονουκλεοτιδίων σησασμένων με διγοξυγενίνη, έτσι ώστε να σημάνουν την έκφραση προφλεγμονωδών κυτταροκινών κατά την εξέλιξη της φλεγμονώδους αντίδρασης της οστεοαρθρίτιδας, όπως IL-1α, IL-1β , IL-6 ,IGF-1 και TGFβ, σε πειραματικά πρωτόκολλα επίμυων. (152)

Επιπροσθέτως, το 2013, οι *McNulty et al* πραγματοποίησαν μελέτη που περιελάμβανε 158 αρθρώσεις επίμυων έτσι ώστε να παρατηρήσουν την φυσική εξέλιξη της δευτεροπαθούς οστεοαρθρίτιδας η οποία προκλήθηκε χειρουργικά στην άρθρωση. Κατά την μελέτη αυτή, 30 κνημιαία πλατώ παρουσίασαν σοβαρές παραμορφώσεις οστεοαρθρίτιδας. (153)

Σε αυτό το σημείο καλό είναι να αναφέρουμε τους περιορισμούς της παρούσας μελέτης. Αρχικά, το πειραματικό πρωτόκολλο συμπεριέλαβε τον αριθμό δείγματος 30

επίμυων, ο οποίος σε σύγκριση με άλλες μελέτες της παρούσας βιβλιογραφίας θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως περιορισμένος. Επίσης, παρά το γεγονός ότι η ιδέα ενδοαρθρικής χορήγησης αντιφλεγμονώδους παράγοντα για την επιβράδυνση της εξέλιξης της οστεοαρθρίτιδας είναι πολύ σύγχρονη, η παρούσα μελέτη δεν περιλαμβάνει ομάδα επίμυων στην οποία χορηγήθηκε ενδοαρθρικά ουσία placebo, κατόπιν της εφαρμογής του χειρουργικού πρωτοκόλλου αστάθειας της άρθρωσης και πρόκλησης ΡΤΟΑ. Σχετικά με τις προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες που μελετήθηκαν, οι ΙΙ-1 και TNF-α δεν συμπεριλήφθηκαν στην παρούσα μελέτη. Επίσης, η μελέτη ήταν επικεντρωμένη στον πιθανό επιβραδυντικό ρόλο της φετουίνης-Α στην εξέλιξη της μετατραυματικής οστεοαρθρίτιδας του γόνατος. Έτσι οι υπόλοιποι αναφερόμενοι ρόλοι της φετουίνης από την παρούσα βιβλιογραφία, όπως η συμμετοχή της στην ενδοαρθρική ομοιόσταση και στην επιμετάλλωση, δεν μελετήθηκαν. Επιπροσθέτως, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, χρησιμοποιήθηκε μόνο η χρώση της αιματοξυλίνης-ηωσίνης στην παρούσα μελέτη, χωρίς να περιλαμβάνονται οι χρώσεις που αναφέρονται στη σύγχρονη βιβλιογραφία όπως Σαφρανίνη-Ο. Η μελέτη δεν συμπεριέλαβε ανοσοιστοχημική ανάλυση των ανοσοκυττάρων που είναι ικανά να διηθούν την άρθρωση κατά την φλεγμονώδη αντίδραση της ΡΤΟΑ. Τέλος, το παρόν πειραματικό μοντέλο έχει πραγματοποιηθεί μόνο σε ζωικό πρωτόκολλο, χωρίς καμία εφαρμογή σε κλινική μελέτη, έτσι λοιπόν περαιτέρω έρευνα χρειάζεται για την πιθανή κλινική εφαρμογή του.

Παρόλα αυτά, η παρούσα μελέτη διαθέτει σημαντική ισχύ, καθώς η κατανομή των επίμυων έγινε με τυχαίο τρόπο σε δύο ισοδύναμες ομάδες. Επίσης, η ιστολογική εκτίμηση των αρθρώσεων του γόνατος πραγματοποιήθηκε από ειδικό παθολογοανατόμο ο οποίος δεν γνώριζε το είδος της ομάδας που ανήκε το κάθε δείγμα.

Επίσης, περιορισμένη πιθανότητα σφάλματος συνοδεύει τα ιστολογικά αποτελέσματα καθώς προκύπτουν από σύγκριση με τα καθορισμένα διεθνώς συστήματα ταξινόμησης OA, OARSI και Mankin.

Περισσότερη μελέτη, και ειδικά μέσω πειραματικών πρωτοκόλλων χρειάζεται προκειμένου να μελετηθεί η τοπική ενδοαρθρική δράση της πρωτεΐνης Φετουίνης-A στην επιβράδυνση της φλεγμονώδους αντίδρασης στην άρθρωση του γόνατος. Ευχόμαστε στο μέλλον, μέσω της πειραματικής έρευνας και χειρουργικής, να διαφωτιστούν πλήρως οι μηχανισμοί με τους οποίους η πρωτεΐνη Φετουΐνη-A είναι ικανή να εμποδίσει την τοπική φλεγμονώδη αντίδραση της άρθρωσης του γόνατος στην περίπτωση της δευτεροπαθούς μετατραυματικής οστεοαρθρίτιδας.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της πειραματικής μας μελέτης συνηγορούν στο ότι η ενδοαρθρική χορήγηση Φετουίνης-Α είναι ικανή να διαδραματίσει έναν περιορισμένο ρόλο στην αναχαίτιση της εξέλιξης της φλεγμονώδους αντίδρασης της άρθρωσης του γόνατος, για την περίπτωση της μετατραυματικής αρθρίτιδας που προκύπτει από την ρήξη ΠΧΣ και έσω πλαγίου συνδέσμου. Το συμπέρασμα αυτό προκύπτει από το γεγονός ότι τα επίπεδα μόνο της IL-2 ,από το σύνολο των ιντερλευκινών που μελετήθηκαν, επηρεάστηκε σε στατιστικά σημαντικό βαθμό στην ομάδα της Φετουίνης σε αντίθεση με την ομάδα ελέγχου. Συγκριτικά με τους υπόλοιπους βιοδείκτες, τα επίπεδα IL-4, IL-7, BMPs και συστηματικής Φετουίνης-Α δεν σημείωσαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις ομάδες ελέγχου και Φετουίνης. Ένα μη αναμενόμενο αποτέλεσμα ήταν οι στατιστικά σημαντικά αυξημένες τιμές της CRP στην ομάδα Φετουίνης σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Όσον αφορά τα ιστολογικά ευρήματα, η ομάδα Φετουίνης σημείωσε καλύτερα scores σύμφωνα με το σύστημα ταξινόμησης OARSI και Mankin, σε αντίθεση με την ομάδα ελέγχου, χωρίς όμως να σημειώνεται στατιστικά σημαντική διαφορά. Ωστόσο, η παρούσα βιβλιογραφία δεν έχει τεκμηριώσει ακόμα τον αντιφλεγμονώδη ρόλο της Φετουίνης-Α, ειδικά στην περίπτωση της φλεγμονώδους αντίδρασης της άρθρωσης του γόνατος, και για αυτό τον λόγο περαιτέρω έρευνα κρίνεται απαραίτητη όσον αφορά την επίδραση της Φετουίνης-Α στην εξέλιξη της φλεγμονώδους διαδικασίας που προκύπτει στην περίπτωση δευτεροπαθούς οστεοαρθρίτιδας, όπως στην περίπτωση της ΡΤΟΑ.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός: Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να μελετήσει τον πιθανό επιβραδυντικό ρόλο της ενδοαρθρικής χορήγησης της αντιφλεγμονώδους πρωτεΐνης οξείας φάσης Φετουίνης-A στην μετατραυματική δευτεροπαθή οστεοαρθρίτιδα του γόνατος σε επίμυες, καθώς και την επίδρασή της στα συστηματικά επίπεδα των IL-2,4, 7, BMP2, 4, 7, CRP και Φετουίνης-A στον ορό.

Υλικά και Μέθοδοι: 30 αρσενικοί Sprague Dawley επίμυες, ηλικίας 6 μηνών χωρίστηκαν σε δύο ομάδες. Η μετατραυματική αρθρίτιδα του γόνατος εγκαταστάθηκε χειρουργικά μέσω ρήξης του προσθίου χιαστού συνδέσμου και κάκωση του έσω πλάγιου συνδέσμου του δεξιού γόνατος. Στην ομάδα Μαρτύρων (n=15), πραγματοποιήθηκε μόνο η χειρουργική παρέμβαση. Στην ομάδα Φετουίνης (n=15), εκτός από την συνδεσμική κάκωση, χορηγήθηκε διεγχειρητικά ενδοαρθρικά στο χειρουργηθέν γόνατο μονή δόση 1 μl 3 %w/v Φετουίνης-A. Οι δύο ομάδες μελετήθηκαν για 8 εβδομάδες. Πραγματοποιήθηκε συλλογή περιφερικού αίματος των επίμυων για την πραγματοποίηση ELISA για την μελέτη των τιμών ιντερλευκινών, μορφογενετικών πρωτεϊνών, Φετουίνης-A και CRP. Η συλλογή περιφερικού αίματος πραγματοποιήθηκε προεγχειρητικά και στις 5 και 8 εβδομάδες μετεγχειρητικά για την κάθε ομάδα. Πραγματοποιήθηκε ιστολογική εκτίμηση των παρασκευασμάτων της άρθρωσης του γόνατος με αιματοξυλίνη και ηωσίνη. Οι οστεοαρθρικές αλλοιώσεις του γόνατος αναλύθηκαν με βάση την ταξινόμηση Osteoarthritis Research Society International (OARSI) και το τροποποιημένο σύστημα βαθμονόμησης κατά Mankin. Κατόπιν πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων.

Αποτελέσματα: Τα επίπεδα IL-2 ήταν στατιστικά σημαντικά μειωμένα στην ομάδα χορήγησης Φετουίνης στο τέλος του πειράματος, σε σύγκριση με την ομάδα μαρτύρων. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα IL-7, BMP-2,4,7, Φετουίνης-A ανάμεσα στις δύο ομάδες. Τα επίπεδα CRP ήταν στατιστικά σημαντικά αυξημένα στην ομάδα χορήγησης Φετουίνης στις 5 εβδομάδες του πειράματος ($p < 0.05$) σε σύγκριση με την ομάδα μαρτύρων. Όσον αφορά την ιστολογική εκτίμηση των δειγμάτων, η ομάδα Φετουίνης σημείωσε καλύτερα scores σύμφωνα με το σύστημα ταξινόμησης OARSI και Mankin σε αντίθεση με την ομάδα μαρτύρων, χωρίς ωστόσο να σημειώνεται στατιστικά σημαντική διαφορά.

Συμπέρασμα: Η ενδοαρθρική χορήγηση Φετουίνης-A επηρέασε σε περιορισμένο βαθμό την πρόοδο της μετατραυματικής αρθρίτιδας του γόνατος στους επίμυες, καθώς στην ομάδα χορήγησης Φετουίνης παρατηρήθηκαν μόνο χαμηλότερα επίπεδα IL-2. Όσον αφορά τις ιστολογικές αλλοιώσεις οστεοαρθρίτιδας, ήταν λιγότερες στην ομάδα Φετουίνης χωρίς ωστόσο να σημειώνεται στατιστικά σημαντική διαφορά σε σύγκριση με την ομάδα μαρτύρων.

ABSTRACT

Purpose: The purpose of this study is to investigate the possible attenuating role of the intra-articular administration of Fetuin-A in post-traumatic secondary osteoarthritis in rats, and also its effect on the systematic levels of interleukins (ILs)-2,4 ,7, bone morphogenetic proteins (BMPs) 2, 4, 7, C-Reactive Protein (CRP) and Fetuin-A.

Methods: 30 male Sprague Dawley rats were separated in two groups where post-traumatic osteoarthritis was induced surgically by Anterior Cruciate Ligament Transection and the transection of the Medial Collateral Ligament of the right knee. In the Control Group, only the surgical intervention took place. In Fetuin Group, along with the induction of osteoarthritis, a single dose of bovine fetuin was administrated intra-articularly, intra-operatively. Both groups were examined for 8 weeks. The levels of interleukins, bone morphogenetic proteins, Fetuin-A and C-Reactive Protein were evaluated by ELISA of peripheral blood in three time periods: preoperatively, 5 and 8 weeks post-operatively. Osteoarthritic lesions of the knee were classified according to the Osteoarthritis Research Society International Grading System and the Modified Mankin Score, by histologic examination.

Results: IL-2 levels were significantly decreased in the Fetuin Group. No statistical difference was signed on the levels of IL-7, BMP-2,4,7 and Fetuin-A between the two groups. CRP levels were significantly increased in the Fetuin Group in 5 weeks of the

experiment. Fetuin Group signed better scores according to the OARSI classification system and Modified Mankin Score, without any statistical significance.

Conclusions: Intra-articular administration of Fetuin-A restrictively affected the progression of post-traumatic arthritis in rats, as only the levels of IL-2 were decreased as well as limited osteoarthritic lesions were observed on the Fetuin Group.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Goldring SR, Goldring MB. Clinical aspects, pathology and pathophysiology of osteoarthritis. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2006; 6: 376-378 [PMID: 17185832]
2. Hulejová H, Baresová V, Klézl Z, Polanská M, Adam M, Senolt L. Increased level of cytokines and matrix metalloproteinases in osteoarthritic subchondral bone. *Cytokine* 2007; 38: 151-156 [PMID: 17689092 DOI: 10.1016/j.cyto.2007.06.001]
3. Attur M, Krasnokutsky-Samuels S, Samuels J, Abramson SB. Prognostic biomarkers in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2013; 25: 136-144 [PMID: 23169101 DOI: 10.1097/BOR.0b013e32835a9381]
4. Suzuki T, Bessho K, Segami N, Nojima T, Iizuka T. Bone morphogenetic protein-2 in temporomandibular joints with internal derangement. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999; 88: 670-673 [PMID: 10625847]
5. Goldring MB. Update on the biology of the chondrocyte and new approaches to treating cartilage diseases. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2006; 20: 1003-1025 [PMID: 16980220 DOI: 10.1016/j.berh.2006.06.003]

6. Chubinskaya S, Hurtig M, Rueger DC. OP-1/BMP-7 in cartilage repair. *Int Orthop* 2007; 31: 773-781 [PMID: 17687553 DOI: 10.1007/s00264-007-0423-9]
7. Luyten FP. Mesenchymal stem cells in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2004; 16: 599-603 [PMID: 15314501]
8. Alibilia JB, Tenenbaum HC, Clokie CM, Walt DR, Baker GI, Psutka DJ, Backstein D, Peel SA. Serum levels of BMP-2, 4, 7 and AHSN in patients with degenerative joint disease requiring total arthroplasty of the hip and temporomandibular joints. *J Orthop Res* 2013; 31: 44-52 [PMID: 22778059 DOI: 10.1002/jor.22182]
9. Funck-Brentano T, Cohen-Solal M. Subchondral bone and osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2015; 27: 420-426 [PMID: 26002035 DOI: 10.1097/BOR.0000000000000181]
10. S.A.Olson, B.D. Furman, V.B. Kraus, J. L. Huebner, F.Guilak
Therapeutic Opportunities to Prevent Post-Traumatic Arthritis: Lessons from the Natural History of Arthritis after Articular Fracture *J Orthop Res*. 2015 September ; 33(9): 1266–1277. doi:10.1002/jor.22940.
11. Sandell L, Aigner T. Articular cartilage and changes in arthritis. An introduction: cell biology of osteoarthritis. *Arthritis Res*. 2001 doi:10.1186/ar148.

12. P Im HJ, Muddasani P, Natarajan V, Schmid TM, Block JA, Davis F, van Wijnen AJ, et al. Basic Fibroblast Growth Factor Stimulates Matrix Metalloproteinase-13 via the Molecular Cross-talk between the Mitogen-activated Protein Kinases and Protein Kinase C Pathways in Human Adult Articular Chondrocytes. *Journal of Biological Chemistry*. 2007; 282(15):11110–11121. doi: 10.1074/jbc.M609040200. [PubMed: 17311929]

13. Lucic, D., Mollenhauer, J., Kilpatrick, K.E., and Cole, A.A.
N-telopeptide of type II collagen interacts with annexin V on human chondrocytes. *Connect Tissue Res* 44, 225, 2003.

14. Homandberg, G.A., Meyers, R., and Xie, D.L. Fibronectin fragments cause chondrolysis of bovine articular cartilage slices in culture. *J Biol Chem* 267, 3597, 1992.

15. Brenn D, Richter F, Schaible H. Sensitization of unmyelinated sensory fibers of the joint nerve to mechanical stimuli by interleukin- 6 in the rat: An inflammatory mechanism of joint pain. *Arthritis Rheum*. 2007 doi:10.1002/art.22282.

16. Read S. Future targets to control osteoarthritis pain. *Arthritis Res. Ther*. 2007

17. Im HJ, Muddasani P, Natarajan V, Schmid TM, Block JA, Davis F, van Wijnen AJ, Loeser RF.

Basic Fibroblast Growth Factor Stimulates Matrix Metalloproteinase-13 via the Molecular Crosstalk between the Mitogen-activated Protein Kinases and Protein

Kinase C Pathways in Human Adult Articular Chondrocytes. *Journal of Biological Chemistry*. Feb.2007 vol. 282(no. 15): 11110–11121. doi:10.1074/jbc.M609040200. [PubMed: 17311929]

18. Bär KJ, Natura G, Telleria-Diaz A, Teschner P, Vogel R, Vasquez E, Schaible HG, et al. Changes in the effect of spinal prostaglandin E2 during inflammation: prostaglandin E (EP1– EP4) receptors in spinal nociceptive processing of input from the normal or inflamed knee joint.

The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience. 2004; 24(3): 642–651. doi:10.1523/JNEUROSCI.0882-03.2004. [PubMed: 14736850]

19. Li X, Ellman MB, Kroin JS, Chen D, Yan D, Mikecz K, Ranjan Kc, et al. Species-specific biological effects of FGF-2 in articular cartilage: Implication for distinct roles within the FGF receptor family. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2012; 113(7):2532–2542. doi:10.1002/jcb. 24129. [PubMed: 22415882]

20. Im HJ, Muddasani P, Natarajan V, Schmid TM, Block JA, Davis F, van Wijnen AJ, Loeser RF.

Basic Fibroblast Growth Factor Stimulates Matrix Metalloproteinase-13 via the Molecular Crosstalk between the Mitogen-activated Protein Kinases and Protein Kinase C Pathways in Human Adult Articular Chondrocytes. *Journal of Biological Chemistry*. Feb.2007 vol. 282(no. 15): 11110–11121. doi:10.1074/jbc.M609040200. [PubMed: 17311929]

21. Yan D, Chen D, Im HJ. Fibroblast growth factor-2 promotes catabolism via FGFR1-Ras-Raf-MEK1/2-ERK1/2 axis that coordinates with the PKC δ pathway in human articular chondrocytes. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2012
doi:10.1002/jcb.24160.
22. J. L. Crane, X. Cao , Bone marrow mesenchymal stem cells and TGF- β signaling in bone remodeling. *J Clin Invest*. 2014;124(2):466–472. doi:10.1172/JCI70050.
23. Bianco P, et al. The meaning, the sense and the significance: translating the science of mesenchymal stem cells into medicine. *Nat Med*. 2013;19(1):35–42.
24. Kular J, Tickner J, Chim SM, Xu J. An overview of the regulation of bone remodelling at the cellular level. *Clin Biochem*. 2012;45(12):863–873.
25. Yu B, et al. Parathyroid hormone induces differentiation of mesenchymal stromal/stem cells by enhancing bone morphogenetic protein signaling. *J Bone Miner Res*. 2012;27(9):2001–2014.
26. Watson P, Lazowski D, Han V, Fraher L, Steer B, Hodsman A. Parathyroid hormone restores bone mass and enhances osteoblast insulin-like growth factor I gene expression in ovariectomized rats. *Bone*. 1995;16(3):357–365.
27. Wan M, et al. Parathyroid hormone signaling through low-density lipoprotein-related protein 6. *Genes Dev*. 2008;22(21):2968–2979.

28. Dallas SL, Rosser JL, Mundy GR, Bonewald LF. Proteolysis of latent transforming growth factor beta (TGF- β)-binding protein-1 by osteoclasts. A cellular mechanism for release of TGF- β from bone matrix. *J Biol Chem.* 2002;277(24):21352–21360.
29. Tang Y, et al. TGF- β 1-induced migration of bone mesenchymal stem cells couples bone resorption with formation. *Nat Med.* 2009;15(7):757–765.
30. Oreffo RO, Mundy GR, Seyedin SM, Bonewald LF. Activation of the bone-derived latent TGF β complex by isolated osteoclasts. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989;158(3):817–823.
31. Bikle DD, et al. Insulin-like growth factor I is required for the anabolic actions of parathyroid hormone on mouse bone. *J Bone Miner Res.* 2002; 17(9):1570–1578.
32. Canalis E, Centrella M, Burch W, McCarthy TL. Insulin-like growth factor I mediates selective anabolic effects of parathyroid hormone in bone cultures. *J Clin Invest.* 1989;83(1):60–65.
33. Lombardi G, Di SC, Vuolo L, Guerra E, Scarano E, Colao A. Role of IGF-I on PTH effects on bone. *J Endocrinol Invest.* 2010;33(7 suppl):22–26
34. Terauchi M, et al. T lymphocytes amplify the anabolic activity of parathyroid hormone through Wnt10b signaling. *Cell Metab.* 2009;10(3):229–240.

35. Prisby R, et al. Intermittent PTH(1-84) is osteoanabolic but not osteoangiogenic and relocates bone marrow blood vessels closer to bone-forming sites. *J Bone Miner Res.* 2011;26(11):2583–2596
36. Bellido T, Ali AA, Gubrij I, Plotkin LI, Fu Q, O'Brien CA, Manolagas SC, et al. Chronic elevation of PTH in mice reduces expression of sclerostin by osteocytes: a novel mechanism for hormonal control of osteoblastogenesis. *Endocrinology.* 2005; 146:4577–4583. [PubMed: 16081646]
37. Wang L, Ciani C, Doty SB, Fritton SP. Delineating bone's interstitial fluid pathway in vivo. *Bone.* 2004; 34:499–509. [PubMed: 15003797]
38. Poole KE, Van Bezooijen RL, Loveridge N, Hamersma H, Papapoulos SE, Lowik CW, Reeve J. Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation. *FASEB J.* 2005; 19:1842–1844. [PubMed: 16123173]
39. Van Bezooijen RL, Roelen BA, Visser A, Wee-Pals L, de Wilt E, Karperien M, Hamersma H, et al. Sclerostin is an osteocyte-expressed negative regulator of bone formation, but not a classical BMP antagonist. *J Exp Med.* 2004; 199:805–814. [PubMed: 15024046]
40. Winkler DG, Sutherland MK, Geoghegan JC, Yu C, Hayes T, Skonier JE, Shpektor D, et al. Osteocyte control of bone formation via sclerostin, a novel BMP antagonist. *EMBO J.* 2003; 22:6267–6276. [PubMed: 14633986]

41. Nakashima T, Hayashi M, Fukunaga T, Kurata K, Oh-hora M, Feng JQ, Bonewald LF, et al. Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression. *Nat Med.* 2011; 17:1231–1234. [PubMed: 21909105]
42. Honma M, Ikebuchi Y, Kariya Y, Hayashi M, Hayashi N, Aoki S, Suzuki H. RANKL subcellular trafficking and regulatory mechanisms in osteocytes. *J Bone Miner Res.* 2013
43. Manolagas SC, Parfitt AM. What old means to bone. *Trends Endocrinol Metab.* 2010; 21:369–374. [PubMed: 20223679]
44. Manolagas SC. From Estrogen-Centric to Aging and Oxidative Stress: A Revised Perspective of the Pathogenesis of Osteoporosis. *Endocr Rev.* 2010; 31:266–300. [PubMed: 20051526]
45. Weinstein RS, Wan C, Liu Q, Wang Y, Almeida M, O'Brien CA, Thostenson J, et al. Endogenous glucocorticoids decrease skeletal angiogenesis, vascularity, hydration, and strength in 21-month-old mice. *Aging Cell.* 2009; 9:147–161. [PubMed: 20047574]
46. T. Bellido, Osteocyte-Driven Bone Remodeling *Calcif Tissue Int.* 2014 January; 94(1): 25–34. doi:10.1007/s00223-013-9774-y.

47. Brown TD, Johnston RC, Saltzman CL, Marsh JL, Buckwalter JA. Posttraumatic osteoarthritis: a first estimate of incidence, prevalence, and burden of disease. *J Orthop Trauma*. 2006; 20:739–744. [PubMed: 17106388]
48. Dare D, Rodeo S. Mechanisms of post-traumatic osteoarthritis after ACL injury. *Curr Rheumatol Rep*. 2014; 16:448. [PubMed: 25182676]
49. Englund M, Guermazi A, Roemer FW, Aliabadi P, Yang M, Lewis CE, et al. Meniscal tear in knees without surgery and the development of radiographic osteoarthritis among middle-aged and elderly persons: The Multicenter Osteoarthritis Study. *Arthritis Rheum*. 2009; 60:831–839. [PubMed: 19248082]
50. Anderson DD, Marsh JL, Brown TD. The pathomechanical etiology of post-traumatic osteoarthritis following intraarticular fractures. *Iowa Orthop J*. 2011; 31:1–20. [PubMed: 22096414]
51. Bigoni M, Sacerdote P, Turati M, Franchi S, Gandolla M, Gaddi D, et al. Acute and late changes in intraarticular cytokine levels following anterior cruciate ligament injury. *J Orthop Res*. 2013; 31:315–321. [PubMed: 22886741]
52. Irie K, Uchiyama E, Iwaso H. Intraarticular inflammatory cytokines in acute anterior cruciate ligament injured knee. *Knee*. 2003; 10:93–96. [PubMed: 12649034]

53. Harkey MS, Luc BA, Golightly YM, Thomas AC, Driban JB, Hackney AC, et al. Osteoarthritis-related biomarkers following anterior cruciate ligament injury and reconstruction: a systematic review. *Osteoarthritis Cartilage*. 2015; 23:1–12. [PubMed: 25219671]
54. Marks PH, Donaldson ML. Inflammatory cytokine profiles associated with chondral damage in the anterior cruciate ligament-deficient knee. *Arthroscopy*. 2005; 21:1342–1347. [PubMed: 16325085]
55. Elsaid KA, Fleming BC, Oksendahl HL, Machan JT, Fadale PD, Hulstyn MJ, et al. Decreased lubricin concentrations and markers of joint inflammation in the synovial fluid of patients with anterior cruciate ligament injury. *Arthritis Rheum*. 2008; 58:1707–1715. [PubMed: 18512776]
56. Gregory MH, Capito N, Kuroki K, Stoker AM, Cook JL, Sherman SL. A review of translational animal models for knee osteoarthritis. *Arthritis*. 2012; 2012:764621. [PubMed: 23326663]
57. Goetz JE, Fredericks D, Petersen E, Rudert MJ, Baer T, Swanson E, et al. A clinically realistic large animal model of intra-articular fracture that progresses to post-traumatic osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2015
58. Kamekura S, Hoshi K, Shimoaka T, Chung U, Chikuda H, Yamada T, et al. Osteoarthritis development in novel experimental mouse models induced by knee joint instability. *Osteoarthritis Cartilage*. 2005; 13:632–641. [PubMed: 15896985]

59. Huebner KD, Shrive NG, Frank CB. New surgical model of post-traumatic osteoarthritis: isolated intra-articular bone injury in the rabbit. *J Orthop Res.* 2013; 31:914–920. [PubMed: 23423824]
60. Clockaerts S, Bastiaansen-Jenniskens YM, Runhaar J, Van Osch GJ, Van Offel JF, Verhaar JA, et al. The infrapatellar fat pad should be considered as an active osteoarthritic joint tissue: a narrative review. *Osteoarthritis Cartilage.* 2010; 18:876–82. [PubMed: 20417297]
61. Haslauer CM, Elsaid KA, Fleming BC, Proffen BL, Johnson VM, Murray MM. Loss of extracellular matrix from articular cartilage is mediated by the synovium and ligament after anterior cruciate ligament injury. *Osteoarthritis Cartilage.* 2013; 21:1950–1957. [PubMed: 24036379]
62. Attia E, Brown H, Henshaw R, George S, Hannafin JA. Patterns of gene expression in a rabbit partial anterior cruciate ligament transection model: the potential role of mechanical forces. *Am J Sports Med.* 2010; 38:348–356. [PubMed: 19966107]
63. Nagai T, Sato M, Kobayashi M, Yokoyama M, Tani Y, Mochida J. Bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, inhibits osteoarthritis. *Arthritis Res Ther.* 2014; 16:427. [PubMed: 25230745]
64. Tang Z, Yang L, Xue R, Zhang J, Wang Y, Chen PC, et al. Differential expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in anterior

cruciate ligament and medial collateral ligament fibroblasts after a mechanical injury: involvement of the p65 subunit of NF-kappaB. *Wound Repair Regen.* 2009; 17:709–716. [PubMed: 19769723]

65. Felson DT, Anderson JJ, Naimark A, Walker AM, Meenan RF. Obesity and knee osteoarthritis. The Framingham Study. *Ann Intern Med.* 1988; 109:18–24. [PubMed: 3377350]

66. Berenbaum F, Eymard F, Houard X. Osteoarthritis, inflammation and obesity. *Curr Opin Rheumatol.* 2013; 25:114–8. [PubMed: 23090672]

67. Conde J, Scotece M, López V, Gómez R, Lago F, Pino J, et al. Adiponectin and leptin induce VCAM-1 expression in human and murine chondrocytes. *PLoS One.* 2012; 7:e52533. [PubMed: 23285079]

68. You T, Nicklas BJ. Chronic inflammation: role of adipose tissue and modulation by weight loss. *Curr Diabetes Rev.* 2006; 2:29–37. [PubMed: 18220615]

69. Beavers KM, Beavers DP, Newman JJ, Anderson AM, Loeser RF Jr, Nicklas BJ, et al. Effects of total and regional fat loss on plasma CRP and IL-6 in overweight and obese, older adults with knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2015; 23:249–56. [PubMed: 25450847]

70. Griffin TM, Fermor B, Huebner JL, Kraus VB, Rodriguiz RM, Wetsel WC, et al. Diet-induced obesity differentially regulates behavioral, biomechanical, and

molecular risk factors for osteoarthritis in mice. *Arthritis Res Ther.* 2010; 12:R130.

[PubMed: 20604941]

71. Caron JP, Fernandes JC, Martel-Pelletier J, Tardif G, Mineau F, Geng C, et al.

Chondroprotective effect of intraarticular injections of interleukin-1 receptor antagonist in experimental osteoarthritis.

72. Goodrich LR, Phillips JN, McIlwraith CW, Foti SB, Grieger JC, Gray SJ, et al.

Optimization of scAAVIL-1ra In Vitro and In Vivo to Deliver High Levels of Therapeutic Protein for Treatment of Osteoarthritis. *Mol Ther Nucleic Acids.* 2013; 2:e70. [PubMed: 23385523]

73. Frisbie DD, Ghivizzani SC, Robbins PD, Evans CH, McIlwraith CW. Treatment of experimental equine osteoarthritis by in vivo delivery of the equine interleukin-1 receptor antagonist gene. *Gene Ther.* 2002; 9:12–20. [PubMed: 11850718]

74. Glasson SS. In vivo osteoarthritis target validation utilizing genetically-modified mice. *Curr Drug Targets.* 2007; 8:367–376. [PubMed: 17305514]

75. Furman BD, Strand J, Hembree WC, Ward BD, Guilak F, Olson SA. Joint degeneration following closed intraarticular fracture in the mouse knee: a model of posttraumatic arthritis. *J Orthop Res.* 2007; 25:578–592. [PubMed: 17266145]

76. Furman BD, Mangiapani DS, Zeitler E, Bailey KN, Horne PH, Huebner JL, et al. Targeting pro-inflammatory cytokines following joint injury: acute intra-articular

inhibition of interleukin-1 following knee injury prevents post-traumatic arthritis.

Arthritis Res Ther. 2014; 16:R134. [PubMed: 24964765]

77. Zhang X, Mao Z, Yu C. Suppression of early experimental osteoarthritis by gene transfer of interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-10. J Orthop Res. 2004; 22:742–750. [PubMed: 15183429]

78. Chevalier X, Goupille P, Beaulieu AD, Burch FX, Bensen WG, Conrozier T, et al. Intraarticular injection of anakinra in osteoarthritis of the knee: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study. Arthritis Rheum. 2009; 61:344–352. [PubMed: 19248129]

79. Kraus VB, Birmingham J, Stable TV, Feng S, Taylor DC, Moorman CT 3rd, et al. Effects of intraarticular IL1-Ra for acute anterior cruciate ligament knee injury: a randomized controlled pilot trial (NCT00332254). Osteoarthritis Cartilage. 2012; 20:271–278. [PubMed: 22273632]

80. Honorati MC, Meliconi R, Pulsatelli L, Cane S, Frizziero L, Facchini A. High in vivo expression of interleukin-17 receptor in synovial endothelial cells and chondrocytes from arthritis patients. Rheumatology (Oxford). 2001; 40:522–527. [PubMed: 11371660]

81. Honorati MC, Bovara M, Cattini L, Piacentini A, Facchini A. Contribution of interleukin 17 to human cartilage degradation and synovial inflammation in osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage. 2002; 10:799–807. [PubMed: 12359166]

82. J Lieberthal, N Sambamurthy, C R. Scanzello, Inflammation in Joint Injury and Post-Traumatic Osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2015 November ; 23(11): 1825–1834. doi:10.1016/j.joca.2015.08.015.
83. Ehrnthaller C, Ignatius A, Gebhard F, Huber-Lang M. New insights of an old defense system: structure, function, and clinical relevance of the complement system. *Mol Med*. 2011; 17:317–329. [PubMed: 21046060]
84. Cantatore FP, Benazzo F, Ribatti D, Lapadula G, D'Amico S, Tursi A, et al. Early alteration of synovial membrane in osteoarthrosis. *Clin Rheumatol*. 1988; 7:214–219. [PubMed: 3046827]
85. Rosenthal AK, Gohr CM, Ninomiya J, Wakim BT. Proteomic analysis of articular cartilage vesicles from normal and osteoarthritic cartilage. *Arthritis Rheum*. 2011; 63:401–411. [PubMed: 21279997]
86. Gobezie R, Kho A, Krastins B, Sarracino DA, Thornhill TS, Chase M, et al. High abundance synovial fluid proteome: distinct profiles in health and osteoarthritis. *Arthritis Res Ther*. 2007; 9:R36. [PubMed: 17407561]
87. Suresh R, Mosser DM. Pattern recognition receptors in innate immunity, host defense, and immunopathology. *Adv Physiol Educ*. 2013; 37:284–291. [PubMed: 24292903]

88. Klune JR, Billiar TR, Tsung A. HMGB1 preconditioning: therapeutic application for a danger signal? *J Leukoc Biol.* 2008; 83:558–563. [PubMed: 17938274]
89. Ehrchen JM, Sunderkotter C, Foell D, Vogl T, Roth J. The endogenous Toll-like receptor 4 agonist S100A8/S100A9 (calprotectin) as innate amplifier of infection, autoimmunity, and cancer. *J Leukoc Biol.* 2009; 86:557–566. [PubMed: 19451397]
90. Goh FG, Piccinini AM, Krausgruber T, Udalova IA, Midwood KS. Transcriptional regulation of the endogenous danger signal tenascin-C: a novel autocrine loop in inflammation. *J Immunol.* 2010; 184:2655–2662. [PubMed: 20107185]
91. Lees S, Golub SB, Last K, Zeng W, Jackson DC, Sutton P, et al. Bioactivity in an Aggrecan 32-mer Fragment Is Mediated via Toll-like Receptor 2. *Arthritis Rheumatol.* 2015; 67:1240–1249. [PubMed: 25707860]
92. Mahler EA, Zweers MC, van Lent PL, Blom AB, van den Hoogen FH, van den Berg WB, et al. Association between serum levels of the proinflammatory protein S100A8/A9 and clinical and structural characteristics of patients with established knee, hip, and hand osteoarthritis. *Scand J Rheumatol.* 2015; 44:56–60. [PubMed: 25179566]
93. van Lent PL, Blom AB, Schelbergen RF, Sloetjes A, Lafeber FP, Lems WF, et al. Active involvement of alarmins S100A8 and S100A9 in the regulation of synovial

activation and joint destruction during mouse and human osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2012; 64:1466–1476. [PubMed: 22143922]

94. Schelbergen RF, Blom AB, van den Bosch MH, Sloetjes A, Abdollahi-Roodsaz S, Schreurs BW, et al. Alarmins S100A8 and S100A9 elicit a catabolic effect in human osteoarthritic chondrocytes that is dependent on Toll-like receptor 4. *Arthritis Rheum.* 2012; 64:1477–1487. [PubMed: 22127564]

95. Sofat N, Robertson SD, Hermansson M, Jones J, Mitchell P, Wait R. Tenascin-C fragments are endogenous inducers of cartilage matrix degradation. *Rheumatol Int.* 2011

96. Patel L, Sun W, Glasson SS, Morris EA, Flannery CR, Chockalingam PS. Tenascin-C induces inflammatory mediators and matrix degradation in osteoarthritic cartilage. *BMC Musculoskelet Disord.* 2011; 12:164. [PubMed: 21762512]

97. Nasi S, Ea HK, Chobaz V, van Lent P, Liote F, So A, et al. Dispensable role of myeloid differentiation primary response gene 88 (MyD88) and MyD88-dependent toll-like receptors (TLRs) in a murine model of osteoarthritis. *Joint Bone Spine.* 2014; 81:320–324. [PubMed: 24703622]

98. Przepiera-Będzak H, Fischer K, Brzosko M. Serum Interleukin-18, Fetuin-A, Soluble Intercellular Adhesion Molecule-1, and Endothelin-1

in Ankylosing Spondylitis, Psoriatic Arthritis, and SAPHO Syndrome. *Int J Mol Sci* 2016; 17: [PMID: 27527149 DOI: 10.3390/ijms17081255]

99. Dabrowska AM, Tarach JS, Wojtysiak-Duma B, Duma D. Fetuin-A (AHSG) and its usefulness in clinical practice. Review of the literature.

Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub 2015;

159: 352-359 [PMID: 25916279 DOI: 10.5507/bp.2015.018]

100. E Pappa, D S Perrea, S Pneumaticos, V S Nikolaou. Role of fetuin A in the diagnosis and treatment of joint arthritis. *World J Orthop* 2017 June 18; 8(6): 461-464. DOI: 10.5312/wjo.v8.i6.461

101. Pedersen K. Fetuin, a new globin isolated from serum. *Nature* 1944:575-570 [DOI: 10.1038/154575a0]

102. Wang H, Sama AE. Anti-inflammatory role of fetuin-A in injury and infection. *Curr Mol Med* 2012; 12: 625-633 [PMID: 22292896]

103. S Y Park, S Lee, H Y Kim, W S Lee, K W Hong, C D Kim . HMGB1 induces angiogenesis in rheumatoid arthritis via HIF-1 α activation. *Eur. J. Immunol.* 2015. 45: 1216–1227. DOI: 10.1002/eji.201444908

104. Mitola, S., Belleri, M., Urbinati, C., Coltrini, D., Sparatore, B., Pedrazzi, M. Melloni, E. et al., Cutting edge: extracellular high mobility group box-protein is a proangiogenic cytokine. *J. Immunol.* 2006. 176: 12–15.

105. van Beijnum, J. R., Buurman, W. A. and Griffioen, A.W., Convergence and amplification of toll-like receptor (TLR) and receptor for advanced glycation end products (RAGE) signaling pathways via high mobility group B1 (HMGB1). *Angiogenesis* 2008. 11: 91–99.
106. Wařhařmaa, H., Schierbeck, H., Hreggvidsdottir, H. S., Palmblad, K., Aveberger, A-C., Andersson, U. and Harris, H. E., High mobility group box protein 1 in complex with lipopolysaccharide or IL-1 promotes an increased inflammatory phenotype in synovial fibroblasts. *Am. Arthritis Res. Ther.* 2011. 13: R136.
107. Park, J. S., Gamboni-Robertson, F., He, Q., Svetkauskaite, D., Kim, J. Y., Strassheim, D., Sohn, J. W. et al., High mobility group box 1 protein interacts with multiple Toll-like receptors. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2006. 290: C917–C924.
108. Albilal JB, Tenenbaum HC, Clokie CM, Walt DR, Baker GI, Psutka DJ, Backstein D, Peel SA. Serum levels of BMP-2, 4, 7 and AHSG in patients with degenerative joint disease requiring total arthroplasty of the hip and temporomandibular joints. *J Orthop Res* 2013; 31: 44-52 [PMID: 22778059 DOI: 10.1002/jor.22182]
109. Vörös K, Gráf L, Prohászka Z, Gráf L, Szenthe P, Kaszás E, Böröcz Z, Cseh K, Kalabay L. Serum fetuin-A in metabolic and inflammatory pathways in patients with

myocardial infarction. *Eur J Clin Invest* 2011; 41: 703-709 [PMID: 21226708 DOI: 10.1111/j.1365-2362.2010.02456.x]

110. Ix JH, Shlipak MG, Brandenburg VM, Ali S, Ketteler M, Whooley MA. Association between human fetuin-A and the metabolic syndrome: data from the Heart and Soul Study. *Circulation* 2006; 113: 1760-1767 [PMID: 16567568 DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.588723]

111. Chen HY, Chiu YL, Hsu SP, Pai MF, Lai CF, Peng YS, Kao TW, Hung KY, Tsai TJ, Wu KD. Association of serum fetuin A with truncal obesity and dyslipidemia in non-diabetic hemodialysis patients. *Eur J Endocrinol* 2009; 160: 777-783 [PMID: 19228823 DOI: 10.1530/EJE-08-0813]

112. Lavebratt C, Wahlqvist S, Nordfors L, Hoffstedt J, Arner P. AHSB gene variant is associated with leanness among Swedish men. *Hum Genet* 2005; 117: 54-60 [PMID: 15806395 DOI: 10.1007/s00439-005-1286-z]

113. Laughlin GA, Barrett-Connor E, Cummins KM, Daniels LB, Wassel CL, Ix JH. Sex-specific association of fetuin-A with type 2 diabetes in older community-dwelling adults: the Rancho Bernardo study. *Diabetes Care* 2013; 36: 1994-2000 [PMID: 23315604 DOI: 10.2337/dc12-1870]

114. Ix JH, Wassel CL, Kanaya AM, Vittinghoff E, Johnson KC, Koster A, Cauley JA, Harris TB, Cummings SR, Shlipak MG. Fetuin-A and incident diabetes mellitus in older persons. *JAMA* 2008; 300: 182-188

[PMID: 18612115 DOI: 10.1001/jama.300.2.182]

115. Weikert C, Stefan N, Schulze MB, Pischon T, Berger K, Joost HG, Häring HU, Boeing H, Fritsche A. Plasma fetuin-a levels and the risk of myocardial infarction and ischemic stroke. *Circulation* 2008; 118: 2555-2562 [PMID: 19029462 DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.814418]

116. Zhao ZW, Lin CG, Wu LZ, Luo YK, Fan L, Dong XF, Zheng H. Serum fetuin-A levels are associated with the presence and severity of coronary artery disease in patients with type 2 diabetes. *Biomarkers* 2013; 18: 160-164 [PMID: 23410047 DOI: 10.3109/1354750X.2012. 762806]

117. Mori K, Emoto M, Inaba M. Fetuin-A: a multifunctional protein. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov* 2011; 5: 124-146 [PMID: 22074587]

118. Demetriou M, Binkert C, Sukhu B, Tenenbaum HC, Dennis JW. Fetuin/alpha2-HS glycoprotein is a transforming growth factor-beta type II receptor mimic and cytokine antagonist. *J Biol Chem* 1996; 271: 12755-12761 [PMID: 8662721]

119. van der Kraan PM, van den Berg WB. Osteophytes: relevance and biology. *Osteoarthritis Cartilage* 2007; 15: 237-244 [PMID: 17204437 DOI: 10.1016/j.joca.2006.11.006]

120. So A, Chamot AM, Péclat V, Gerster JC. Serum MMP-3 in rheumatoid arthritis: correlation with systemic inflammation but not with erosive status. *Rheumatology* (Oxford) 1999; 38: 407-410 [PMID: 10371277]

121. Goldring MB. Update on the biology of the chondrocyte and new approaches to treating cartilage diseases. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2006; 20: 1003-1025 [PMID: 16980220 DOI: 10.1016/j.berh.2006.06.003]

122. B. A. Christiansen, F Guilak, K Lockwood, S. A. Olson, A. Pitsillides, L Sandell, M. J. Silva, M van der Meulen, D. R. Haudenschild. Non-Invasive Mouse Models of Post-Traumatic Osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2015 October 23(10): 1627–1638. doi:10.1016/j.joca.2015.05.009

123. B D Furman, D S Mangiapani, E Zeitler, K N Bailey, P H Horne, J L Huebner, V B Kraus, F Guilak, S A Olson. Targeting pro-inflammatory cytokines following joint injury: acute intra-articular inhibition of interleukin-1 following knee injury prevents post-traumatic arthritis. *Arthritis Research & Therapy* 2014, 16:R134 <http://arthritis-research.com/content/16/3/R134>

124. K.A. Kimmerling, B.D. Furman, D.S. Mangiapani, M.A. Moverman, S.M. Sinclair, J.L. Huebner, A. Chilkoti, V.B. Kraus, L.A. Setton, F. Guilak, S.A. Olson. Sustained intra-articular delivery of il-1ra from a thermally-responsive elastin-like polypeptide as a therapy for post-traumatic arthritis. *Eur Cell Mater.* ; 29: 124–140. 2015.

125. S. S. Glasson B.V.Sc.*a, T. J. Blanchet B.S.a and E. A. Morris D.V.M. The surgical destabilization of the medial meniscus (DMM) model of osteoarthritis in the 129/SvEv mouse. *OsteoArthritis and Cartilage* (2007). 15, 1061e1069.

doi:10.1016/j.joca.2007.03.006

126. Zangerle PF¹, De Groote D, Lopez M, Meuleman RJ, Vrindts Y, Fauchet F, Dehart I, Jadoul M, Radoux D, Franchimont P. (1992) Direct stimulation of cytokines (IL-1 beta, TNF-alpha, IL-6, IL-2, IFN-gamma and GM-CSF) in whole blood: II. Application to rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Nov*;4(6):568-75.Cytokine.

127. G.Pongratz, J.Anthofer, M. Melzer, S. Anders, S. Grassel, R. Straub (2014) IL-7 receptor α expressing B cells act proinflammatory in collagen-induced arthritis and are inhibited by sympathetic neurotransmitters. *Ann Rheum Dis* 73:306–312.

128. Chubinskaya S, Hurtig M, Rueger DC. (2007). OP-1/BMP-7 in cartilage repair. *Int Orthop* 31:773–781.

129. Y. Liu, R. Hou, R. Yin, W. Yin. (2015) Correlation of Bone Morphogenetic Protein-2 Levels in Serum and Synovial Fluid with Disease Severity of Knee Osteoarthritis *Med Sci Monit*,; 21: 363-370

130. C. Bramlage, T. Häupl, C. Kaps, U. Ungethüm, V.Krenn, A. Pruss, G Müller, F. Strutz, G. Burmester. (2006) Decrease in expression of bone morphogenetic proteins

4 and 5 in synovial tissue of patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis.

Arthritis Res Ther. 8(3): R58.

131. K. P. H. Pritzker, S. Gay, S. A. Jimenez, K. Ostergaard, J.-P. Pelletier M.D, P. A. Revell, D. Salter, W. B. van den Berg. Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. *OsteoArthritis and Cartilage* (2006) .

14, 13e29. doi:10.1016/j.joca.2005.07.014

132. Pritzker KPH. Pathology of osteoarthritis. In: Brandt KD, Doherty M, Lohmander LS, Eds. *Osteoarthritis*. 2nd edn. Oxford University Press 2003;49e58.

133. Sluijs J. A, Geesink R. G. T., van der Linden A. J., Bulstra S. K, Kuyer R., Drukker J. (1992) The Reliability of the Mankin Score for Osteoarthritis. *Journal of Orthopaedic Research* 10:58-61

134. Kuyinu E, Narayanan G, Nair L, Laurencin C. Animal models of osteoarthritis: classification, update, and measurement of outcomes. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research* (2016) 11:19 DOI 10.1186/s13018-016-0346-5

135. Little CB, Hunter DJ. Post-traumatic osteoarthritis: from mouse models to clinical trials. *Nat Rev Rheumatol.* 2013;9(8):485–97.

136. Lampropoulou-Adamidou K, Lelovas P, Karadimas EV, Liakou C, Triantafillopoulos IK, Dontas I, et al. Useful animal models for the research of osteoarthritis. *Eur J Orthop Surg Traumatol*. 2014;24(3):263–71.
137. Bendele AM. Animal models of osteoarthritis. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2001;1(4):363–76.
138. Man GS, Mologhianu G. Osteoarthritis pathogenesis—a complex process that involves the entire joint. *J Med Life*. 2014;7(1):37–41.
139. Riordan EA, Little C, Hunter D. Pathogenesis of post-traumatic OA with a view to intervention. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2014;28(1):17–30.
140. Wang H, Zhang M, Bianchi M, Sherry B, Sama A, Tracey KJ. Fetuin (alpha2-HS-glycoprotein) opsonizes cationic macrophage-deactivating molecules. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 14429-14434 [PMID: 9826717]
141. Rittenberg B, Partridge E, Baker G, Clokie C, Zohar R, Dennis JW, Tenenbaum HC. Regulation of BMP-induced ectopic bone formation by Ahsg. *J Orthop Res* 2005; 23: 653-662 [PMID: 15885488 DOI: 10.1016/j.orthres.2004.11.010]
142. Wang H, Li W, Zhu S, Li J, Ward MF, Huang Y, Yang H, Tracey KJ, Wang P, Sama AE. Fetuin protects mice against lethal sepsis by modulating bacterial endotoxin induced hmgb1 release and autophagy. *Shock* 2010; 33 (Suppl 1): 1-13

143. Wang H, Zhang M, Soda K, Sama A, Tracey KJ. Fetuin protects the fetus from TNF. *Lancet* 1997; 350: 861-862 [PMID: 9310607 DOI: 10.1016/S0140-6736(05)62030-2]

144. Alibilia JB, Tenenbaum HC, Clokie CM, Walt DR, Baker GI, Psutka DJ, Backstein D, Peel SA. Serum levels of BMP-2, 4, 7 and AHSG in patients with degenerative joint disease requiring total arthroplasty of the hip and temporomandibular joints. *J Orthop Res* 2013; 31: 44-52 [PMID: 22778059 DOI: 10.1002/jor.22182]

145. Seto J, Busse B, Gupta HS, Schafer C, Krauss S, et al. (2012) Accelerated Growth Plate Mineralization and Foreshortened Proximal Limb Bones in Fetuin-A Knockout Mice. *PLoS ONE* 7(10): e47338. doi:10.1371/journal.pone.0047338

146. T Sturmer, H Brenner, W Koenig, K-P Gunther. Severity and extent of osteoarthritis and low grade systemic inflammation as assessed by high sensitivity C reactive protein. *Ann Rheum Dis* 2004;63:200–205. doi: 10.1136/ard.2003.007674

147. V.B. Kraus, B. Burnett, J. Coindreau, S. Cottrell, D. Eyre, M. Gendreau, J. Gardiner, P. Garnero, J. Hardin, Y. Henrotin, D. Heinegård, A. Ko, L.S. Lohmander, G. Matthews, J. Menetski, R. Moskowitz, S. Persiani, A.R. Poole, J.-C. Rousseau, M. Todman Application of biomarkers in the development of drugs intended for the treatment of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage* 19 (2011) 515-542
doi:10.1016/j.joca.2010.08.019

148. E. Hedbom ,H. J. Häuselmann. Molecular aspects of pathogenesis in osteoarthritis: the role of inflammation. *Cell. Mol. Life Sci.* 59 (2002) 45–53 1420-682X/02/010045-09
149. Hogan B. L. (1996) Bone morphogenetic proteins: multifunctional regulators of vertebrate development. *Genes Dev.* 10: 1580–1594
150. Huch K., Wilbrink B., Flechtenmacher J., Koepf H. E., Aydelotte M. B., Sampath T. K. et al. (1997) Effects of recombinant human osteogenic protein 1 on the production of proteoglycan, prostaglandin E₂, and interleukin-1 receptor antagonist by human articular chondrocytes cultured in the presence of interleukin-1beta. *Arthritis Rheum.* 40: 2157–2161
151. Mankin HJ, Dorfman H, Lippiello L, Zarins A. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips, II: correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *J Bone Joint Surg Am.* 1971;53(3): 523-37.
152. Chambers MG, Bayliss MT, Mason RM. Chondrocyte cytokine and growth factor expression in murine osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage.* 1997;5(5):301-8.
153. M.McNulty, R. Loeser, C.Davey, M.Callahan, C. Ferguson, C.Carlson. A Comprehensive Histological Assessment of Osteoarthritis Lesions in Mice *Cartilage* 2(4) 354– 363,2011 DOI: 10.1177/1947603511402665

