

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„VICTOR BABEȘ” DIN TIMIȘOARA
FACULTATEA DE MEDICINĂ
DEPARTMENTUL BIOCHIMIE ȘI FARMACOLOGIE

ILIA IOSIF



TEZĂ DE DOCTORAT

**THE VALUE OF MOLECULAR MARKERS IN BODY FLUIDS IN
THE DIAGNOSIS AND PROGNOSIS OF KNEE
OSTEOARTHRITIS**

Coordonator științific

Prof. Univ. Dr. Catalin Marian

Timișoara

2024

CUPRINS

LISTA ARTICOLELOR PUBLICATE**Error! Bookmark not defined.**

LISTA DE ABREVIERI ȘI SIMBOLURI.....**Error! Bookmark not defined.**

LISTA DE FIGURI**Error! Bookmark not defined.**

DEDICAȚIE**Error! Bookmark not defined.**

INTRODUCERE.....**Error! Bookmark not defined.**

PARTEA GENERALĂ**Error! Bookmark not defined.**

1. OSTEOARTROZA GENUNCULUI- GENERALITĂȚI ȘI ETIOPATOLOGIE.....**Error! Bookmark not defined.**

1.1. Definiție și clasificare**Error! Bookmark not defined.**

1.2. Incidența globală.....**Error! Bookmark not defined.**

1.3. Factorii de risc și patologii asociate osteoartritei genunchiului**Error! Bookmark not defined.**

1.3.1. Fiziopatologia osteoartritei genunchiului**Error! Bookmark not defined.**

2. EVALUAREA ACTIVITĂȚII OSTEOARTRITEI GENUNCHIULUI**Error! Bookmark not defined.**

2.1. Metode de diagnostic.....**Error! Bookmark not defined.**

2.2. Biomarkeri specifici prognosticului și diagnosticului osteoartritei genunchiului **Error! Bookmark not defined.**

3. MANAGEMENTUL OSTEOARTRITEI GENUNCHIULUI**Error! Bookmark not defined.**

3.1. Soluții terapeutice non-invazive**Error! Bookmark not defined.**

3.1.1. Kinetoterapia în cazul osteoartritei genunchiului**Error! Bookmark not defined.**

3.1.2. Terapia medicamentoasă a osteoartritei genunchiului**Error! Bookmark not defined.**

3.2. Intervențiile invazive**Error! Bookmark not defined.**

PARTEA SPECIALĂ**Error! Bookmark not defined.**

4. ADIPONECTINA ÎN OSTEOARTROZĂ: FIZIOPATOLOGIE, RELAȚIA CU OBEZITATEA ȘI POTENȚIALUL DE BIOMARKER DIAGNOSTIC PREZUMPTIV **Error!**

Bookmark not defined.

- 4.1. Introducere **Error! Bookmark not defined.**
- 4.2. Materiale și metode **Error! Bookmark not defined.**
- 4.3. Rezultate și discuții **Error! Bookmark not defined.**
- 4.4. Concluzii..... **Error! Bookmark not defined.**

5. ANALIZA NIVELULUI ADIPONECTINEI ȘI CITOKINELOR SELECTATE LA PACIENȚI CU OSTEOARTROZA GENUNCHIULUI **Error! Bookmark not defined.**

- 5.1. Introducere **Error! Bookmark not defined.**
- 5.2. Materiale și metode **Error! Bookmark not defined.**
- 5.3. Rezultate și discuții **Error! Bookmark not defined.**
- 5.4. Concluzii..... **Error! Bookmark not defined.**

6. EVALUAREA IN VITRO A POTENȚIALULUI ANTITUMORAL A DOUĂ TIPURI DE ACID HIALURONIC ÎN CELULELE DE OSTEOSARCOM **Error! Bookmark not defined.**

- 6.1. Introducere **Error! Bookmark not defined.**
- 6.2. Materiale și metode **Error! Bookmark not defined.**
- 6.3. Rezultate și discuții **Error! Bookmark not defined.**
- 6.4. Concluzii..... **Error! Bookmark not defined.**

CONCLUZII..... **Error! Bookmark not defined.**

ARTICOLE PUBLICATE *IN EXTENSO* **Error! Bookmark not defined.**

Introducere

Osteoartrita genunchiului (KOA) este o boală degenerativă a articulațiilor caracterizată prin degradarea treptată a cartilajului în articulația genunchiului. Este cel mai frecvent tip de artroză, care afectează milioane de oameni din întreaga lume, în special pe cei peste cincizeci de ani [1]. Cauza exactă poate varia de la persoană la persoană, dar în cele din urmă duce la deteriorarea integrității structurale a articulației.

KOA reprezintă aproape 4/5 din totalul de cazuri de artroză la nivel global și crește odată cu vârsta și cu obezitatea [2]. Identificarea precocă a KOA este esențială pentru a institui terapia specifică, respectiv modificări ale stilului de viață, inclusiv pierderea în greutate și efectuarea de exerciții fizice, care s-au dovedit de succes în încetinirea progresiei KOA și prevenirea intervenției chirurgicale [3].

Diagnosticul de KOA se bazează pe datele obținute prin evaluarea clinică și explorări imagistice ale articulațiilor afectate. Amploarea osteoartritei (OA) poate diferi foarte mult de la o persoană la alta, iar o evaluare amănunțită ajută la dezvoltarea unei strategii de tratament personalizate, care poate include medicamente, fizioterapie, modificări ale stilului de viață sau, în situații extreme, proceduri chirurgicale, cum ar fi protezarea articulară. Există cazuri în care unii subiecți prezintă modificări radiologice tipice de KOA, dar fără a asocia simptome semnificative, situație denumită osteoartrită asimptomatică. Cazurile simptomatice implică durere, redoare și afectarea funcționalității articulare.

În plus, severitatea KOA poate fi determinată prin evaluarea gradului de pensare a spațiului articular, folosind sistemul de clasificare Kellgren-Lawrence (K-L) utilizat în mod obișnuit, recunoscut pe scară largă de profesioniștii din domeniul sănătății la nivel global [4-6]. Clasificarea

K-L grupează afecțiunea în 5 categorii (de la 0 la 4), în funcție de gradul de severitate, gradul 0 - fara artroza, gradul 4 reprezentând artroză severă. [7].

Biomarkerii joacă un rol crucial în a ajuta la diagnosticarea, prognosticul și managementul terapeutic al KOA. Sunt substanțe sau indicatori măsurabili prezenți în organism care pot reflecta procese biologice normale sau anormale, stări de boală sau răspunsuri la terapie. Biomarkeri specifici asociați cu KOA au fost identificați în scopuri de diagnostic și prognostic.

Adiponectina (ACRP-30) este o hormon polipeptidic alcătuit din 244 de aminoacizi, asemănătoare collagenului, implicată în modularea metabolismului energetic, cum ar fi oxidarea glucozei și acizilor grași, sensibilitatea la insulină, inflamația și ateroscleroza, fiind cea mai abundentă adipokină circulantă secretată de țesutul adipos [8-10]. ACRP-30 a atras recent atenția datorită asociațiilor sale multifactoriale – genetice, biochimice și funcționale – cu debutul OA legat de obezitate.

Citokinele sunt alte molecule de semnalizare care reglează inflamația, răspunsurile imune și repararea tisulară. În KOA, dezechilibre în expresia anumitor citokine contribuie la inițierea și întreținerea procesului inflamator la nivel articular, degradarea cartilajului și durere. Mai multe citokine sunt implicate în patogeneza OA și servesc ca potențiali biomarkeri pentru diagnosticul și monitorizarea bolii. Măsurarea nivelurilor de citokine din lichidul sinovial poate ajuta la diagnosticarea KOA și la evaluarea severității bolii.

Ponind de la premisele de mai sus, scopul prezentei lucrări a fost de a face lumină privind rolului biomarkerilor în diagnosticul și prognosticul KOA. Pentru atingerea acestui scop s-au urmărit următoarele obiective:

- investigarea actualităților privind fiziopatologia OA și relația acesteia cu adiponectina;
- analiza biomarkerilor specifici precum adiponectina, interleukina (IL) 10, factorul de necroză tumorală alfa (TNF- α) și IL-6 la pacienții cu KOA și corelarea acestora cu datele clinice, modificările radiografice și scorurile compozit WOMAC si VAS raportate de pacienți;
- testarea in vitro a două tipuri de acizi hialuronici, utilizați pe scară largă în managementul KOA, folosind un model experimental pe celule de osteosarcom.

Rezultate

Primul studiu a avut ca scop investigarea actualităților privind fiziopatologia osteoartritei și relația acesteia cu ACRP-30. ACRP-30 a fost implicată în modularea răspunsurilor inflamatorii la nivel articular. Rezultatele au evidențiat funcțiile duale proinflamatorii și catabolice ale ACRP-

30 în dezvoltarea osteoartritei. Poate stimula producția de citokine proinflamatorii, cum ar fi interleukina-IL-6 și TNF- α în condrocite și sinoviocite. Acest efect proinflamator contribuie la degradarea cartilajului și perpetuează cascada inflamatorie caracteristică OA. Dimpotrivă, alte rapoarte arată că ACRP-30 ar putea avea roluri protectoare și antiinflamatorii, prevenind deteriorarea și degradarea cartilajului. Tratamentul cu ACRP-30 în liniile celulare de condrocite a crescut expresia inhibitorului tisular pentru MMP-2 (TIMP-2) și a scăzut expresia genei pentru MMP-13 indusă de IL-1. Mai mult, Hu et al. au demonstrat că ACRP-30 a suferit o degradare lizozomală (autofagie), posibil asociată cu calea de semnalizare AMPK/mTOR prin apoptoza indusă de H₂O₂, având astfel un rol protector în condrocite [11]. Mai mult, pacienții care prezintă niveluri mai mari de ACRP-30 în serul lor par să aibă o rezistență mai lungă la înlocuirea articulației, iar ACRP-30 seric scăzut este corelat cu slăbirea la 10 ani de urmărire pentru artroplastia articulară.

La întrebarea „Poate adiponectina să reprezinte un viitor biomarker de diagnostic pentru OA?” s-a constatat că, în general, nivelurile ACRP-30 sunt crescute în probele pacienților cu OA în comparație cu cele de la martorii sănătoși. Cu toate acestea, trebuie remarcat faptul că semnificația statistică nu a fost obținută în toate cazurile de comparație. Într-un studiu recent s-a observat că nivelurile serice de ACRP-30 au fost semnificativ mai mari în grupul de pacienți în comparație cu subiecții non-OA și că gradul OA s-a corelat cu nivelurile de MMP-3 și leptina. În plus, autorii au legat severitatea OA cu expresia adipokinelor și au demonstrat că concentrația de adiponectină a fost corelată pozitiv cu indicele de creștere a rigidității arteriale [12]. Pe de altă parte, un studiu nu a găsit nicio semnificație statistică în expresia diferențială a adiponectinei la pacienții cu OA față de martori, dar a descoperit, în schimb, că nivelurile de ACRP-30 au fost remarcabil mai mari în plasmă față de lichidul sinovial pereche ($p < 0,001$), și s-a corelat negativ cu severitatea OA măsurată prin sistemul de gradare K-L, sugerând un rol protector al adiponectinei în OA [13].

Următorul studiu și-a propus să analizeze biomarkeri specifici, cum ar fi ACRP-30, IL10, TNF- α și IL-6 în lichidul sinovial (SF) și să le coreleze cu datele clinice ale pacienților cu KOA, modificările radiografice și măsurile de rezultat raportate de pacient (PROM). În plus, a fost analizat potențialul iritant al fluidului de pe membrana ou-corioalantoidiană pentru a identifica interferențe cu procesele hemoragice.

Lotul studiat a fost format din 24 de pacienți care respectă criteriile de includere, cu o distribuție apropiată a ambelor sexe, 10 bărbați (41,7%) și 14 femei (58,3%). Vârsta medie a fost

de 67 de ani, iar indicele de masa corporală (IMC) indică faptul că majoritatea subiecților implicați erau supraponderali (Tabelul 1). Scorul K–L calculat arată că majoritatea pacienților prezintă KOA de gradul 2/3, cu posibilă îngustare a spațiului articular, osteofite multiple moderate, scleroză și eventuale deformări ale capetelor osoase. În plus, majoritatea subiecților manifestă durere moderată, dar redoare semnificativă. Scorul funcțional evidențiază faptul că activitățile vieții zilnice (ADL) sunt moderat afectate. Subscala durerii WOMAC și scala analogă vizuală (VAS) evidențiază durere și disconfort moderate similare în majoritatea cazurilor.

Tabelul 1. Caracteristicile demografice și clinice ale lotului studiat.

Variabile	Medie \pm SD sau N(%)	Minimum	Maximum
Număr de pacienți	24		
Sex (bărbați/femei)	10(41.7%)/14(58.3%)		
Vârstă (ani)	67 \pm 10.08	51	87
BMI	28.21 \pm 3.47	24	35
Kellgren–Lawrence scor	2.292 \pm 1.16	0	4
Subscal WOMAC de durere	5.625 \pm 2.7	2	12
Subscala WOMAC de rigiditate	1.917 \pm 1.06	0	3
Subscala funcției fizice WOMAC	20.21 \pm 6.77	9	33
Total WOMAC scor	28.04 \pm 10.2	12	47
VAS scor	5.83 \pm 1.71	3	9

Valoriile medii ale nivelurilor de ACRP-30 (ng/mL), IL-6 (pg/ μ L), IL-10 (ng/ μ L) și TNF- α (pg/mL) sunt prezentate în Tabelul 2.

Tabelul 2. Concentrațiile biomarkerilor studiați în lichidul sinovial.

Variabile	Medie\pmSD sau N (%)	Minimum	Maximum
------------------	--	----------------	----------------

ACRP-30	3420±1219	1046	6943
IL-6	1518±762.4	11.68	18364
IL-10	6.327±10.83	0.1	50.18
TNF-α	7.15±3.24	3.52	17.48

La compararea caracteristicilor demografice și clinice ale lotului studiat cu biomarkerii detectați în SF a pacienților (Tabelul 3), s-au găsit corelații negative între vârstă și ACRP-30 ($p=0,0451$, $r=-0,412$), înaintarea în vârstă fiind asociată cu o reducere a nivelului de adiponectină. De asemenea, valorile IL-10 sunt mai mici în cazurile în care intensitatea durerii este mai pronunțată ($p=0,041$, $r=-0,421$). IMC a fost, de asemenea, asociat cu reducerea ambelor interleukine testate ($p=0,168$ pentru IL-6 și $p=0,104$ pentru IL-10). Redoarea articulară a fost legată de reducerea IL-10 ($p=0,15$, $r=-0,302$).

Tabelul 3. Corelarea caracteristicilor demografice și clinice cu biomarkerii.

Variabile	Vârstă (ani)	BMI	Kellgren– Lawrence Scor	Scala WOMAC				
				Durere	Rigiditate	ADL scor	WOMAC total	VAS scor
ACRP-30	-0.412	-0.056	-0.122	-0.216	-0.13	-0.025	-0.093	-0.09
	0.045*	0.792	0.567	0.309	0.542	0.904	0.663	0.675
IL-6	0.023	-0.29	0.127	-0.24	-0.116	0.001	-0.095	-0.067
	0.912	0.168	0.553	0.258	0.588	0.993	0.658	0.752
IL-10	-0.457	-0.339	-0.105	-0.421	-0.302	-0.198	-0.247	-0.213
	0.832	0.104	0.622	0.041*	0.15	0.374	0.242	0.317

	0.04	-0.038	0.193	-0.06	-0.023	0.11	0.054	0.148
TNF- α	0.85	0.857	0.365	0.779	0.913	0.605	0.8	0.488

Valorile semnificative statistic sunt marcate cu *, după cum urmează: * $p < 0.1$.

La analiza interdependenței biomarkerilor monitorizați s-au obținut corelații pozitive între ACRP-30 și IL-6, nivelurile de adiponectină fiind asociate cu nivelurile crescute a IL-6 ($p=0,045$, $r=0,413$). Valorile crescute ale IL-6 au fost, de asemenea, asociate cu creșterea semnificativă a valorilor IL-10 ($p=3,42e-07$, $r=0,837$) (Tabelul 4).

Tabelul 4. Corelația biomarkerilor în SF.

Variable	ACRP-30	IL-6	IL-10	TNF- α
ACRP-30				
	0.413			
IL6	0.045*			

Valorile	IL10	0.297	0.837	
		0.158	<0.001****	
	TNFa	0.181	0.229	0.249
		0.398	0.281	0.24

semnificative statistic sunt marcate cu *, după cum urmează: * $p < 0.1$, **** $p < 0.0001$.

Următorul pas al studiului a fost stratificarea pacienților după sex, pentru a identifica unele caracteristici specifice bărbaților/femeilor. Corelațiile datelor sunt prezentate în figurile 1 și 2. În cazul ambelor sexe, vârsta este corelată pozitiv cu subscala WOMAC durere, subscala WOMAC rigiditate, WOMAC ADL și scorurile totale WOMAC. Durerea este asociată și cu vârsta în ambele cazuri ($p = 0,0439$ în cazul bărbaților și $0,0417$ în cazul femeilor). Totuși în cazul bărbaților, redoarea este mai mult legată de vârstă ($p = 0,0079$, $r = 0,7993$), comparativ cu femeile ($p = 0,0203$, $r = 0,6223$).

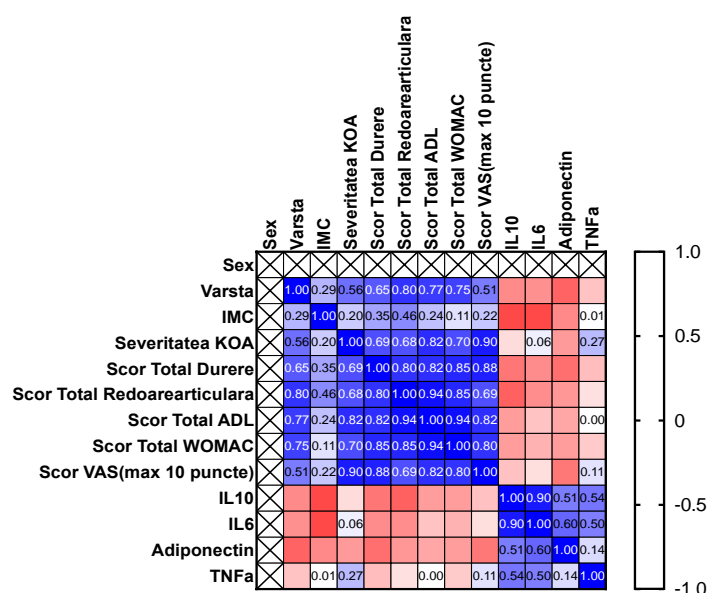


Figura 1. Matricea de corelație Spearman a caracteristicilor demografice, clinice și biomarkerilor găsiți la bărbați.

Severitatea KOA este corelată pozitiv cu scorul subscalei durerii WOMAC, cu rigiditatea, scorurile ADL, VAS și scorul total WOMAC; cu toate acestea, conform scorului K–L, progresia bolii tinde să se coreleze mai intens cu valorile scorului total WOMAC în cazul femeilor ($p = 0,0003$, $r = 0,8342$) (Figura 2), comparativ cu bărbații ($p = 0,0289$, $r = 0,7013$) (Figura 1).

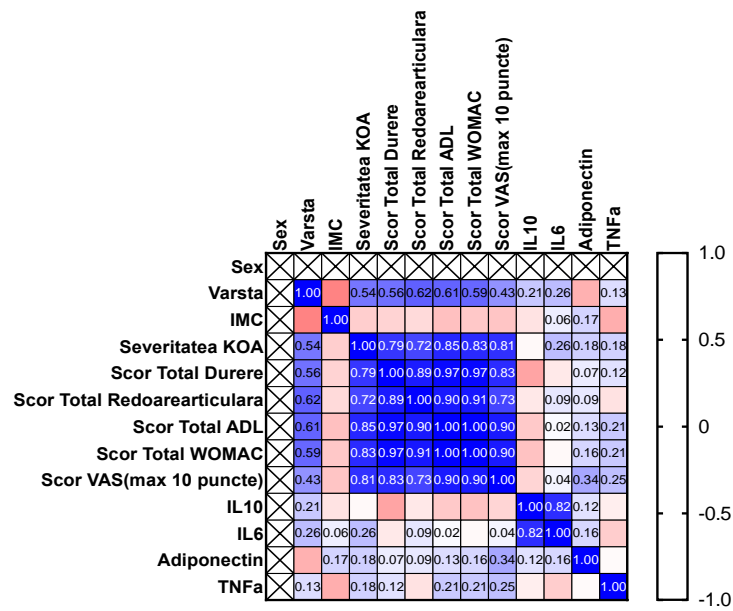


Figura 2. Matricea de corelație Spearman a caracteristicilor demografice, clinice și biomarkerilor găsiți la femei.

Prin metoda HET-CAM au fost monitorizate trei efecte majore la nivelul plexului vascular: hemoragia, liza vasculară și coagularea vasculară, pentru a determina potențialul iritant al celor două probe de lichid sinovial - P23 și P24. Ambele probe au fost recoltate cu ajutorul ecografului ESAOTE MyLab Omega, imediat după evaluarea clinică pentru a confirma revărsatul articular precum și pentru a ghida aspirația lichidului. P23 reprezintă SF colectat de la un bărbat cu un grad 2 de KOA. P24 a fost recoltat de la o femeie cu gradul 4 de KOA. În plus, a fost folosit un control negativ - apă - și un control pozitiv - dodecil sulfat de sodiu 1% - pentru a facilita interpretarea rezultatelor. Conform scorului de iritare calculat, SDS a avut cel mai mare scor de iritare (19,57), în timp ce apa a avut cel mai mic scor de iritare (0,07). P23 și P24 au avut scoruri de iritare relativ similare, 0,72 pentru P23 și 0,82 pentru P24 (Tabelul 5). În plus, SDS a indus hemoragie masivă, precum și liză vasculară și coagulare la nivelul membranei corioalantoice. În schimb, cele două probe nu au indus modificări semnificative, observându-se doar o ușoară liză și stază vasculară (Figura 3). Cu toate acestea, în cazul P24, se observă o ușoară reducere a timpului de liză și coagulare, comparativ cu p23.

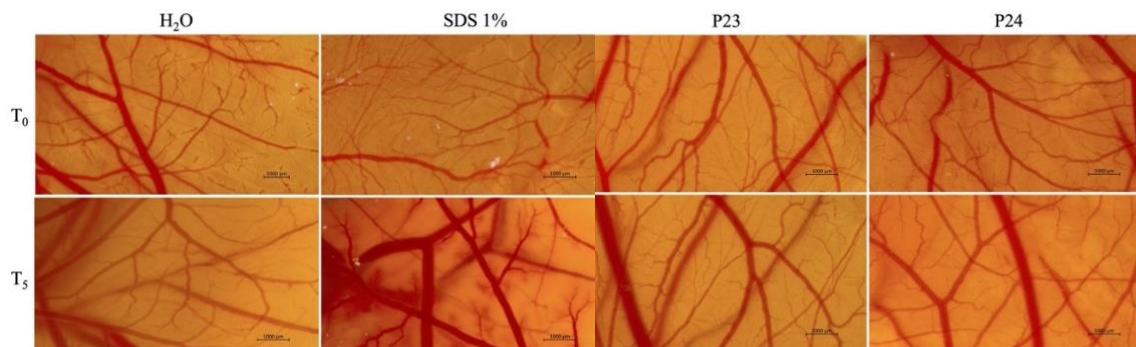


Figura 3. Analiza potențialului iritant al P23 și P24 folosind metoda HET-CAM. Imagini de stereomicroscopie ale CAM inoculate cu H₂O ca martor negativ, SDS ca control pozitiv și probe.

Tabelul 5. Scorul de iritare (IS) pentru P23 și P24 și timpul de apariție a hemoragiei (tH), lizei (tL) și coagulării (tC).

	H ₂ O	SDS 1%	P23	P24
IS	0.07	19.57	0.72	0.82
tH	300	27	297	300
tL	300	18	287	283
tC	300	21	290	288

Acidul hialuronic (HA) este utilizat în mod obișnuit în tratamentul patologiilor genunchiului, astfel în ultimul studiu au fost evaluate două tipuri de acid hialuronic (Fluicondrial 80 și Juvederm) la nivelul celulelor de osteosarcom (SAOS-2)-o alta patologie osoasă ce necesită studiu în vederea îmbunătățirii tratamentelor. S-a analizat din punct de vedere al viabilității, al morfologiei celulelor, structurii nucleelor și impactul la nivelul markerilor cu implicații în apoptoza celulară (Bax, Bad și Bcl-2).

Conform rezultatelor, ambele probe (HA-Fu și HA-Ju) au un efect dependent de concentrație asupra viabilității celulare, dar cu o intensitate diferită. În consecință, concentrațiile de HA-Fu de 50 și 100 μg/mL nu au determinat o scădere semnificativă a viabilității, comparabilă cu celulele martor, nestimulate. Alternativ, concentrațiile de 500 și 1000 μg/mL au determinat o scădere mai marcată a procentului de celule viabile, care a fost de 81% și, respectiv, 80% (Figura 4).

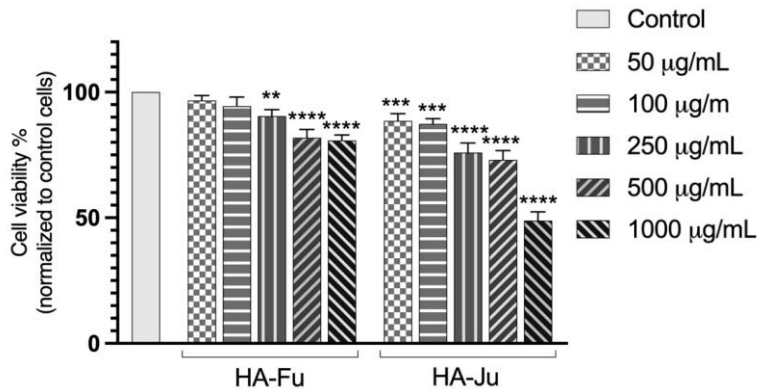


Figura 4. Evaluarea efectului citotoxic asupra celulelor SAOS-2 după 24 de ore de stimulare cu HA-Fu și HA-Ju (50, 100, 250, 500 and 1000 µg/mL).

Următorul pas în evaluarea efectelor HA-Fu și HA-Ju asupra celulelor osteosarcomului a fost determinarea impactului asupra structurii nucleelor. Prin urmare, în urma metodei DAPI s-a observat că HA-Fu a indus modificări structurale în nucleee începând de la o concentrație de 250 µg/mL. În comparație cu celulele de control, a existat o scădere a numărului de nucleee, iar cromatina a fost ușor condensată. Pe lângă condensarea cromatinei și scăderea numărului de nucleee, concentrația de 1000 g/mL a provocat modificări masive care au inclus apariția corpurilor apoptotice și fragmentarea nucleară. Comparativ, HA-Ju a provocat modificări mai substanțiale decât HA-Fu. O condensare masivă a cromatinei și apariția corpurilor apoptotice au putut fi observate chiar și la concentrația de 250 µg/mL, în timp ce la concentrația de 1000 µg/mL, semnele de deteriorare nucleară au fost și mai evidente, sugerând efecte apoptotice (Figura 5).

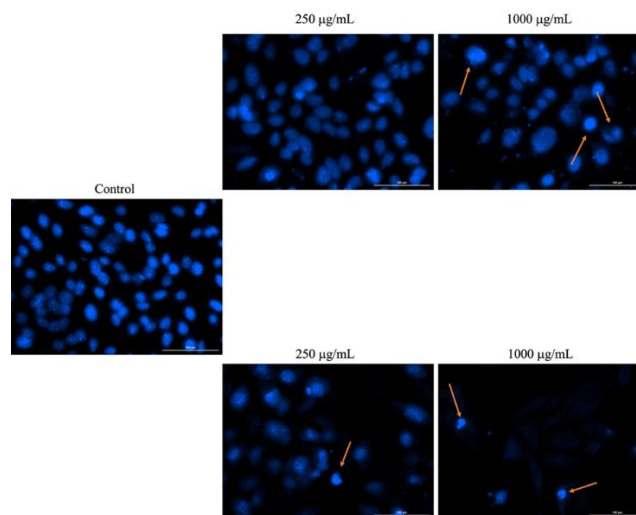


Figura 5. Nucleeele SAOS-2 colorate cu colorant DAPI după 24 de ore de tratament cu HA-Fu și HA-Ju (250 și 1000 µg/mL). Săgețile portocalii indică semne de apoptoză. Barele de scară reprezintă 100 µm.

Datorită studiilor anterioare care sugerau că ambele tipuri de acid hialuronic promovează apoptoza, următorul pas a fost examinarea impactului lor asupra expresiei genelor pro-apoptotice (Bax și Bad) și anti-apoptotice (Bcl-2). Ambele tipuri de probe testate au relevat o creștere a expresiei genelor pro-apoptotice Bax și Bad, cea mai intensă creștere fiind observată în proba HA-Ju 1000 $\mu\text{g/mL}$. Între timp, o reducere semnificativă a genei antiapoptotice a fost observată numai după stimularea cu HA-Ju 1000 $\mu\text{g/mL}$ timp de 24 de ore (Figura 6).

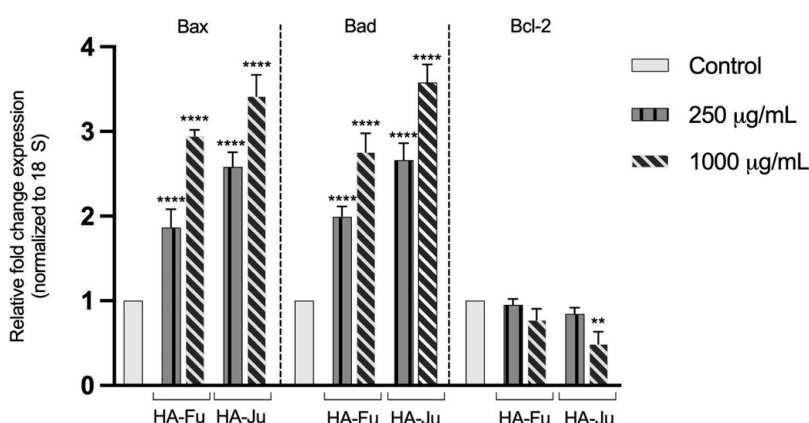


Figura 6. Expresia relativă a exprimării ARNm a markerilor mitocondriali pro- și anti-apoptotici în celulele SAOS-2 după stimularea cu HA-Fu și HA-Ju (250 și 1000 $\mu\text{g/mL}$) timp de 24 de ore.

Concluzii

În urma primului studiu efectuat, s-a ajuns la concluzia că adiponectina are un rol dublu sau mai complex în diagnosticul OA. Acest lucru a fost foarte asociat cu diferite forme și stadii de OA; cu toate acestea, rolul său exact în patogenia OA rămâne neclar, deoarece rapoartele studiilor dezvăluie rezultate contradictorii, atât proprietăți distructive, cât și de protecție. În ciuda acumulării de dovezi din studiile in vitro și in vivo, mecanismul precis și direct prin care adipokinele contribuie la debutul și dezvoltarea OA rămâne în mare parte neexplorat și insuficient înțeles.

Rezultatele celui de-al doilea studiu au evidențiat o corelație semnificativă între vârstă și ACRP-30, și ACRP-30 și IL-6, sugerând că vârsta înaintată poate contribui la reducerea adiponectinei, iar acest lucru manifestă și un efect sinergic cu IL-6. În același timp, creșterea IL-6 atrage creșterea IL-10. Comparând bărbații cu femeile, s-a observat că vârsta bărbaților este mai mult legată de rigiditate, iar IL-6 și IL-10 sunt direct corelate cu IMC. În schimb, femeile par să fie mai sensibile la durere și rigiditate.

Ultimul studiu și-a propus să evidențieze potențialul acidului hialuronic, care este utilizat pe scară largă în cazul KOA asupra celulelor osteosarcomului. Conform rezultatelor obținute, acidul hialuronic a fost găsit citotoxic, determinând scăderea viabilității celulare și modificări ale morfologiei celulare în mod dependent de doză. Nucleii au prezentat, de asemenea, modificări caracteristice apoptozei celulare, inclusiv condensarea cromatinei și apariția corpurilor apoptotice. În plus față de aceste constatări, analiza RT-PCR a indicat că acidul hialuronic crește expresia genelor pro-apoptotice (Bax și Bad) în timp ce scade expresia genelor anti-apoptotice (Bcl-2).

În concluzie, KOA este o problemă de actualitate care afectează confortul zilnic a milioane de oameni, iar identificarea unei metode avansate de diagnostic ar putea îmbunătăți semnificativ prognosticul. Biomarkerii arată rezultate promițătoare în acest sens, dar sunt necesare informații suplimentare pentru a confirma acuratețea și mecanismul lor de acțiune. În plus, identificarea complementară a spectrului terapeutic poate îmbunătăți semnificativ calitatea vieții pacienților cu KOA.

Bibliografie

1. Aguirre J, Pérez MB, Palomares R, Cornejo J. Ergonomic Bio-Design and Motion Simulation of a Mechatronic Orthosis System for Knee Rehabilitation. In 2022 IEEE XXIX International Conference on Electronics, Electrical Engineering and Computing (INTERCON) 2022; 1-4.
2. GBD 2015 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*. 2016;388(10053):1545-1602.
3. Razmjoo A, Caliva F, Lee J, Liu F, Joseph GB, Link TM, Majumdar S, Pedoia V. T2 analysis of the entire osteoarthritis initiative dataset. *J Orthop Res*. 2021;39(1):74-85.
4. Mende E, Love RJ, Young JL. A Comprehensive Summary of the Meta-Analyses and Systematic Reviews on Platelet-Rich Plasma Therapies for Knee Osteoarthritis. *Mil Med*. 2024; 28:usae022.
5. Wahyuningrum RT, Anifah L, Purnama IK E, Purnomo MH. A new approach to classify knee osteoarthritis severity from radiographic images based on CNN-LSTM method. in Proceedings of the 2019 IEEE 10th International Conference on Awareness Science and Technology (iCAST) 2019; 1-6.
6. Zhang B, Tan J, Cho K, Chang G, Deniz CM. Attention-based cnn for kl grade classification: data from the osteoarthritis initiative. in Proceedings of the 2020 IEEE 17th International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI) 2020; 731-735.
7. Olsson S, Akbarian E, Lind A, Razavian AS, Gordon M. Automating classification of osteoarthritis according to Kellgren-Lawrence in the knee using deep learning in an unfiltered adult population. *BMC musculoskeletal disorders* 2021;22(1):1-8.
8. Fang H, Judd RL. Adiponectin Regulation and Function. *Compr. Physiol*. 2018; 8:1031-1063.
9. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. 1999. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012; 425(3):560-564.
10. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med*. 2001;7(8):941-946.
11. Hu J, Cui W, Ding W, Gu Y, Wang Z, Fan W. Globular Adiponectin Attenuated H₂O₂-Induced Apoptosis in Rat Chondrocytes by Inducing Autophagy Through the AMPK/mTOR Pathway. *Cell. Physiol. Biochem*. 2017; 43: 367-382.
12. Tootsi K, Kals J, Zilmer M, Paapstel K, Märtson A. Severity of Osteoarthritis Is Associated with Increased Arterial Stiffness. *Int. J. Rheumatol*. 2016; 2016: 6402963.
13. Honsawek S, Chayanupatkul M. Correlation of plasma and synovial fluid adiponectin with knee osteoarthritis severity. *Arch. Med. Res*. 2010; 41: 593-598.