

Modyfikacje chrząstki stawowej w procesie starzenia *Age-related modifications in articular cartilage*

Magdalena Krajewska-Włodarczyk

Oddział Reumatologii, Miejski Szpital Zespolony w Olsztynie

Streszczenie

Zmiany zachodzące w chrząstce stawowej w procesie starzenia są etapem naturalnych przemian ludzkiego ciała. Starszy wiek jest najważniejszym czynnikiem ryzyka rozwoju choroby zwyrodnieniowej stawów, lecz choroba zwyrodnieniowa stawów nie musi być nieuniknioną konsekwencją starzenia. Chondrocyty są wyjątkowymi komórkami szczególnie predysponowanymi do rozwoju zmian związanych z wiekiem. Zmiany w chrząstce stawowej w przebiegu starzenia obejmują nabywanie fenotypu sekrecyjnego przez chondrocyty, spadek wrażliwości chondrocytów na czynniki wzrostowe, niszczący wpływ przewlekłej produkcji reaktywnych form tlenowych oraz gromadzenie końcowych produktów glikacji. Wszystkie te czynniki wpływają na mechaniczne właściwości chrząstki stawowej. Lepsze zrozumienie mechanizmów leżących u podstawy starzenia się chrząstki stawowej może przyczynić się do stworzenia nowych celów terapeutycznych skierowanych na spowolnienie lub zahamowanie związanych z wiekiem modyfikacji chrząstki stawowej. Ze względu na starzenie się naszego społeczeństwa, możliwość wpływania na spowolnienie zmian zachodzących w chrząstce u osób starszych może mieć ogromne znaczenie dla zdrowia *Geriatrics 2017; 11: 135-141*.

Słowa kluczowe: starzenie, chrząstka stawowa

Abstract

The changes occurring in the cartilage during the ageing process constitute a natural stage in human body changes. Older age is the greatest risk factor for osteoarthritis but osteoarthritis does not have to be an inevitable consequence of growing old. Chondrocytes are unique cells that may be particularly prone to the development of aging-related changes. The aging changes in joint cartilage tissue include senescent secretory phenotype of chondrocytes, chondrocytes' low reactivity to growth factors, oxidative damage from the chronic production of reactive oxygen species and abnormal accumulation of advanced glycation end-products. All these factors affect the mechanical properties of cartilage. An improved understanding of mechanisms underlying the cartilage aging will likely reveal new therapeutic targets to slow or halt age-related modifications in articular cartilage. The ability to slow progression of cartilage changes in older adults may have enormous public health implications given the aging of our population. *Geriatrics 2017; 11: 135-141*.

Keywords: aging, articular cartilage

Wstęp

Sprawnie funkcjonujący układ ruchu jest podstawą motorycznej autonomii ludzkiego ciała, a zmiany zachodzące w nim w toku starzenia, poza ograniczeniem samodzielności w wykonywaniu codziennych czynności, zmianami postawy i chodu oraz wzrostem ryzyka upadków, wpływają również na funkcjonowa-

nie narządów wewnętrznych i jakość życia.

Zmiany związane ze starzeniem chrząstki stawowej oraz z rozwojem choroby zwyrodnieniowej stawów trudno jest rozpatrywać osobno. U połowy ludzi w wieku 65 lat i powyżej stwierdza się kliniczne objawy choroby zwyrodnieniowej stawów (ChZS) [1]. Wiele badań wskazuje na wiek chorych jako

jeden z najbardziej istotnych czynników ryzyka rozwoju choroby zwyrodnieniowej stawów. Mechanizm rozwoju choroby zwyrodnieniowej stawów dotychczas nie został dobrze poznany. Podejmowane są próby wyjaśnienia przyczyn rozwoju ChZS, obejmujące kilka teorii, w tym teorię starzenia się ze zużycia (wear and tear) [2]. Przyczyn rozwoju ChZS upatruje się także w procesach związanych ze starzeniem komórkowym, takich jak nabywanie tzw. fenotypu sekrecyjnego (senescence-associated secretory phenotype, SASP), będącego pochodną zmiany ekspresji genów w komórkach starych [3], osłabienie odpowiedzi chondrocytów na czynniki wzrostowe, w tym insulinopodobny czynnik wzrostu-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1) i transformujący czynnik wzrostu (transforming growth factor- β , TGF- β) [4], zaburzenia funkcji mitochondriów i wpływ stresu oksydacyjnego [5] oraz gromadzenie zaawansowanych (końcowych) produktów glikacji (advanced glycation end products, AGEs) [6]. Choroba zwyrodnieniowa stawów nie jest zatem wyłącznie rezultatem mechanicznych przeciążeń wywołanych nadwagą, zaburzeniami postawy czy chodu lub urazami. Procesy degeneracyjne związane z wiekiem, zachodzące w chondrocytach, z następującą utratą chrząstki stawowej są kluczowe dla rozwoju obrazu ChZS obejmującego przewlekły ból, deformację oraz upośledzenie funkcjonalne zajętego stawu. Ubytki tkanki chrzęstnej penetrujące do kości podchrzęstnej stanowią wrota dla nieodróżnionych komórek mezenchymalnych, które w zależności od wielu czynników miejscowych mogą różnicować się w kierunku osteoblastów wytwarzających tkankę kostną, w kierunku fibroblastów przyczyniających się do powstania tkanki łącznej włóknistej lub w kierunku chondroblastów posiadających zdolności wytwarzania tkanki chrzęstnej włóknistej lub szklistopodobnej [7]. Niestety zdolności regeneracyjne tkanki, jaką jest chrząstka stawowa są bardzo ograniczone i w przypadku istotnego uszkodzenia jedynie zewnętrzna interwencja terapeutyczna może poprawić stan miejscowy.

Starzenie komórkowe

Wszystkie komórki ulegają procesowi starzenia. Komórki w hodowli *in vitro* po przejściu określonej liczby podziałów (około 30-60) tracą swój potencjał replikacyjny, przestają się dzielić, starzeją się, ale nie umierają od razu i przez długi czas mogą pozostać aktywne metabolicznie. Maksymalna liczba podziałów komórkowych będąca limitem replika-

cyjnym komórki nazywana jest limitem Hayflicka [8]. Gromadzące się stare komórki, przez zmieniony metabolizm i wydzielane białka tworzą własne środowisko, wpływając na swoją aktywność oraz na komórki sąsiadujące. Rozwijający się w wyniku tych procesów stan zapalny o niskiej aktywności (low grade inflammation) towarzyszy zdecydowanej większości, jeśli nie wszystkim, chorobom wieku podeszłego [9]. Starzenie komórkowe jest nie tylko odzwierciedleniem starzenia organizmu. U osobników młodych odgrywa ono istotną rolę w regeneracji tkanek, a przez hamowanie podziałów mitotycznych komórek z uszkodzonym materiałem genetycznym, prawdopodobnie ogranicza ryzyko nowotworzenia [10]. W badaniach *in vitro* zaobserwowano, że starzejące się komórki są większe i bardziej płaskie od prawidłowych, dzielących się komórek. Odmienne niż w komórkach apoptotycznych, w procesie starzenia dochodziło do wzrostu aktywności związanej ze starzeniem β galaktozydazy (senescence associated β -galactosidase, SA- β -gal) [11]. Komórki stare, w wyniku uszkodzeń DNA, nabywają specyficzny fenotyp sekrecyjny prowadzący do ich eliminacji przez komórki żerne układu odpornościowego, a jednocześnie przyczyniający się do rozwoju chorób związanych z wiekiem. Istotą SASP jest wydzielanie do środowiska szeregu cytokin (interleukin: IL-1, -6, -7, -13, -15), chemokin prozapalnych (CCL2/MCP-1, CCL8/MCP-2, CCL26, CXCL8/IL-8, CXCL12/SDF-1), czynników wzrostu (amfireduliny, EGF, hFGF, HGF, hereguliny, KGF, NGF, VEGF), proteaz i ich modulatorów (MMP-1, -3, -10, -12, -13, -14, TIMP-2, PAI-1, PAI-2, t-PA, u-PA) [12].

Rozróżnia się dwa rodzaje starzenia komórkowego: replikacyjne i przyspieszone [13]. Starzenie replikacyjne związane jest z wyczerpaniem limitu podziałowego. Przyczyną tego procesu jest skracanie się telomerów, których funkcją jest zabezpieczanie zakończeń chromosomów przed łączeniem się i zachowanie integralności genomu. Telomery człowieka składają się z tysięcy powtórzeń motywów utworzonych przez sześć par zasad TTAGGG i stanowią specyficzny licznik podziałowy komórki. Struktura telomerów wspierana jest przez szelteryny, białka zapewniające utrzymanie ich specyficznej struktury. W przypadku skrócenia telomerów do połowy swojej początkowej długości, obecnego już na pięciu chromosomach, dochodzi do starzenia komórki [14]. Innym rodzajem starzenia komórkowego, niezależnego od skracania telomerów, jest starzenie przyspieszone (stress-induced premature

senescence, SIPS). Starzenie przyspieszone może być wywołane stresem oksydacyjnym, onkogenami lub czynnikami uszkodzającymi DNA [15]. Postępuje ono dużo szybciej niż starzenie replikacyjne i nie wynika bezpośrednio z wyczerpania potencjału podziałowego, chociaż stres oksydacyjny może również prowadzić do przyspieszonego skracania telomerów. Przyczyny obu postaci starzenia są różne, mimo to wiążą się z aktywacją tej samej ścieżki odpowiedzi na uszkodzenia DNA. W starzeniu replikacyjnym taki sygnał generują telomery skrócone lub pozbawione szelteryń. W starzeniu przyspieszonym do podobnej odpowiedzi dochodzi w przypadku pęknięcia podwójnej nici DNA w odcinkach telomerowych, które ze względu na specyficzną strukturę i białka chroniące, są niedostępne dla systemów naprawczych [15]. Odpowiedź na uszkodzenie DNA kontrolowana jest m. in. za pośrednictwem białka p53, będącego inhibitorem kinaz zależnych od cyklin, odpowiadającego za zahamowanie podziałów komórkowych oraz hipofosforylowanego białka Rb (retinoblastoma protein), odpowiadającego za rekrutację enzymów związanych z epigenetycznymi modyfikacjami chromatyny [16].

Zmiany chondrocytów związane ze starzeniem

Homeostaza chrząstki zależna jest od prawidłowej funkcji chondrocytów. Z wiekiem również macierz chrząstki stawowej ulega molekularnym, strukturalnym i mechanicznym zmianom, pojawiają się zmiany w składzie i strukturze proteoglikanów, zwiększa się sieciowanie kolagenu, zmniejsza się wytrzymałość chrząstki na rozciąganie. Dochodzi do zaburzenia równowagi między aktywnością anaboliczną chondrocytów a procesami destrukcyjnymi. Chrząstka stawowa ulega powolnemu ścięczeniu związanym ze stopniowym zmniejszeniem środowiska macierzy, zmniejszeniem uwodnienia chrząstki oraz zmniejszeniem liczby chondrocytów. Związane z wiekiem zmniejszenie liczby chondrocytów w stawowej tkance chrząstnej obserwowano u osób bez klinicznych objawów choroby zwyrodnieniowej, chociaż bardziej nasilone zmiany obecne były u chorych z ChZS [17]. U osób w wieku 30-70 lat liczba chondrocytów w chrząstce stawu biodrowego ulegała redukcji o około 40% [18], podobne różnice uzyskano badając zwierzęta [19]. Odmienne jednak, w badaniu dotyczącym chrząstki stawu kolanowego u ludzi, nie obserwowano istotnych zmian w liczbie chondrocytów [20]. W chrząstce sta-

wowej osób dorosłych obserwuje się niewielką częstość podziałów komórkowych chondrocytów, co przy bardzo małej liczbie lokalnych komórek progenitorowych może sugerować, że chondrocyty osób starszych są prawdopodobnie tymi samymi komórkami co wiele lat wcześniej, chociaż już nie takimi samymi. Wydaje się, że w związku z postępującym wiekiem człowieka nie zwiększa się istotnie w chrząstce stawowej liczba komórek apoptotycznych [20].

W chondrocytach chrząstki stawowej, które przeszły więcej podziałów komórkowych, analogicznie do komórek innych tkanek, obserwuje się istotne skrócenie telomerów [21], opisywano również większą obecność skróconych telomerów w chromosomach chondrocytów osób starszych [21]. Skrócenie telomerów zależne od wieku obserwowano również w niedawno przeprowadzonych badaniach zarówno wśród osób bez objawów choroby zwyrodnieniowej oraz w grupie chorych z ChZS [22]. Aktywność telomerazy, rybonukleoproteinowego enzymu dobudowującego brakujące odcinki DNA, wyższa jest w chondrocytach osobników młodych umożliwiając przeprowadzanie procedur naprawczych w młodych chondrocytach i ulega znacznemu obniżeniu po okresie dojrzewania [23]. Wydaje się jednak, że zmiany związane z wiekiem zachodzące w chondrocytach prezentują raczej typ starzenia przyspieszonego, będącego odpowiedzią na inne niż podziały komórkowe czynniki indukujące uszkodzenie telomerów, w tym: stres oksydacyjny, aktywację onkogenów i przewlekły stan zapalny [24].

Reaktywne formy tlenu (reactive oxygen species, ROS) indukują skracanie telomerów stymulowane uszkodzeniem DNA [25]. Ilość ROS obecnych w chondrocytach wiąże z wiekiem, nadmiernym obciążeniem mechanicznym i aktywnością cytokin prozapalnych [26]. Dodanie reaktywnych form tlenu do hodowli chondrocytów skutkuje rozwojem cech fenotypowych chondrocytów związanych ze starzeniem [26]. W chondrocytach w warunkach stresu oksydacyjnego, podczas wczesnych podziałów komórkowych, wzrasta znacznie ilość białek zasocjowanych z telomerazą TRF1, TRF2 (telomeric repeat binding factor 1, 2), będących szelteryńmi odpowiedzialnymi za formowanie i utrzymanie struktury telomerów, białka XRCC5 (X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 5) biorącego udział w naprawie dwuniciowego DNA oraz sirtuliny 1 (SIRT1) działającej supresyjnie na białko p53, zapobiegającej hamowaniu podziałów komórkowych, natomiast znacznie słabiej białka te

są wydzielane w czasie podziałów późniejszych [25]. Badanie to sugeruje ochronny wpływ białek TRF1, TRF2, XRCC5 i SIRT1 na młode chondrocyty przed związanym z uszkodzeniami nici DNA skracaniem telomerów w sytuacji stresu oksydacyjnego, podczas gdy w chondrocytach odbywających późniejsze podziały komórkowe, przez zmniejszenie aktywności wymienionych białek regulatorowych, dochodzi do spadku tolerancji na ROS i akumulacji uszkodzonego DNA, co może indukować procesy związane ze starzeniem.

Starzenie się chrząstki stawowej może być rezultatem nabywania przez chondrocyty specyficznego fenotypu sekrecyjnego, charakteryzującego się wzrostem produkcji i wydzielania interleukin, metaloproteinaz macierzy i czynników wzrostowych, w tym nabłonkowego czynnika wzrostu (epidermal growth factor, EGF). Dostępne piśmiennictwo pokazuje wzrost ekspresji metaloproteinaz MMP-1 i MMP-13 w starzejącej się tkance chrząstnej [27] oraz gromadzenie neopitopów kolagenu powstałych w wyniku denaturacji i fragmentowania kolagenu [28]. W przeprowadzonych badaniach, zdolność produkcji i wydzielania IL-1 [29] i IL-7 [30] przez izolowane chondrocyty wzrastały istotnie wraz z wiekiem dawcy. Dodatkowo, wzrost wydzielania IL-7 wiązał się ze zwiększoną produkcją MMP-13 [32].

Z upływem czasu w tkance chrząstnej dochodzi do spadku aktywności anabolicznej chondrocytów. Wraz z wiekiem zmniejsza się znacznie odpowiedź chondrocytów na insulinopodobny czynnik wzrostu-1 [4]. Do podobnych zaburzeń dochodzi również w izolowanych chondrocytach z tkanki chrząstnej stawów z objawami choroby zwyrodnieniowej [31]. Ekspresja i ilość białka osteogenicznego OP-1 (BMP-7) należącego do nadrodziny białek morfogenetycznych kości (bone morphogenetic proteins) oraz transformującego czynnika wzrostu- $\beta 2$ i - $\beta 3$ (ale nie TGF- $\beta 1$) również ulegają obniżeniu w chrząstce stawowej w sposób związany z wiekiem, podobnie jak liczba receptorów dla TGF- β [32]. Dodanie anabolicznego białka OP-1 do hodowli chondrocytów osobników dojrzałych nie stymuluje aktywności telomerazy, podczas gdy dodanie prozapalnej cytokiny IL-1 α hamuje jej aktywność [23]. Zmniejszona aktywność anaboliczna skutkuje przesunięciem metabolicznej równowagi chondrocytu w kierunku mechanizmów katabolicznych.

Zmiany macierzy chrząstki związane ze starzeniem

Zmiany w macierzy chrząstki związane z wiekiem zachodzą równolegle do starzenia się chondrocytów. Badania MRI stawów kolanowych ukazują ścieńczenie chrząstki stawowej wraz z wiekiem badanych, co oczywiście częściowo wynika z ubytku komórkowego, ale również wskazuje na ubytek macierzy tkanki chrząstnej [33]. Unikalne właściwości macierzy pozakomórkowej chrząstki zapewniają kolagenowe i niekolagenowe glikoproteiny oraz kwas hialuronowy. Zmniejszenie objętości chrząstki może spowodowane być zmniejszeniem zawartości wody zależnym w dużym stopniu od zawartości agrekanu, głównego proteoglikanu w macierzy chrząstki stawowej. Siarczanowane, naładowane ujemnie łańcuchy glikozaminoglikanów budujących agrekan, charakteryzują się wysoką hydrofilnością i odpowiadają za sprężystość chrząstki. Opisano zmiany rozmiaru, struktury i stopnia siarczanowania agrekanu związane z wiekiem skutkujące spadkiem uwodnienia i sprężystości chrząstki [34]. Ostatecznie wraz z wiekiem obniżeniu ulega łączna zawartość wszystkich proteoglikanów w chrząstce. Związane ze starzeniem modyfikacje proteoglikanów macierzy chrząstkowej związane są z zaburzeniami syntezy oraz enzymatyczną i nieenzymatyczną degradacją. Nasilająca się z wiekiem degradacja makrocząsteczek proteoglikanów przebiega z nadekspresją metaloproteinaz (MMP), w tym MMP-1, MMP-8, MMP-13 z jednoczesnym obniżeniem ich tkankowych inhibitorów (TIMP) [35]. Wraz z wiekiem nasila się aktywność enzymów z grupy dezintegryn oraz metaloproteinaz z motywem trombospondyny (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs, ADAMTS), w tym agrekanaz ADAMTS-4 i ADAMTS-5 biorących czynny udział w trawieniu białek rdzeniowych agrekanów [36]. Oprócz bezpośredniego działania degradującego macierz pozakomórkową chrząstki, wymienione enzymy stymulują wydzielanie cytokin prozapalnych m.in.: IL-1, IL-6 oraz czynnika martwicy nowotworu- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) [36]. IL-1, IL-6 i TNF- α indukują komórki chondrocytów do syntezy zwiększonej ilości metaloproteinaz macierzowych, jednocześnie hamując wytwarzanie naturalnych inhibitorów tych endopeptydaz [36]. Dodatkowo IL-1 i TNF- α , stymulują wytwarzania białka wiążącego insulinopodobny czynnik wzrostu-1 (insulin-like growth factor-binding protein-1, IGFBP-1). IGFBP-1 przyłączając IGF-1, ogranicza

możliwość jego wiązania z właściwym receptorem na chondrocytach, prowadząc do obniżonej odpowiedzi dojrzałych chondrocytów na stymulację IGF-1 [37]. Pod wpływem IL-1 i TNF- α dochodzi w chondrocytach do wzrostu aktywności indukowanej syntazy tlenu azotu (inducible nitric oxide synthase, iNOS), a wtórnie do wzrostu wydzielania do macierzy katabolicznych metaloproteinaz i prostaglandyn [36].

Wraz z wiekiem dochodzi do nadmiernego wytwarzania ROS i zaburzeń równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej. Reaktywne formy tlenowe w reakcji z białkiem rdzeniowym proteoglikanów modyfikują reszty aminokwasowe oraz prowadzą do pęknięć łańcucha polipeptydowego białka rdzeniowego i powstawania produktów fragmentacji proteoglikanów w postaci glikozaminoglikanowych łańcuchów związanych z pozostałościami białek rdzeniowych i wolnych glikozaminoglikanów [38].

Modyfikacje proteoglikanów stawowej tkanki chrzęstnej dokonujące się z upływem czasu, poza katabolicznym działaniem wydzielanych enzymów i stresu oksydacyjnego, spowodowane są gromadzeniem w chrząstce produktów późnej glikacji. Do produkcji AGEs dochodzi w wyniku spontanicznej, nieenzymatycznej glikacji białek, będącej wynikiem reakcji cukrów redukujących, w tym sacharozy, fruktozy i rybozy z resztami lizynowymi i argininowymi. Tkanka chrzęstna, ze względu na dość wolny metabolizm, jest szczególnie predysponowana do tworzenia AGEs. Okres półtrwania kolagenu typu II, najliczniejszego białka macierzy pozakomórkowej chrząstki, oszacowano na ponad 100 lat [39]. Chociaż produkty późnej glikacji obniżają wrażliwość proteoglikanów na proteolityczne działanie metaloproteinaz, całkowita pula proteoglikanów w chrząstce ulega obniżeniu proporcjonalnemu do ilości AGEs [40]. Nie do końca został wyjaśniony wpływ AGEs na procesy zachodzące w starzejącej się chrząstce. Prawdopodobnie za pośrednictwem odpowiednich receptorów (receptor for advanced glycation end products, RAGE) obecnych na błonie komórkowej chondrocytu hamowana jest synteza i wydzielanie proteoglikanów do macierzy pozakomórkowej chrząstki oraz dochodzi do induk-

cji syntezy metaloproteinaz macierzowych (MMP-1, MMP-3, MMP-13) i prostaglandyny E2 [35].

Podsumowanie

Zmiany zachodzące w chrząstce stawowej związane z starzeniem przyczyniają się do degeneracji chrząstki, pogarszając możliwości utrzymania właściwości i regeneracji tkanki chrzęstnej. Wydaje się, że starzenie się chrząstki i rozwój choroby zwyrodnieniowej stawów mogą być współzależnymi procesami. Z pewnością czynniki związane z upływem czasu, takie jak: fenotyp sekrecyjny chondrocytów, osłabienie odpowiedzi chondrocytów na czynniki wzrostowe, stres oksydacyjny oraz gromadzenie w chrząstce końcowych produktów glikacji mogą również prowadzić do częstej w populacji ludzi starszych choroby zwyrodnieniowej stawów. Starzenie się chrząstki w oczywisty sposób postępuje w czasie, a zmiany wywołane tym procesem są nieodwracalne. Ze względu na starzenie się populacji naszego kraju, choroby narządu ruchu związane z wiekiem stanowią już obecnie istotny problem społeczny. Na szczęście nie u wszystkich osób po 65 r.ż. rozwija się kliniczny obraz choroby zwyrodnieniowej stawów, pomimo obecności modyfikowanych wiekiem zmian w tkance chrzęstnej. Badania nad poznaniem mechanizmów nasilających procesy starzenia chrząstki stawowej mogą pozwolić na wprowadzenie terapii spowalniających przemianę chrzęstne związane z upływem czasu, zwłaszcza u osób szczególnie predysponowanych do wystąpienia choroby zwyrodnieniowej stawów.

Konflikt interesów / Conflict of interest

Brak/None

Adres do korespondencji:

✉ Magdalena Krajewska-Włodarczyk,
Oddział Reumatologii, Miejski Szpital
Zespolony w Olsztynie
ul. Wojska Polskiego 30; 10-229 Olsztyn
☎ (+48 89) 678 66 51
✉ magdalenakw@op.pl

Piśmiennictwo

1. Bijlsma JW, Berenbaum F, Lafeber FP. Osteoarthritis: an update with relevance for clinical practice. *The Lancet*. 2011;377(9783):2115-26.
2. Aigner T, Rose J, Martin J, Buckwalter J. Aging theories of primary osteoarthritis: from epidemiology to molecular biology. *Rejuvenation Res*. 2004;7(2):134-45.
3. Martin JA, Buckwalter JA. The role of chondrocyte senescence in the pathogenesis of osteoarthritis and in limiting cartilage repair. *J Bone Joint Surg Am*. 2003;85(Suppl 2):106-10.
4. Messai H, Duchossoy Y, Khatib AM, et al. Articular chondrocytes from aging rats respond poorly to insulin-like growth factor-1: an altered signaling pathway. *Mechanisms Ageing Development*. 2000;115(1):21-37.
5. Blanco FJ, Rego I, Ruiz-Romero C. The role of mitochondria in osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2011;7(3):161-9.
6. Huang CY, Lai KY, Hung LF, et al. Advanced glycation end products cause collagen II reduction by activating Janus kinase/signal transducer and activator of transcription 3 pathway in porcine chondrocytes. *Rheumatology (Oxford)*. 2011;50(8):1379-89.
7. Galle J, Bader A, Hepp P, et al. Mesenchymal Stem Cells in Cartilage Repair: State of the Art and Methods to monitor Cell Growth, Differentiation and Cartilage Regeneration. *Curr Med Chem*. 2010;17(21):2274-91.
8. Hayflick L. Intracellular determinants of cell aging. *Mech Ageing Dev*. 1984;28(2-3):177-85.
9. Sikora E, Arendt T, Bennett M, Narita M. Impact of cellular senescence signature on ageing research. *Ageing Res Rev*. 2011;10:146-52.
10. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, et al. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013;153:1194-217.
11. Hunt A, Betts D, King WA, Madan P. Senescence or apoptosis? The choice bovine fibroblasts make in the presence of increasing concentrations of extracellular H₂O₂. *Stud Undergrad Res Guelph*. 2010;3:64-8.
12. Coppe JP, Desprez PY, Krtolica A, Campisi J. The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression. *Annu Rev Pathol*. 2010;5:99-118.
13. von Zglinicki T, Petrie J, Kirkwood TB. Telomere-driven replicative senescence is a stress response. *Nat Biotechnol*. 2003;21:229-30.
14. Kaul Z, Cesare AJ, Huschtscha LI, et al. Five dysfunctional telomeres predict onset of senescence in human cells. *EMBO Rep*. 2011;13:52-9.
15. Bielak-Zmijewska A, Wnuk M, Przybylska D, et al. A comparison of replicative senescence and doxorubicin-induced premature senescence of vascular smooth muscle cells isolated from human aorta. *Biogerontology*. 2014;15:47-64.
16. d'Adda di Fagagna F. Living on a break: cellular senescence as a DNA-damage response. *Nat Rev Cancer*. 2008;8:512-22.
17. Kühn K, D'Lima DD, Hashimoto S, Lotz M. Cell death in cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*. 2004;12(1):1-16.
18. Vignon E, Arlot M, Patricot LM, Vignon G. The cell density of human femoral head cartilage. *Clin Orthop Relat Res*. 1976;121:303-8.
19. Blaney Davidson EN, Scharstuhl A, Vitters EL, et al. Reduced transforming growth factor-beta signaling in cartilage of old mice: role in impaired repair capacity. *Arthritis Res Ther*. 2005;7:1338-47.
20. Aigner TM, Hemmel M, Neureiter D. Apoptotic Cell Death Is Not a Widespread Phenomenon in Normal Aging and Osteoarthritis Human Articular Knee Cartilage: A Study of Proliferation, Programmed Cell Death (Apoptosis), and Viability of Chondrocytes in Normal and Osteoarthritic Human Knee Cartilage. *Arthritis Rheum*. 2001;44(6):1304-12.
21. Parsch D, Brümmendorf TH, Richter W, Fellenberg J. Replicative aging of human articular chondrocytes during ex vivo expansion. *Arthritis Rheum*. 2002;46(11):2911-6.
22. Harbo M, Delaisse JM, Kjaersgaard-Andersen P, et al. The relationship between ultra-short telomeres, aging of articular cartilage and the development of human hip osteoarthritis. *Mech Ageing Dev*. 2013;134(9):367-72.
23. Wilson B, Novakofski KD, Donocoff RS, et al. Telomerase Activity in Articular Chondrocytes Is Lost after Puberty. *Cartilage*. 2014;5(4):215-20.
24. Dai SM, Shan ZZ, Nakamura H, et al. Catabolic stress induces features of chondrocyte senescence through overexpression of caveolin 1: possible involvement of caveolin 1-induced down-regulation of articular chondrocytes in the pathogenesis of osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2006;54(3):818-31.
25. Brandl A, Hartmann A, Bechmann V, et al. Oxidative stress induces senescence in chondrocytes. *J Orthop Res*. 2011;29(7):1114-20.
26. Jallali N, Ridha H, Thrasivoulou C, et al. Vulnerability to ROS-induced cell death in ageing articular cartilage: the role of antioxidant enzyme activity. *Osteoarthritis Cartilage*. 2005;13:614-22.
27. Wu W, Billingham RC, Pidoux I, et al. Sites of collagenase cleavage and denaturation of type II collagen in aging and osteoarthritic articular cartilage and their relationship to the distribution of matrix metalloproteinase 1 and matrix metalloproteinase 13. *Arthritis Rheum*. 2002;46(8):2087-94.
28. Aurich M, Poole AR, Reiner A, et al. Matrix homeostasis in aging normal human ankle cartilage. *Arthritis Rheum*. 2002;46(11):2903-10.
29. Forsyth CB, Cole A, Murphy G, et al. Increased matrix metalloproteinase-13 production with aging by human articular chondrocytes in response to catabolic stimuli. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2005;60:1118-24.
30. Long D, Blake S, Song XY, et al. Human articular chondrocytes produce IL-7 and respond to IL-7 with increased production of matrix metalloproteinase-13. *Arthritis Res Ther*. 2008;10:R23.
31. De Ceuninck F, Caliez A, Dassencourt L, et al. Pharmacological disruption of insulin-like growth factor 1 binding to IGF-binding proteins restores anabolic responses in human osteoarthritic chondrocytes. *Arthritis Res Ther*. 2004;6(5):393-403.

32. Blaney Davidson EN, Scharstuhl A, Vitters EL, et al. Reduced transforming growth factor-beta signaling in cartilage of old mice: role in impaired repair capacity. *Arthritis Res Ther.* 2005;7:1338-47.
33. Ding C, Cicuttini F, Blizzard L, et al. A longitudinal study of the effect of sex and age on rate of change in knee cartilage volume in adults. *Rheumatology (Oxford).* 2007;46(2):273-9.
34. Wells T, Davidson C, Morgelin M, et al. Age-related changes in the composition, the molecular stoichiometry and the stability of proteoglycan aggregates extracted from human articular cartilage. *Biochem J.* 2003;370(1):69-79.
35. Loeser RF. Aging and osteoarthritis: the role of chondrocyte senescence and aging changes in the cartilage matrix. *Osteoarthritis Cartilage.* 2009;17:971-9.
36. Hashimoto M, Nakasa T, Hikata T, Asahara H. Molecular network of cartilage homeostasis and osteoarthritis. *Med Res Rev.* 2008;28(3):464-81.
37. Goldberg A. Effects of growth factors on articular cartilage. *Ortop Traumatol Rehab.* 2001;3:190-3.
38. Lomri A. Role of reactive oxygen species and superoxide dismutase in cartilage aging and pathology. *Future Reumatol.* 2008;3:381-92.
39. Ahmed U, Anwar A, Savage RS, et al. Protein oxidation, nitration and glycation biomarkers for early-stage diagnosis of osteoarthritis of the knee and typing and progression of arthritic disease. *Arthritis Res Ther.* 2016;18(1):250.
40. Saudek DM, Kay J. Advanced glycation endproducts and osteoarthritis. *Curr Reumatol Report.* 2003;5:33-40.