

Direction des bibliothèques

AVIS

Ce document a été numérisé par la Division de la gestion des documents et des archives de l'Université de Montréal.

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

This document was digitized by the Records Management & Archives Division of Université de Montréal.

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal

Rôle du 4-hydroxynonénal dans la régulation du métabolisme des chondrocytes arthrosiques

Par

Véronique Côté

Département de Pharmacologie, Université de Montréal

Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures en vue de l'obtention du grade de M. Sc. en pharmacologie

Octobre 2007

Grade conféré à compter du 2008 MAKS 1 3

©, Véronique Côté 2007

Université de Montréal

Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé:

Rôle du 4-hydroxynonénal dans la régulation du métabolisme des chondrocytes arthrosiques

Présenté par :

Véronique Côté

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Hassan Fahmi

Président-rapporteur

Mohamed Benderdour

Directeur de recherche

Guy Rousseau

Membre du jury

Résumé

L'arthrose (OA) est une maladie multifactorielle dans laquelle chacun des différents tissus de l'articulation joue un rôle. Le cartilage, l'os sous-chondral et la membrane synoviale communiquent les uns avec les autres lors du développement de la pathologie. Récemment, nous avons démontré que le 4-hydroxynonénal (HNE), un produit de la peroxydation lipidique, contribue à la pathogénèse de l'OA par sa capacité à stimuler les réponses cataboliques et inflammatoires dans des tissus articulaires arthrosiques. Dans ce projet, nous sommes intéressés à étudier le rôle du HNE dans la régulation de certaines enzymes des systèmes antioxydants et énergétiques des chondrocytes OA.

Les chondrocytes OA ont été incubés pendant 24 h en présence des concentrations croissantes du HNE (0-20 μM) ou en fonction du temps (0-16 h) en présence de 10 μM de HNE, puis l'activité ainsi que l'expression protéique et ARNm des différentes enzymes ont été évaluées à l'aide de spectrophotométries, d'immunobuvardages de type Western et de RT-PCR en temps réel. Les enzymes étudiées sont : l'isocitrate déhydrogénase dépendante du NADP+ cytosolique et mitochondriale (c/m NADP+-ICDH), le glucose-6-phosphate déhydrogénase (G6PDH), la cytochrome c oxydase (COX), la glutathion S-transferase A4 (GST-A4), et les transporteurs du glucose (GLUT).

En présence de 10 µM de HNE, nous avons démontré que l'activité et l'expression des enzymes cytosoliques telles que la cNADP+-ICDH, la G6PDH et la GST-A4

augmentent en fonction du temps comparativement au témoin. Par contre, le traitement des chondrocytes OA avec le HNE réduit l'activité des enzymes mitochondriales telles que la mNADP+-ICDH et la COX ainsi que celle des GLUT (évaluée par le flux du glucose) en fonction du temps d'incubation sans que leurs expressions protéiques et ARNm ne soient affectées.

Dans cette étude, nous avons démontré que le HNE stimule l'activité et l'expression des enzymes cytosoliques, mais inhibe celles des enzymes mitochondriales ainsi que le flux du glucose dans les chondrocytes OA. Nous avons aussi observé que le HNE est capable d'inhiber l'activité des enzymes sans que leur expression ne soit changée, probablement par la formation de complexes HNE/protéine. Ces données ainsi que l'augmentation de la production du HNE dans les tissus articulaires OA telle que rapportée dans la littérature suggèrent l'implication du HNE dans la physiopathologie de cette maladie lors de l'altération du métabolisme des chondrocytes OA.

Mots clés : chondrocytes, arthrose, 4-hydroxynonénal, cytochrome *c* oxydase, isocitrate déshydrogénase NADP⁺, glucose 6-phosphate déshydrogénase, glutathion S-transférase, transporteur de glucose, transcription inverse-réaction en chaîne de la polymérase, immunobuvardage de type Western.

Summary

Osteoarthritis (OA) is a multifactorial disease in which each articular tissues plays a critical role. The cartilage, synovium and subchondral bone communicate together during OA development. Recently, we have reported that 4-hydroxynonenal (HNE), a lipid peroxidation product, contribute to OA pathogenesis via its ability to stimulate catabolic and inflammatory responses. The present project was aimed to investigate the implication of HNE in the alteration of cellular metabolism of OA chondrocytes.

Isolated OA chondrocytes were cultured and incubated with increasing concentrations of HNE (0-20 μM) for 24 h or with 10 μM of HNE for different incubation periods. The activity and the expression of cytosolic and mitochondrial NADP⁺-dependent isocitrate dehydrogenase (c/m NADP+-ICDH), cytochrome *c* oxidase (COX), glutathione S-transferase A4 (GST-A4), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) and glucose transporters (GLUTs) were evaluated by spetrophometer, Western blotting and real time RT-PCR. Our results showed that HNE at 10 μM increased the activity and the expression of cytosolic enzymes, such as cNADP⁺-ICDH, G6PDH and GST-A4 in OA chondrocytes in a time-dependent manner. In contrast, cells treatment with HNE decreased the activity of mitochondrial enzymes, the mNADP+-ICDH and COX and glucose flux in different incubation periods without changes in their expression at protein and mRNA levels.

In this study, we demonstrated that HNE induces the activity and the expression of cytosolic enzymes, but inhibit mitochondrial enzymes. We observed that HNE is able to inhibit the activity of enzymes without changing their expression, probably via HNE/protein adducts. Altogether, the increase level of HNE in OA cartilage, as reported by our group and the ability of HNE to alter cellular metabolism of OA chondrocytes suggest that this aldehyde could play a role in OA.

Key words: chondrocytes, osteoarthritis, 4-hydroxynonenal, cytochrome c oxidase, NADP⁺-dependante isocitrate dehydrogenase, glucose 6-phosphate dehydrogenase, glutathione S-transferase, glucose transporter, retro-transcription-polymerase chain reaction, Western blotting.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	1
1.1 Les articulations	1
1.1.1 Le cartilage	
1.1.1.1 Collagènes	
1.1.1.2 Protéoglycanes	
1.1.1.3 Les chondrocytes	
1.1.1.4 Description des zones du cartilage hyalin	
1.1.1.5 Métabolisme	;
1.1.1.5.1 Production d'énergie	
1.1.1.5.2 Transport du glucose	
1.1.1.5.2.1 Régulation des GLUT dans l'arthrose	
1.2 L'ARTHROSE	
1.2.1 Les facteurs de risques	
1.2.2 Traitements	
1.2.3 Médiateurs inflammatoires et cataboliques dans l'arthrose	
1.2.3.1 Les protéases	<i>15</i>
1.2.3.2 Les cytokines proinflammatoires	
1.2.3.3 Les cytokines anti-inflammatoires et les facteurs de croissa	nce 16
1.2.3.4 Le monoxyde d'azote 1.3 L'ÉNERGIE SOURCE DE STRESS OXYDATIF	
1.3 L'ÉNERGIE SOURCE DE STRESS OXYDATIF	
1.3.1 La mitochonarie 1.3.1.1 La mitochondrie et l'arthrose	1 (
1.3.1.1 La muochonarie et l'arinrose	
1.3.2 Stress oxydatif	2
1.3.2.1 Les espèces réactives de l'oxygène dans l'arthrose	
1.3.2.1 Les especes reactives de l'oxygene dans l'arthrose 1.3.2.2 Système antioxydant enzymatique	
1.3.2.2 Système amioxydam enzymanque	2:
1.3.2.2.2 Glucose-6-phosphate déshydrogénase	
1.3.2.3 Système antioxydant non enzymatique	
1.3.3 Peroxydation des membranes lipidiques	2
1.3.3.1 4-hydroxy-2-nonénale	
1.3.3.1.1 Le 4-hydroxynonénal et l'arthrose	32
1.3.3.1.2 Glutathion S-Transférase	3.
1.4 Problématique	3 <u>.</u>
1.5 Hypothèses	3 <u>.</u>
1.6 OBJECTIFS	
MATÉRIELS ET MÉTHODES	38
2.1 CULTURE CELLULAIRE	

2.2.1 Le diagnostic	3.8
2.1.2 Comité d'éthique	
2.2 ISOLATION DES CHONDROCYTES	
2.3 PRÉPARATION DES CELLULES ET TRAITEMENTS ADMINISTRÉS	
2.4 LYSE CELLULAIRE	
2.4.1 Isolation des mitochondries	
2.4.1.1 Activité des mNADP ⁺⁻ ICDH et cNADP ⁺⁻ ICDH	
2.4.1.2 Activité de la G6PDH	
2.4.1.3 Activité de la COX	
2.4.1.4 Activité de la GST	
2.5 DOSAGE DE PROTÉINES TOTALES	44
2.6 L'INCORPORATION DU GLUCOSE	44
2.7 IMMUNOBUVARDAGE DE TYPE WESTERN	45
2.8 ISOLATION DE L'ARN TOTAL	47
2.8.1 Dosage de l'ARN	48
2.8.2 Transcription inverse et réaction en chaîne de la polymérase en temps réel	48
2.8.2.1 Transcription inverse	
2.8.2.2 Réaction en chaine de la polymérase en temps réel	49
2.8.2.3 Spécificité des amorces	50
2.8.2.4 Efficacité d'amplification	50
2.9 ANALYSES STATISTIQUES	51
RÉSULTATS	52
3.1 EFFET DU HNE À DIFFÉRENTES CONCENTRATIONS SUR L'ACTIVITÉ ET L'EXPRE	SSION DE
LA COX DANS LES CHONDROCYTES OA	
3.2 EFFET DE 10 µM DE HNE EN FONCTION DU TEMPS D'INCUBATION SUR L'ACTIV	
L'EXPRESSION DE LA COX DANS LES CHONDROCYTES OA	
3.3 EFFET DU HNE À DIFFÉRENTES CONCENTRATIONS SUR L'ACTIVITÉ ET L'EXPRE	
LA MNADP+-ICDH DANS LES CHONDROCYTES OA	
3.4 EFFET DE 10 µM DE HNE EN FONCTION DU TEMPS D'INCUBATION SUR L'ACTIV	
L'EXPRESSION DE LA MNADP+-ICDH DANS LES CHONDROCYTES OA	
3.5 EFFET DU HNE À DIFFÉRENTES CONCENTRATIONS SUR L'ACTIVITÉ ET L'EXPRE	
LA CNADP+-ICDH DANS LES CHONDROCYTES OA	
3.6 EFFET DE 10 µM DE HNE EN FONCTION DU TEMPS D'INCUBATION SUR L'ACTIV	VITÉ ET
L'EXPRESSION DE LA CNADP+-ICDH DANS LES CHONDROCYTES OA	63
3.7 EFFET DU HNE À DIFFÉRENTES CONCENTRATIONS SUR L'ACTIVITÉ ET L'EXPRE	SSION DE
LA G6PDH DANS LES CHONDROCYTES OA	
3.8 EFFET DE 10 µM DE HNE EN FONCTION DU TEMPS D'INCUBATION SUR L'ACTIV	
L'EXPRESSION DE LA G6PDH DANS LES CHONDROCYTES OA	67
3.9 EFFET DU HNE À DIFFÉRENTES CONCENTRATIONS SUR L'ACTIVITÉ ET L'EXPRE	ESSION DE
LA GST DANS LES CHONDROCYTES OA	69
3.10 EFFET DE 10 μ M DE HNE EN FONCTION DU TEMPS D'INCUBATION SUR L'ACTIV	
L'EXPRESSION DE LA GST DANS LES CHONDROCYTES OA	71
3.11 RÉGULATION DU TRANSPORT DU GLUCOSE PAR 10 µM DE HNE EN FONCTION I	
DANS DES CHONDROCYTES OA	
DISCUSSION	75
4.1 CYTOCHROME COXYDASE	75

BIBLIO	GRAPHIE	92
4.6	CONCLUSION	· - 90
	TRANSPORT DU GLUCOSE	
4.4	GLUTATHION S-TRANSFÉRASE	86
	GLUCOSE-6-PHOSPHATE DÉSHYDROGÉNASE	_
4.2	ISOCITRATE DÉSHYDROGÉNASE DÉPENDANTE DU NADP ⁺	79

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I I	Description des	amorces utilisées	50
-------------	-----------------	-------------------	----

LISTE DES FIGURES

Figure 1-1: Description des différentes zones du cartilage et de leurs composantes (Poole, 2001)
Figure 1-2: Le développement de l'OA.
Figure 1-3 : Structure chimique du HNE.
Figure 1-4: Résumé des phénomènes causant la production du HNE lors de la peroxydation lipidique et des
effets divers du HNE sur la cellule3
Figure 1-5 : Description du métabolisme du HNE
Figure 3-1 : Modulation de la COX par le HNE dans les chondrocytes OA. Les cellules ont été incubée
avec le HNE à différentes concentrations (0-20 µM) durant 24 h. Par la suite, l'activité
enzymatique (A), l'expression protéique (B-C) et ARNm (D-E) de la COX-I et -III ont
respectivement été déterminées à l'aide de la spectrophotométrie, de l'immunobuvardage et de la
RT-PCR en temps réel5
Figure 3-2 : Effet du HNE en fonction du temps d'incubation sur l'activité et l'expression de la COX
dans les chondrocytes OA. Les cellules ont été traitées avec 10 µM de HNE pendant différents
temps d'incubation (0-24 h). Par la suite, l'activité enzymatique (A), l'expression protéique (B-C)
et ARNm (D-E) de la COX-I et -III ont respectivement été déterminées à l'aide de la
spectrophotométrie, de l'immunobuvardage et de la RT-PCR en temps réel5
Figure 3-3 : Effet du HNE à différentes concentrations sur l'activité et l'expression de la mNADP+-
ICDH dans les chondrocytes OA. Les cellules ont été incubées avec des concentrations croissante
de HNE (0-20 μM), durant 24 h. Par la suite, l'activité enzymatique (A), l'expression protéique
(B) et ARNm (C) de la mNADP ⁺ -ICDH ont respectivement été déterminées à l'aide de la
spectrophotométrie, de l'immunobuvardage et de la RT-PCR en temps réel5
Figure 3-4 : Effet du HNE à 10 μ M en fonction du temps sur l'activité et l'expression de la mNADP ⁺ -
ICDH dans les chandracytes OA. Les cellules ant été traitées avec 10 µM de HNF pendant

différents temps d'incubation (0-24h). Par la suite, l'activité enzymatique (A), l'expression
protéique (B) et ARNm (C) ont respectivement été mesurées à l'aide de la spectrophotométrie, de
l'immunobuvardage et de la RT-PCR en temps réel60
Figure 3-5 : Effet du HNE à différentes concentrations sur l'activité et l'expression de la cNADP ⁺ -
ICDH dans les chondrocytes OA. Les cellules ont été incubées en présence de concentrations
croissantes de HNE (0-20 μM), durant 24 h. Par la suite, l'activité enzymatique (A), l'expression
protéique (B) et ARNm (C) ont respectivement été déterminées à l'aide de la spectrophotométrie,
de l'immunobuvardage et de la RT-PCR en temps réel62
Figure 3-6 : Effet du HNE en fonction du temps sur l'activité et l'expression de la cNADP ⁺ -ICDH dans
les chondrocytes OA. Les cellules ont été traitées avec 10 μM de HNE durant différents temps
d'incubation (0-24 h). Par la suite, l'activité enzymatique (A), l'expression protéique (B) et ARNn
(C) de la cNADP ⁺ -ICDH ont respectivement été mesurées à l'aide de la spectrophotométrie, de
l'immunobuvardage et de la RT-PCR en temps réel64
Figure 3-7 : Effet du HNE à différentes concentrations sur l'activité et l'expression de la G6PDH dans
les chondrocytes OA. Les cellules ont été incubées avec des concentrations croissantes de HNE (0-
20 μM), durant 24 h. Par la suite, l'activité enzymatique (A), l'expression protéique (B) et ARNm
(C) de la G6PDH ont respectivement été mesurées par spectrophotométrie, immunobuvardage et
RT-PCR en temps réel60
Figure 3-8 : Effet du HNE en fonction du temps sur l'activité et l'expression de la G6PDH dans les
chondrocytes OA. Les cellules ont été traitées avec 10 µM de HNE durant différents temps
d'incubation (0-24 h). Par la suite, l'activité enzymatique (A), l'expression protéique (B) et ARNn
(C) de la G6PDH ont respectivement été mesurées à l'aide de la spectrophotométrie, de
l'immunobuvardage et de la RT-PCR en temps réel68
Figure 3-9 : Effet du HNE à différentes concentrations sur l'activité et l'expression de la GST dans les
chondrocytes OA. Les cellules ont été incubées avec le HNE à différentes concentrations (0-20
μM), durant 24 h. Par la suite, l'activité enzymatique (A), l'expression protéique (B) et ARNm (C
de la GST ont respectivement été mesurées à l'aide de la spectrophotométrie, de
L'immunohuvardage et de la RT-PCR en temps réel

Figure 3-10: Effet du HNE en fonction du temps sur l'activité et l'expression de la GST dans les
chondrocytes OA. Les cellules ont été traitées avec 10 µM de HNE durant différents temps
d'incubation (0-24 heures). Par la suite, l'activité enzymatique (A), le niveau protéique (B) et
ARNm (C) de la GST ont respectivement été mesurées à l'aide de la spectrophotométrie, de
l'immunobuvardage et de la RT-PCR en temps réel72
Figure 3-11 : Effet du HNE en fonction du temps sur le transport du glucose dans les chondrocytes OA.
Le transport du glucose (A) a été mesuré dans l'extrait total des chondrocytes traitées avec $10~\mu M$
de HNE et 10 μCi/ml de [³H]2-déoxyglucose pendant différents temps d'incubation (0-16 h).
L'expression des ARNm de la GLUT1 (B) et de la GLUT9 (C) a été déterminée dans les
annditions décrites précédemment à l'aide de la DT DCD en temps réal

LISTE DES SIGLES ET DES ABRÉVIATIONS

OH radical hydroxyle

2DG [³H]2-déoxyglucose

ADN acide désoxyribonucléique

ADNc ADN complémentaire

AIF facteur inducteur d'apoptose ALDH aldéhyde déshydrogénase

ARE élément de réponse anti-oxydant

ARN acide ribonucléique ARNm ARN messager

ATP adénosine triphosphate
BCA acide bicinchoninique
BSA albumine sérique bovine

CAT catalase

CDNB 1-chloro-2,4-dinitrobenzène

cNADP*-ICDH isocitrate déshydrogénase dépendante du NADP* cytosolique

COX cytochrome c oxydase
COX-I sous-unité I de la COX
COX-III sous-unité III de la COX

CS citrate synthase

DMEM Dubbleco's modified medium

DO densité optique DTT dithiothreitol

ECM matrice extracellulaire F6P fructose 6-phosphate G6P glucose 6-phosphate

G6PDH glucose 6-phosphate déshydrogénase

GAP glycéraldéhyde 3-phosphate
GLUT transporteur de glucose
GPx glutathion peroxydase
GR glutathion réductase
GSH glutathion réduit
GSSG glutathion oxydé
GST glutathion S-transférase
GST-A4 isoforme A4 de la GST

GST-A4 isoforme A4 de la GST H₂O₂ peroxyde d'hydrogène HNE 4-hydroxynonénale IGF-1 facteur de croissance à l'insuline-1

1L interleukine

1L1-Ra récepteur antagoniste de l'IL-1

iNOS forme inductible de l'oxyde nitrique synthase

LIF facteur inhibiteur de leucocytes

MDA malondialdéhyde MMP métalloprotéinase

mNADP⁺-1CDH isocitrate déshydrogénase dépendante du NADP⁺ mitochondriale

MRC chaîne respiratoire mitochondriale

NADP⁺ nicotinamide adénine dinucléotide phosphate, forme oxydée NADPH nicotinamide adénine dinucléotide phosphate, forme réduite

NO monoxyde d'azote

NSAID médicament anti-inflammatoire non stéroïdiens

O₂- anion superoxyde

OA arthrose

ONOO- anion peroxynitrite
P/S péniciline/streptomycine

P38 MAPK P38-protéine kinase mitogène activée

PBS tampon phosphate salin

PCR réaction en chaîne de la polymérase

PGE₂ prostaglandine E2 PKC protéine kinase C R5P ribose 5-phosphate

RIPA tampon de radioimmunoprecipitation

ROS espèces réactives de l'oxygène

RT transcription inverse Ru5P ribulose 5-phosphate

SEM erreure standard à la moyenne

SOD superoxyde dismutase

TGF-β facteur de croissance transformant bêta

TIMP-1 inhibiteur tissulaire de MMP 1

TNF-α facteur de nécrose de tumeur alpha

TTBS tampon salin tris-Tween

V volt

Xu5P xyluose 5-phosphate $\Delta \Psi m$ potentiel membranaire

 $\Delta \varepsilon^{mM}$ coefficient d'extinction millimolaire

Remerciements

Voilà une autre grande étape de ma vie qui s'achève. Ces deux années ont passé assez rapidement. Cette période a été pour moi des plus enrichissantes et éprouvantes à la fois. C'est pourquoi, je dois aujourd'hui dire merci à tous ceux qui m'ont entourée durant ce périple.

Je remercie d'abord mes parents, Lucien et Louise, qui m'ont appris la persévérance et qui m'ont toujours encouragée à aller au bout de moi-même. De plus, ils ont toujours été présents pour moi dans les moments les plus difficiles, même si je ne leur téléphonnais pas souvent, surtout quand tout allait bien.

Je remercie mon patron, Dr Benderdour, pour m'avoir fait confiance, m'avoir guidée subtilement et m'avoir encouragée à me faire confiance. Merci de m'avoir aidée tout au long de ma maîtrise. Je sais que cela n'a pas toujours été facile, mais je crois que je vais garder longtemps plusieurs bons conseils en tête.

Je me dois aussi de remercier tous les membres du laboratoire de m'avoir si bien accueillie, encouragée et appris autant sur le laboratoire que sur la vie de tous les jours. Merci pour tous les dîners en groupe.

Je veux aussi remercier tout le personnel du Centre de recherches de l'hôpital du Sacré-Coeur de Montréal, en particulier Marjorie, Marie-Constance, Danielle et Stéphanie ainsi que les membres des laboratoires du Dr Bichet et celui du Dr Rousseau pour leur générosité, leur écoute quand j'en avais besoin et leurs généreux conseils.

Je dois aussi remercier mon conjoint, Justin, qui a su si bien m'épauler et m'encourager du début jusqu'à la fin de cette aventure. Tu es mon étoile polaire, tu m'as permis de garder le cap jusqu'à la fin.

Je veux finalement remercier tous mes amis qui m'ont toujours encouragée à persévérer et qui ont mis de la joie dans mon coeur lorsqu'il était plus lourd.

Je veux aussi remercier, d'une façon toute particulière, mes amis Christian, Marie-Line, Murielle ainsi que ma belle-mère Christiane pour m'avoir aidée dans les corrections du français et de l'anglais. Vos judicieux conseils m'ont beaucoup éclairée.

Je sais que j'oublie des personnes, je vous prie de me pardonner, mais sachez chers amis, collègues et patron que, sans vous, ce projet n'aurait pas été possible. Je vous remercie du fond du coeur pour tout ce que vous m'avez apporté.

Véronique Côté

INTRODUCTION

1.1 Les articulations

Le corps humain est composé de plusieurs articulations. En plus d'être l'endroit où se rencontrent au moins deux segments osseux, les articulations sont composées de nombreux autres tissus qui forment un ensemble fonctionnel et efficace. Le mouvement de l'articulation est initié par la contraction d'un muscle et par l'étirement du muscle antagoniste. Les muscles sont reliés aux os par leurs tendons. Afin d'augmenter la stabilité et de faciliter le glissement, d'autres tissus, par exemple les ligaments, les bourses, les capsules, les ménisques, le cartilage articulaire recouvrant l'os sous-chondral aux extrémités osseuses ainsi que la membrane synoviale gorgée de liquide synovial, constituent l'articulation (Blanco, Lopez-Armada et Maneiro, 2004). Dans ce travail, c'est le cartilage qui sera étudié.

1.1.1 Le cartilage

Il existe différents types de cartilages : le fibrocartilage, le cartilage élastique et le cartilage hyalin. Le cartilage articulaire est du type hyalin. En conditions normales, dans ce type de cartilage, il n'y a pas de vaisseaux sanguins ou lymphatiques ni de fibres nerveuses (Blanco, Lopez-Armada et Maneiro, 2004). Il utilise toutefois le glucose comme principale source d'énergie et comme précurseur de la synthèse des glycosaminoglycanes (Shikhman, Brinson et al., 2004). Son métabolisme est hautement glycolytique et il produit une grande

quantité d'acide lactique (Richardson *et al.*, 2003). Cette situation est exacerbée par la faible tension en oxygène à l'intérieur du cartilage (Mobasheri *et al.*, 2002 Otte, 1991 Phillips *et al.*, 2005 Richardson *et al.*, 2003).

L'organisation du cartilage est bien adaptée à la fonction de répartition de la charge et de réduction de la friction au niveau du cartilage articulaire situé à la surface de l'os sous-chondral. En effet, le cartilage est constitué en majeure partie de matrice ainsi que d'un faible pourcentage de cellules. Les principaux éléments composant la matrice sont l'eau, les différents types de collagènes, différents protéoglycanes ainsi que d'autres molécules aux fonctions diverses. Par contre, un seul type cellulaire forme le cartilage et ce type cellulaire est nommé chondrocytes. Ci-dessous, nous décrirons brièvement le rôle de certaines de ces composantes pour ensuite décrire les différentes zones de ce type de cartilage.

1.1.1.1 Collagènes

Les différents types de collagène retrouvés dans le cartilage hyalin peuplent de façons différentes les zones du cartilage selon leur fonction. Le collagène de type II, uniquement observé au niveau du cartilage hyalin, est la composante principale de la macrofibrille et confère à ce type de cartilage sa résistance à la pression. Il se présente sous forme de fines fibrilles dispersées dans la substance fondamentale (Wheater, Young et Heath, 2001).

Le collagène de type VI a la particularité de former les microfibrilles situées principalement dans la zone péricellulaire. Sa fonction exacte est toutefois mal connue (Keene, Engvall et Glanville, 1988).

Le collagène de type X est associé aux macrofibrilles et est présent dans la région péricellulaire et dans la zone calcifiée. La fonction du collagène de type X n'est pas tout à fait claire. Pourtant, elle pourrait être liée au support structural (Poole *et al.*, 2001).

1.1.1.2 Protéoglycanes

Il existe plusieurs types de protéoglycanes ayant des propriétés particulières. Les protéoglycanes de type aggrécane sont majoritaires en raison de leur masse et ont pour fonction de fournir une certaine rigidité face à la compression. Ils sont principalement retrouvés dans la région profonde (Poole *et al.*, 2001).

Les décorines riches en résidus leucines se retrouvent dans la même proportion que les aggrécanes. Ces décorines ont pour fonction de réguler la formation des macrofibrilles. En outre, elles se retrouvent principalement à la surface articulaire et dans les régions péricellulaires (Poole *et al.*, 2001).

Le cartilage est aussi composé de protéoglycanes de type biglycane dont la fonction demeure inconnue (Poole *et al.*, 2001).

1.1.1.3 Les chondrocytes

Le cartilage hyalin mature est considéré comme pratiquement acellulaire puisque les chondrocytes ne représentent que deux pour cent de sa masse totale. Les chondrocytes sont des cellules mésenchymateuses différenciées qui jouent un rôle important dans le développement du squelette pendant la formation de l'os sous-chondral. Ces cellules sont responsables de la production de l'ECM. Normalement, les chondrocytes ne se divisent pas après l'adolescence (Blanco, Lopez-Armada et Maneiro, 2004). Ainsi, avec le vieillissement, la proportion de cellules diminue, de même que la synthèse de la matrice qui

atteindra, quant à elle, son seuil inférieur entre l'âge de 20 et 30 ans (Stockwell et Meachin, 1979). Les chondrocytes possèdent un réticulum endoplasmique et un appareil de Golgi bien développé. Ce dernier est activement impliqué dans la glycosylation des glycosaminoglycanes de la matrice nouvellement synthétisée (Mobasheri *et al.*, 2005).

1.1.1.4 Description des zones du cartilage hyalin

Les différents éléments composant ce type de cartilage forment une structure organisée où cinq zones distinctes se superposent. La première figure décrit bien ces zones (Poole, 2001).

La première zone est la zone superficielle. Elle est située à la surface de l'os baignant dans le liquide synovial. Elle s'organise différemment des autres zones et possède les meilleures propriétés de résistance à la tension (Akizuki *et al.*, 1986 Kempson *et al.*, 1973). Dans cette zone, les chondrocytes sont aplatis et alignés parallèlement à la surface (Poole *et al.*, 2001). Ces cellules sont spécialisées dans la sécrétion de « protéine de la zone superficielle » (Schumacher *et al.*, 1999). Cette protéine a pour fonction de lubrifier l'articulation afin de diminuer la friction du cartilage articulaire (Warman, 2000). Les cellules sont entourées de fibrilles de collagène alignées étroitement et de façon parallèle entre elles ainsi que par rapport à la surface articulaire (Poole *et al.*, 2001). C'est dans cette zone que la quantité d'aggrécanes est la plus faible (Venn, 1978). Au contraire, les décorines riches en résidus leucines associés aux fibrilles ainsi que les protéoglycanes de type biglycane y sont présents en grande proportion (Poole *et al.*, 1996 Poole *et al.*, 1986).

Sous cette zone se trouve la zone mitoyenne. Dans cette zone, les cellules ont un aspect plus arrondi et leur densité est plus faible comparativement à la zone précédente

(Poole, 2001). De surcroît, à cet endroit la matrice est riche en protéoglycanes aggrécanes (Poole et al., 2001).

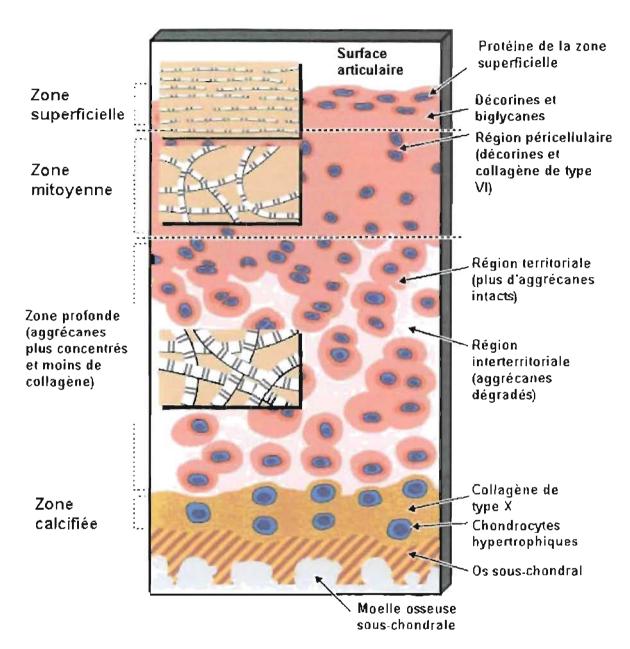


Figure 1.1 Description des différentes zones du cartilage et de leurs composantes (Poole, 2001).

Dans les zones mitoyenne et profonde, le cartilage est parsemé de régions péricellulaires pauvres en fibrilles de collagène et riches en collagène de type VI, en protéoglycanes décorines et en aggrécanes (Keene, Engvall et Glanville, 1988 Poole *et al.*, 1982 Poole *et al.*, 1980 Poole *et al.*, 1986). Il est intéressant de noter que les fibres de collagène dans cette zone ont un diamètre plus large et sont organisées de manière aléatoire (Poole *et al.*, 2001). C'est dans la zone profonde que les cellules sont à leur concentration minimale et que les fibrilles ont leur diamètre maximal (Venn, 1978). Par contre, dans cette zone, la quantité de collagène est minimale (Venn, 1978). Uniquement, dans la zone profonde, se trouvent des régions interterritoriales où il y a présence d'agrégats de protéoglycanes et de nombreux produits de la dégradation des aggrécanes (Poole, 2001).

En dernier lieu, près de l'os sous-chondral se trouve la zone calcifiée. Cette couche partiellement calcifiée est à l'instar d'une zone tampon dont les propriétés mécaniques intermédiaires sont à mi-chemin entre le cartilage non calcifié et l'os sous-chondral. En général, les chondrocytes qui s'y retrouvent sont hypertrophiques (Poole *et al.*, 2001). La différenciation hypertrophique ou terminale est physiologiquement associée à l'apoptose (Blanco, Lopez-Armada et Maneiro, 2004). Lors de sa différenciation, le phénotype de ce type cellulaire est semblable à celui retrouvé dans la formation de l'os endochondral au moment de la fusion et de la réparation des fractures. Ce type de chondrocyte a la capacité de synthétiser du collagène de type X et peut calcifier la matrice extracellulaire (ECM). De plus, la mort des chondrocytes hypertrophiques est un événement important dans la calcification de la matrice et elle est associée à l'invasion vasculaire du cartilage (Blanco, Lopez-Armada et Maneiro, 2004).

1.1.1.5 Métabolisme

À l'intérieur du cartilage, les chondrocytes sont très actifs métaboliquement et expriment différents programmes fonctionnels pour maintenir l'homéostasie lors du remodelage du cartilage suite à un traumatisme ou à l'inflammation (Pelletier *et al.*, 1993). Par exemple, le programme catabolique est induit par des stimuli proinflammatoires et est caractérisé par la sécrétion de protéases, par la suppression de la synthèse de la matrice et par l'inhibition de la prolifération des chondrocytes. Au contraire, la phase anabolique est associée à la sécrétion d'antagonistes des cytokines, à la synthèse d'inhibiteurs de protéases, à la production d'ECM et à la réplication cellulaire.

I.I.I.5.1 Production d'énergie

Tous les processus mentionnés précédemment nécessitent un apport énergétique important et sont donc modulés par la balance entre la génération et la consommation d'adénosine triphosphate (ATP). La production d'ATP, molécule par excellence de l'énergie, est un phénomène essentiel à la survie de toutes les cellules. C'est pourquoi les mécanismes par lesquels les chondrocytes génèrent leur énergie sont sujets à un intérêt particulier (Blanco, Lopez-Armada et Maneiro, 2004). La production d'énergie peut se faire en mode aérobie (glycolyse et cycle de Krebs) et anaérobie (fermentation). Le catabolisme ou la dégradation des divers nutriments (glucides, lipides et protéines) est à la base de ces deux modes. En plus d'être le substrat de nombreuses enzymes (oxygénases et oxydases), dans le mode aérobie, l'oxygène agira comme dernier accepteur d'électrons dans la chaîne de transport d'électrons pour former un gradient qui permettra à l'ATP synthase de produire des molécules d'ATP (36 à 38 en mode aérobie).

Ainsi, plusieurs expériences suggèrent que le glucose et l'oxygène fournis par le liquide synovial peuvent être particulièrement critiques pour les chondrocytes dans la zone profonde et que la glycolyse anaérobique et la production de lactate sont impliquées dans le métabolisme respiratoire du cartilage articulaire même en condition aérobie (Blanco, Lopez-Armada et Maneiro, 2004 Lee et Urban, 1997 Otte, 1991 Spencer, Palmer et Mason, 1990). En effet, la majeure partie des nutriments et de l'oxygène provient, d'un côté du liquide synovial et de l'autre, des vaisseaux sanguins de l'os (Greenwald et Haynes, 1969). Ainsi, il est probable qu'un gradient d'oxygène existe à travers ce tissu en raison de cette asymétrie (Falchuk, Goetzl et Kulka, 1970 Lund-Olesen, 1970). Plus précisément, les chondrocytes situés en surface, près du liquide synovial, sont probablement exposés à une tension normale en oxygène qui se situerait entre 20 et 80 mm Hg, tandis que dans les régions plus profondes, la tension est probablement plus faible (Blanco, Lopez-Armada et Maneiro, 2004). D'ailleurs, Marcus suggère que la faible respiration aérobie des cellules du cartilage doit être une réponse d'adaptation à la faible tension en oxygène (Marcus, 1973). Selon Oegema et Thompson, les zones superficielle et moyenne du cartilage articulaire ne sont pas anoxiques. Dans ce contexte, la phosphorylation oxydative des mitochondries est 18 fois plus efficace dans la génération d'ATP que la glycolyse (Oegema et Thompson, 1986). Toutefois, les expériences menées par Shapiro indiquent que malgré le fait que le cycle de l'acide citrique soit actif dans le cartilage, plus de 80 % du glucose est métabolisé en lactate par la glycolyse anaérobie (Shapiro, Tokuoka et Silverton, 1991). Selon certains auteurs, la phosphorylation oxydative serait plutôt, dans les chondrocytes, un phénomène de dédifférenciation lié à leur mise en culture. Cependant, même en culture, les chondrocytes seraient aussi dépendants de la glycolyse anaérobie puisqu'ils produisent du lactate comme produit final (Blanco, Lopez-Armada et Maneiro, 2004).

1.1.1.5.2 Transport du glucose

En absence de la phosphorylation oxydative, les chondrocytes supportent leur condition hypoxique en générant principalement l'ATP par la voie glycolytique. Ainsi, le maintien de l'apport et du transport du glucose à un niveau physiologique a des conséquences significatives sur la viabilité des chondrocytes, sur la synthèse de l'ECM et sur le développement et l'intégrité fonctionnelle du cartilage (Mobasheri et al., 2002 Phillips et al., 2005 Wang, Zhou et Bondy, 1999). Durant la synthèse de la nouvelle ECM, les chondrocytes incorporent aussi la glucosamine sulfate ainsi que d'autres sucres comme l'hexose sulfate entre les glycosaminoglycanes (Mobasheri et al., 2002). Le transport transmembranaire du glucose est l'étape limitante du métabolisme du glucose. Il est donc facilité par un groupe de transporteurs du glucose (GLUT) (Brown, 2000 Joost et Thorens, 2001 Richardson et al., 2003). À présent, près d'une douzaine de membres de la famille des GLUT ont été identifiés chez l'humain (Joost et Thorens, 2001). Ils transportent, pour la majorité, le glucose à l'exception de la GLUT-5 qui transporte le fructose (Richardson et al., 2003). L'expression de ces isoformes varie selon les tissus et les types cellulaires (Rogers et al., 2002). Ils ont différentes propriétés cinétiques et sont régulés en fonction du développement (Rogers et al., 2002).

En 2002, Mobasheri et al. ont identifié au moins trois isoformes de GLUT dans les chondrocytes humains normaux, soit la GLUT-1, -3, -6 (aussi appelé GLUT9) (Mobasheri et al., 2002). En 2001, Shikhman ajoute à cette liste la GLUT-8 (Shikhman et al., 2001). Certains auteurs proposent que d'autres isoformes de la famille GLUT/SLC2A (GLUT5, -

10, -11, -12) soient présents dans les chondrocytes matures (Mobasheri *et al.*, 2002 Mobasheri *et al.*, 2002 Richardson *et al.*, 2003 Shikhman *et al.*, 2001). Toutefois, ces dernières isoformes ont probablement une plus faible expression. La diversité de l'expression de l'ensemble des membres des GLUT n'est pas encore bien expliquée dans les chondrocytes (Mobasheri *et al.*, 2005).

1.1.1.5.2.1 Régulation des GLUT dans l'arthrose

La régulation du transport du glucose peut être effectuée selon deux mécanismes principaux : 1) la modulation de la synthèse et de l'incorporation à la membrane des GLUT et 2) la modification des GLUT quant à leur affinité pour le glucose (Shikhman, Brinson et Lotz, 2004).

La dégradation du cartilage articulaire est un phénomène inhérent à l'OA qui est associée à l'altération du métabolisme du glucose (Dunham *et al.*, 1989 Dunham, Hoedt-Schmidt et Kalbhen, 1992 Nahir, Vitis et Silbermann, 1990 Sandell et Aigner, 2001). De plus, de récentes études suggèrent que la dégénération du cartilage survient de manière concomitante avec des dysfonctions endocriniennes ou encore avec un déséquilibre au niveau du glucose (Denko et Malemud, 1999 Okma-Keulen et Hopman-Rock, 2001 Rosenbloom et Silverstein, 1996). Les mécanismes moléculaires régulant l'apport en glucose et son métabolisme sont donc importants dans la physiologie du cartilage et dans la pathogénèse de l'OA (Shikhman, Brinson et Lotz, 2004). Les GLUT donnent le moyen d'accélérer le transport du glucose et d'augmenter l'utilisation de substrats en réponse à une stimulation proinflammatoire (Richardson *et al.*, 2003 Shikhman *et al.*, 2001 Shikhman *et al.*, 2001). Il est donc probable que la stimulation du transport du glucose et l'augmentation de l'expression des GLUT soient un évènement précoce et soutenu dans le processus

catabolique du cartilage (Richardson *et al.*, 2003). Cependant, l'augmentation de la capture du glucose par les chondrocytes pourrait aussi être liée à une dépendance mutuelle des voies cataboliques et anaboliques (Shikhman *et al.*, 2001). Par exemple, les cytokines proinflammatoires telles que l'IL-1β et TNF-α stimulent l'expression et l'incorporation membranaire des GLUT-1 et -6 dans les chondrocytes articulaires humains normaux (Shikhman *et al.*, 2001). Les effets de l'IL-1β sur le transport du glucose, dans les chondrocytes, requièrent l'activation des protéines kinases C (PKC) et de la P38 MAP kinase (P38 MAPK) (Geng, Valbracht et Lotz, 1996 Shikhman *et al.*, 2001 Tsuru *et al.*, 2002). Contrairement à l'IL-1β, le TGF-β accélère le transport du glucose, probablement en modifiant l'affinité des GLUT envers le glucose, sans affecter l'expression et l'incorporation des GLUT (Shikhman, Brinson et Lotz, 2004). L'effet du TGF-β serait régulé, quant à lui, par les PKC et les ERK (Mulder, 2000 Shikhman, Brinson et Lotz, 2004 Tsuru *et al.*, 2002).

Dans l'OA, un autre facteur, l'IGF-1, semble être impliqué dans la diminution observée de la croissance et de la réparation du cartilage en raison de l'incapacité des chondrocytes, provenant des articulations humaines OA, à répondre efficacement aux stimulations de ce facteur (Dore *et al.*, 1994). Un faible changement dans la concentration de glucose, dans le micro-environnement de l'ECM, peut déséquilibrer les activités anaboliques de l'IGF-1 et promouvoir une variété de pathologies dans l'articulation (Liote et Orcel, 2000 Rosenbloom et Silverstein, 1996). En somme, Shikhman propose que les différences entre les voies cataboliques et anaboliques proviendraient de leurs voies de signalisation (Shikhman, Brinson et Lotz, 2004).

1.2 L'arthrose

L'OA est probablement la pathologie articulaire la plus commune. Elle touche plus de la moitié de la population agée de 65 ans (Arden et Nevitt, 2006). Elle est plus fréquente chez la femme que chez l'homme (Kellgren et Moore, 1952 Oliveria *et al.*, 1995).

Cliniquement, les premiers symptômes rencontrés sont la douleur et le gonflement, deux symptômes reflétant bien l'inflammation (Arden et Nevitt, 2006). L'évolution de cette maladie peut causer une diminution de la mobilité ainsi qu'une déformation articulaire. Certaines douleurs peuvent être ressenties lors du moindre mouvement de l'articulation OA. Les articulations les plus touchées sont les hanches, les genoux, les mains, les pieds, le cou et la colonne vertébrale lombaire (Newman *et al.*, 2003).

Par définition, l'OA est décrite comme un trouble non inflammatoire progressif et chronique de l'articulation menant à la détérioration du cartilage articulaire et elle est associée à la détérioration de l'os à la surface et aux bords de l'articulation (Gutteridge, 1993 Kehrer, 1993). Blanco et al. divisent la progression de la maladie en trois étapes (Blanco, Lopez-Armada et Maneiro, 2004). La première étape implique la destruction protéolytique de la matrice cartilagineuse. La deuxième étape survient lors de la fibrillation et de l'érosion de la surface du cartilage. Par ailleurs, les fissures et l'apparition de graves ulcérations peuvent mener à l'entière disparition du cartilage à la surface de l'articulation et elles sont accompagnées par le relâchement de produits de la destruction dans le liquide synovial. L'étape finale est celle où l'inflammation synoviale débute. En effet, lorsque les cellules synoviales ingèrent les produits de la dégradation par phagocytose, elles produisent

Arthrose evoluee

de nombreux médiateurs inflammatoires et cataboliques tels que les protéases et les cytokines proinflammatoires. Ce processus est illustré dans la figure 1-2.

Muscle Cartilage Capsule Symovate Cavité afficulaire Tendon Os cortical Children C

Arthrose debutante

De l'articulation normale à l'arthrose

Figure 1.2: Le développement de l'OA.

Articulation normale

http://www.rhumatologie.asso.fr/images/arthrose/arta14.jpg

1.2.1 Les facteurs de risques

Bien que l'étiologie ne soit pas parfaitement connue, elle semble être multifactorielle. Il semble que certains facteurs de risques systémiques sont susceptibles d'augmenter le risque de l'OA. On retrouve entre autres les changements sur le plan structurel, moléculaire et mécanique liés au vieillissement, aux hormones sexuelles, en particulier à l'æstrogène, à la densité osseuse, à la génétique et à la nutrition. D'autres facteurs de risques tels que les facteurs biomécaniques locaux semblent, quant à eux, jouer un rôle décisif dans la détérioration du cartilage suite à l'exposition de l'articulation aux blessures sévères et aux charges excessives appliquées à l'articulation (Arden et Nevitt, 2006).

1.2.2 Traitements

Jusqu'à présent, les traitements en vigueur pour l'OA sont principalement symptomatiques. Le repos de l'articulation est essentiel lors des douleurs intenses. Par la suite, lorsque la douleur est supportable, il est important de maintenir une bonne musculature par des exercices modérés. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (NSAID) tels que les comprimés d'aspirine et de diclofénac ainsi que les anti-inflammatoires corticoïdes, administrés par infiltration intra-articulaire, seront utilisés pour soulager la douleur et l'enflure. De plus, les comprimés de sources naturelles tels que le sulfate de glucosamine et la chondroïtine sulfate sont aujourd'hui acceptés dans le traitement de l'OA (Gaby, 1999). Toutefois, lorsque le cartilage est complètement érodé ou encore lorsque la douleur est importante, l'arthroplastie (remplacement total de l'articulation) s'avère un traitement de choix. Cependant, elle n'est utilisée qu'en dernier recours, entre autres, en raison des risques d'infections et des coûts qu'elle entraîne.

1.2.3 Médiateurs inflammatoires et cataboliques dans l'arthrose

Il semblerait que la production excessive des médiateurs inflammatoires et cataboliques par la membrane synoviale enflammée et les chondrocytes activés soit impliquée dans la pathophysiologie de l'OA (Martel-Pelletier, di Battista et Lajeunesse, 1999 Martel-Pelletier et al., 2000). Ces médiateurs sont associés à des altérations fonctionnelles, non seulement au niveau synovial, mais aussi au niveau du cartilage et de l'os sous-chondral. Ils seraient d'abord produits par la membrane synoviale et ils diffuseraient dans le cartilage en passant d'abord par le liquide synovial. Une fois activés, les chondrocytes peuvent aussi produire des protéases ainsi que d'autres facteurs cataboliques. En effet, il semblerait que les chondrocytes OA soient une source importante

de métalloprotéinases (MMP). En plus des MMP, il est de plus en plus reconnu que les chondrocytes ont la capacité de sécréter des médiateurs de l'inflammation et des cytokines tels que le NO, les prostaglandines, l'interleukine-1 bêta (IL-1β), l'IL-6, l'IL-8 et le TNF-α (Caron *et al.*, 1996 van de Loo *et al.*, 1995). De plus, cette cascade serait responsable du catabolisme, de l'apoptose des chondrocytes et d'autres changements structurels associés à la progression de la maladie.

1.2.3.1 Les protéases

La famille des MMP est maintenant reconnue pour son rôle dans les changements structurels du cartilage (Martel-Pelletier *et al.*, 2000 Pelletier, Martel-Pelletier et Howell, 2000). La collagénase-3 (MMP-13) est l'enzyme la plus active au niveau de la dégradation du collagène de type II et elle est exprimée sélectivement dans des conditions pathologiques telle l'arthrite (Martel-Pelletier et Pelletier, 1996). Il n'est donc pas étonnant que ce soit l'une des MMP les plus ciblées dans la recherche de molécules inhibitrices de la dégradation du collagène de type II (Pelletier, Martel-Pelletier et Abramson, 2001). Une autre protéase, l'aggrécanase, est responsable du clivage des protéoglycanes. Les protéoglycanes sont d'ailleurs retrouvés dans le liquide synovial des patients OA (Pelletier, Martel-Pelletier et Abramson, 2001). D'autres enzymes de la famille des protéases, comme par exemple les activateurs de plasminogène/système des plasmines et la cathepsin B, sont présentes dans le cartilage, mais elles joueraient principalement un rôle dans l'activation des MMP (Pelletier, Martel-Pelletier et Abramson, 2001).

1.2.3.2 Les cytokines proinflammatoires

Il est postulé que les cytokines ont un rôle pathophysiologique dans le développement et la progression de l'OA (Abramson *et al.*, 2001 Lotz, 2001). Les

cytokines proinflammatoires telles que l'IL-1β et le TNF- α auraient un rôle majeur dans la destruction du cartilage (Caron *et al.*, 1996 van de Loo *et al.*, 1995). Ces deux cytokines ont la capacité de stimuler leur propre production en plus d'induire, dans les chondrocytes et les synoviocytes, d'autres cytokines telles que l'IL-8, l'IL-6, le facteur inhibiteur de leucocytes (LIF), les protéases et la prostaglandine E2 (PGE₂) (Pelletier, Martel-Pelletier et Abramson, 2001).

Une augmentation de la production d'IL-1β est décrite dans le cartilage âgé et OA (Loeser *et al.*, 2002). L'IL-1β représente, par ailleurs, une des principales cytokines proinflammatoires initiant la séquence d'évènements menant à la dégradation de la matrice extracellulaire du cartilage (Lotz, 2001). Dans les chondrocytes, l'IL-1β stimule la production de MMP telles la MMP-1 et la MMP-13 ainsi que la production d'enzymes dégradant les protéoglycanes telles les aggrécanases et les hexoaminidases (Pratta *et al.*, 2003 Shikhman, Brinson et Lotz, 2000 Vincenti et Brinckerhoff, 2002). De plus, l'IL-1β induit la synthèse du monoxyde d'azote (NO), de la cyclooxygénase-2 et de l'IL-6 et elle supprime la synthèse des glycosaminoglycanes sulfatés (Abramson *et al.*, 2001 Gouze *et al.*, 2001 Lotz, 2001).

1.2.3.3 Les cytokines anti-inflammatoires et les facteurs de croissance

Un grand nombre de cytokines anti-inflammatoires, comme l'IL-4, l'IL-10 et l'IL-13, sont augmentées dans le liquide synovial des patients OA (Martel-Pelletier, Alaaeddine et Pelletier, 1999). Elles provoquent une régulation à la hausse du récepteur antagoniste de l'IL-1 (IL-1Ra) et des inhibiteurs tissulaires des MMP-1 (TIMP-1). Ainsi, par différents mécanismes, elles réduisent la production et l'activité de l'IL-1β, du TNF-α et des MMP.

De plus, le TGF-β1 stimule la synthèse de la matrice extracellulaire et la prolifération cellulaire (Vincenti et Brinckerhoff, 2002). Le TGF-β1 est aussi un antagoniste fonctionnel de l'IL-1β. En addition à cela, il prévient la dégradation du collagène induite par cette IL et il restore la synthèse de protéoglycanes supprimée par cette dernière (Fawthrop *et al.*, 1997 Van den Berg *et al.*, 2001). De plus, le TGF-β1 joue un rôle important dans la différenciation ostéochondrogénique (Fawthrop *et al.*, 1997 Van den Berg *et al.*, 2001).

1.2.3.4 Le monoxyde d'azote

Le NO est une molécule multifonctionnelle qui initie des processus biologiques variés. Plusieurs investigateurs ont noté une augmentation de la synthèse de NO chez les patients OA (Amin *et al.*, 2000 Lotz, 1999 Studer *et al.*, 1999). En effet, le cartilage OA produit une grande quantité de NO, ce qui se traduit par une grande quantité de nitrite/nitrate dans le liquide synovial et le sérum des patients atteints d'arthrite (Farrell *et al.*, 1992). Ces phénomènes sont causés par une augmentation de la forme inductible de l'oxyde nitrique synthase (iNOS) (Amin *et al.*, 1995 Grabowski *et al.*, 1997 McInnes *et al.*, 1996 Pelletier *et al.*, 1996). En présence de l'anion superoxyde (O₂-), le NO peut former l'anion peroxynitrite (ONOO-) probablement responsable des modifications du potentiel membranaire (ΔΨm) et de différents phénomènes associés à l'apoptose (Yasuhara *et al.*, 2005).

Le NO est aujourd'hui considéré comme un facteur important agissant sur le cartilage par différents mécanismes (Amin et Abramson, 1998). Il est capable de réduire la synthèse de protéoglycanes aggrécanes, d'augmenter la synthèse des MMP et d'induire l'apoptose des chondrocytes (Murrell, Jang et Williams, 1995 Pelletier, Martel-Pelletier et Abramson, 2001 Taskiran *et al.*, 1994).

1.3 L'énergie source de stress oxydatif

1.3.1 La mitochondrie

La mitochondrie est un organite complexe qui oxyde un grand nombre d'intermédiaires métaboliques. Les complexes multienzymatiques, situés dans la membrane interne de la mitochondrie ainsi que dans la matrice, oxydent les intermédiaires du cycle de l'acide citrique. L'ATP est générée par l'activité d'une pompe à proton électrogénique située dans la membrane interne de la mitochondrie. L'énergie nécessaire à la synthèse de l'ATP provient du gradient de pH et du potentiel électrique à travers la membrane mitochondriale (Maneiro *et al.*, 2003).

La respiration mitochondriale joue un rôle critique dans l'homéostasie métabolique liée au stress oxydatif dans les cellules et les tissus (Chen *et al.*, 2003 Duchen, 2004 Enns, 2003 Fariss *et al.*, 2005 Ide *et al.*, 1999 Sastre, Pallardo et Vina, 2003 Wallace, 2005). La diminution et la mauvaise phosphorylation oxydative sont donc reliées à plusieurs troubles humains (Kosel *et al.*, 1999 Leonard et Schapira, 2000). Il est aussi possible de voir que les altérations du métabolisme énergétique et de l'état redox sont des facteurs pouvant entraîner la mort cellulaire par apoptose et/ou la nécrose (Aoki *et al.*, 2002 Borutaite et Brown, 2003 Lesnefsky *et al.*, 2001). En effet, l'intégrité de la chaîne respiratoire mitochondriale (MRC) est essentielle à la production d'ATP et au maintien du ΔΨm (Almeida *et al.*, 2001). De plus, la mitochondrie est importante dans la régulation de la survie cellulaire (Green et Reed, 1998 Kroemer, Zamzami et Susin, 1997 Loeffler et Kroemer, 2000 Petit *et al.*, 1995 Zamzami *et al.*, 1995). Par conséquent, les signes classiques de la mort cellulaire sont précédés par des altérations mitochondriales incluant la

perte du ΔΨm, une diminution dans la production d'énergie, une augmentation de la perméabilité membranaire associée au gonflement mitochondrial et au déchirement de la membrane externe de la mitochondrie ainsi qu'au relâchement de facteurs proapoptotiques comme le cytochrome c, le facteur inducteur d'apoptose (AIF) et les procaspases (Almeida et al., 2001 Cleeter et al., 1994 Crompton, 1999 Kluck et al., 1997 Kroemer, Zamzami et Susin, 1997 Nicotera, Leist et Ferrando-May, 1998 Petit et al., 1995 Petit et al., 1997 Vander Heiden et al., 2000 Vayssiere et al., 1994).

1.3.1.1 La mitochondrie et l'arthrose

Les informations détaillées à propos des mitochondries dans le cartilage humain et les chondrocytes sont peu nombreuses. Pourtant, selon Maneiro, les chondrocytes OA ont une activité réduite des complexes II et III, sans modification significative du complexe IV, par rapport au cartilage normal, ce qui compromet la cascade d'électrons (Maneiro *et al.*, 2003). De plus, la masse mitochondriale semble augmenter dans l'OA, telle que suggérée par l'augmentation de l'activité de la citrate synthase (CS). Maneiro suggère qu'il y ait deux populations cellulaires dans les cellules OA dépolarisées, chacune d'elles possédant un nombre différent de mitochondries avec un ΔΨm normal et de ce fait une susceptibilité différente à subir l'apoptose (Maneiro *et al.*, 2003).

Le NO peut diminuer l'activité de phosphorylation oxydative des complexes I-III et/ou IV, ce qui induit des changements significatifs dans le ΔΨm des mitochondries en réduisant la consommation d'oxygène et en diminuant la quantité d'ATP (Johnson *et al.*, 2000 Stefanovic-Racic *et al.*, 1994 Tomita *et al.*, 2001). Dans les chondrocytes, deux études ont montré que les donneurs de NO supprimaient la respiration et la génération d'ATP, ce qui suggère qu'il pourrait être l'une des causes de la perte de matrice et de la

minéralisation du cartilage (Johnson *et al.*, 2000 Tomita *et al.*, 2001). Pour le moment, les chercheurs ignorent toujours si l'inhibition des fonctions mitochondriales par le NO module de façon certaine la pathogénèse de l'OA (Maneiro *et al.*, 2003).

1.3.1.1.1 Cytochrome c oxydase

La cytochrome c oxydase (COX) est le complexe terminal (complexe IV) de la chaîne respiratoire des mitochondries et des bactéries (Musatov et al., 2002). Sa fonction est de catalyser le transfert d'électrons à partir du cytochrome c jusqu'à la molécule d'oxygène et de générer le gradient de protons nécessaire à la synthèse de l'ATP (Malatesta et al., 1995 Musatov et al., 2002). L'intégrité fonctionnelle de la COX est essentielle au transfert d'énergie (Capaldi, 1990). De plus, il semblerait que la COX régule le métabolisme énergétique mitochondrial (Capaldi, 1990 Kadenbach et al., 2000).

L'enzyme retrouvée dans les mammifères est constituée de 13 sous-unités différentes qui forment un monomère (Capaldi, 1990 Kadenbach *et al.*, 1983). Les trois plus grandes sous-unités sont les sous-unités I à III. Elles sont encodées par le génome mitochondrial et constituent le noyau fonctionnel de l'enzyme (Musatov *et al.*, 2002). Les plus petites sous-unités, encodées par le génome nucléaire, entourent le noyau central (Musatov *et al.*, 2002). Le rôle de ces dernières est toujours l'objet de débats (Musatov *et al.*, 2002). Toutefois, certaines sont connues pour stabiliser la forme dimérique et pour lier structurellement l'oxydase aux cardiolipines (Sedlak et Robinson, 1999 Tsukihara *et al.*, 1996). D'autres ont probablement des fonctions de régulation puisqu'elles se lient à des effecteurs allostériques comme les nucléotides et/ou les hormones (Kadenbach, 1986 Kadenbach et Merle, 1981 Poyton *et al.*, 1988 Rohdich et Kadenbach, 1993).

1.3.2 Stress oxydatif

Les organismes aérobies sont la cible d'attaques constantes par les espèces réactives de l'oxygène (ROS) lors de l'utilisation de leur métabolisme régulier (Apel et Hirt, 2004). Environ 1 à 2 % de l'oxygène utilisé par la mitochondrie est transformé en ROS à l'étape intermédiaire de la chaîne respiratoire (Garcia-Ruiz *et al.*, 1995) et le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Ces molécules sont très réactives et causent des dommages aux macromolécules biologiques menant à la peroxydation lipidique, à l'oxydation des protéines et à la modification de l'ADN (Boveris et Cadenas, 1975 Boveris et Chance, 1973 Cerutti, 1985 Chance, Sies et Boveris, 1979 Gutteridge et Halliwell, 2000 McLennan et Degli Esposti, 2000 Musatov *et al.*, 2002).

La production de ROS peut être augmentée lorsque la chaîne de transport d'électrons est altérée (Ambrosio et al., 1993 Bindoli, 1988 Das et al., 1989 Sciamanna et Lee, 1993 Veitch et al., 1992). Il n'est donc pas étonnant de constater que les mitochondries soient des cibles importantes des radicaux libres, ce qui peut entraîner une dysfonction sur le plan mitochondrial associée à une augmentation de la production d'aldéhydes de la peroxydation lipidique (Ambrosio et al., 1993 Salganik et al., 1994 Sciamanna et Lee, 1993 Sun et Gilboe, 1994 van Jaarsveld et al., 1994 Veitch et al., 1992). De plus, dans le cadre de différentes maladies associées au stress oxydatif, la dégénération de la fonction mitochondriale pourrait être l'un des acteurs de la perte de fonctions cellulaires (Ambrosio et al., 1993 Bindoli, 1988 Das et al., 1989 Salganik et al., 1994 Sciamanna et Lee, 1993 Sun et Gilboe, 1994 van Jaarsveld et al., 1994 Veitch et al., 1992).

En effet, une augmentation excessive et soutenue de la production de ROS est impliquée dans le vieillissement et la pathogenèse de plusieurs maladies telles que le cancer, le diabète, les dommages d'ischémie/reperfusion, les désordres neurodégénératifs, l'hépatotoxicité, les dommages de divers organes par l'alcool, les maladies cardiovasculaires et pulmonaires de même que les maladies de la peau causées par les rayons UV (Ames, Shigenaga et Hagen, 1993 Duchen, 2004 Enns, 2003 Fariss *et al.*, 2005 Higuchi *et al.*, 1996 Kaplowitz et Tsukamoto, 1996 Sastre, Pallardo et Vina, 2003 Singh *et al.*, 1995 Wallace, 2005 Yu, 1996). En résumé, les altérations de l'intégrité de la membrane et le métabolisme énergétique couplé à la phosphorylation oxydative peuvent mener à une augmentation de la production de ROS dans les cellules (Chen *et al.*, 2003 Ide *et al.*, 1999).

1.3.2.1 Les espèces réactives de l'oxygène dans l'arthrose

Les ROS peuvent oxyder et endommager différents constituants de l'articulation tels que le collagène, les protéoglycanes et les hyluronanes (Dimock, Siciliano et McIlwraith, 2000 Haklar *et al.*, 2002 Kawai, Kubota et Okabe, 2000). Par ailleurs, les patients OA démontrent un niveau d'espèces oxydantes élevé dans le liquide synovial (Gutteridge, 1993 Kehrer, 1993). Cette observation est appuyée par la diminution de la viscosité du liquide synovial des patients OA (Ostalowska *et al.*, 2006). Bien que les mécanismes entraînant la dégradation de la matrice du cartilage ne soient pas totalement élucidés, il semble que les ROS soient des facteurs de premier ordre dans ce processus (Greenwald, 1991 Henrotin, Bruckner et Pujol, 2003 Martin *et al.*, 2004 Martin *et al.*, 2004).

1.3.2.2 Système antioxydant enzymatique

Puisque les ROS sont un groupe fonctionnel hautement oxydant, continuellement présent dans les processus physiologiques normaux, ils doivent être éliminés afin de

permettre à la cellule de survivre (Gerbitz, Gempel et Brdiczka, 1996 Vlassara, Bucala et Striker, 1994).

La première ligne de défense contre les ROS est la superoxyde dismutase (SOD) qui retire les O₂- en catalysant la réaction de dismutation (Ostalowska et al., 2006). La catalase (CAT) protège les cellules et les tissus en décomposant directement le H₂O₂. Les enzymes de transformation du glutathion (GSH) éliminent le H₂O₂ par des réactions catalysées, entre autres, par la glutathion peroxydase (GPx) (Ostalowska, Birkner et al., 2006). La GPx utilise le GSH comme un co-substrat pour réduire le H₂O₂ (ou les lipides hydroperoxydes) en donnant un produit final, le glutathion oxydé (GSSG). Par la suite, ce dernier sera recyclé en GSH par la glutathion réductase (GR) (Gerard-Monnier et Chaudiere, 1996 Puiggros et al., 2005 Sies, 1985). Ce phénomène est nommé le cycle d'oxydoréduction de la GSH et il fournit une protection cellulaire contre les ROS (Puiggros, Llopiz et al., 2005). Le niveau de GSH peut aussi être modifié par des réactions de conjugaisons avec des éléments électrophiles qui sont catalysés par la glutathion S-transférase (GST) (van Bladeren, 2000). Cette enzyme est fortement impliquée dans la détoxification des produits oxydants. L'efficacité de plusieurs de ces enzymes dépend toutefois de la production de NADPH nécessaire au maintien d'un état rédox normal du ratio GSH/GSSG (Mailloux, Singh et Appanna, 2006 Margaill, Plotkine et Lerouet, 2005).

1.3.2.2.1 Isocitrate déshydrogénase

Chez les mammifères, il existe deux types d'isocitrates déshydrogénases qui catalysent la décarboxylation de l'isocitrate en α-kétoglutarate (Henderson, 1968 Jennings et al., 1994). La première est l'isocitrate déshydrogénase dépendante du NAD⁺ (NAD⁺-ICDH). Elle est localisée dans la mitochondrie. La seconde comprend deux isoformes, la

mitochondriale (mNADP⁺-ICDH) et la cytosolique (cNADP⁺-ICDH) toutes deux dépendantes du NADP⁺. Les NADP⁺-ICDH sont des homodimères de 413 acides aminés par sous-unité avec une masse moléculaire d'environ 47 kDa et un pI de 9,0 (cf Swis-Prot accession no P33198) (Benderdour *et al.*, 2003). La mNADP⁺-ICDH, se trouve aussi dans la fraction nucléaire et cytosolique de certaines cellules, entre autres, dans les cellules cardiaques et rénales. La cNADP⁺-ICDH est aussi détectée dans les peroxysomes d'hépatocytes de rats (Benderdour *et al.*, 2003 Geisbrecht et Gould, 1999 Yoshihara *et al.*, 2001). Ces deux isoformes proviennent du génome nucléaire et sont encodées par deux gènes distincts (Huh *et al.*, 1993 Loftus *et al.*, 1994 Yang *et al.*, 1996). Les NADP⁺-ICDH ont la capacité de catalyser la réaction réversible suivante :

Isocitrate + $NADP^+ + 2H^+ \Leftrightarrow 2$ -oxoglutarate + $NADPH + H^+ + CO_2$

À l'exception de son rôle dans la régulation du cycle de Krebs, le rôle physiologique des deux ICDH n'était pas tout à fait compris jusqu'en 2002 (Haraguchi, Mabuchi et Yokota, 2003 Koh et al., 2004 Yoshihara et al., 2001). À ce jour, un groupe de chercheurs a mis en évidence leur rôle dans la défense cellulaire contre des dommages du stress oxydatif (Jo et al., 2001 Lee et al., 2002 Maeng et al., 2004 Yang, Yang et Park, 2004). Ce groupe a démontré que les deux formes de NADP⁺-ICDH jouent un rôle important dans la régénération du GSH en favorisant la production du NADPH (Rall et Lehninger, 1952 Vogel et al., 1999). Cette découverte a entraîné un nouvel intérêt pour ces enzymes (Benderdour et al., 2004 Kamiya et al., 2001). Toutefois, une étude indiquait que la cNADP⁺-ICDH dans le foie de rat était respectivement de 16 et 18 fois plus active dans la production de NADPH que la G6PDH et la ME (Veech, Eggleston et Krebs, 1969). Récemment, encore plusieurs rôles de la NADP⁺-ICDH mitochondriale ont été proposés.

Ces rôles consistent à la régulation du cycle de Krebs en sens inverse en transformant l'α-kétoglutarate en isocitrate plus NADP⁺ et à la régulation du métabolisme des lipides (Koh *et al.*, 2004 Sazanov et Jackson, 1994).

Le ratio de cNADP⁺-ICDH / mNADP⁺-ICDH peut varier d'un tissu à l'autre. Dans le cœur, la mNADP⁺-ICDH représente 95% de l'activité totale de cette enzyme, alors que dans le foie, c'est la cNADP⁺-ICDH qui est majoritaire (Haraguchi, Mabuchi et Yokota, 2003 Henderson, 1968 Macfarlane, Mathews et Dalziel, 1977 Minich, Yokota et Dringen, 2003 Plaut, Cook et Aogaichi, 1983 Yoshihara *et al.*, 2001).

Toutefois, il semble que lorsque ces enzymes sont exposées au NO et à certains produits de la peroxydation lipidique tels que le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxy-2-nonénale (HNE), les NADP⁺-ICDH sont susceptibles de subir des dommages oxydatifs tels qu'indiqué par la perte de leur activité et par la formation de groupe carbonyle (Yang *et al.*, 2002 Yang, Yang et Park, 2004). Les dommages causés aux NADP⁺-ICDH induits par un stress oxydatif peuvent mener à une perturbation dans la défense cellulaire (Yang, Yang et Park, 2004).

1.3.2.2.2 Glucose-6-phosphate déshydrogénase

La G6PDH a pour fonction de catalyser le transfert d'un ion hydrure (H⁺) au NADP⁺. Cet ion provient du C1 du glucose 6-phosphate (G6P) et est transformé en 6-phosphoglucono-d-lactone. Cette réaction s'inscrit ainsi :

$$G6P + NADP^{+} \rightarrow 6$$
-phosphoglucono-d-lactone + $NADPH + H^{+}$

Cette enzyme utilise uniquement le NADP⁺ et elle est inhibée de façon allostérique par le NADPH (Eggleston et Krebs, 1974 Loreck *et al.*, 1987). Puisque la G6PDH constitue

l'étape limitante de la voie des pentoses phosphates, cette inhibition par le NADPH est un moyen efficace de contrôler sa production par cette voie. La phase oxydative de la voie des pentoses phosphates permet la formation de deux molécules de NADPH pour chaque molécule de G6P et une molécule de ribulose 5-phosphate (Ru5P). Le Ru5P est un précurseur indispensable dans la biosynthèse des nucléotides et polynucléotides d'ARN et d'ADN (Horton et al., 2000 Matsubara et al., 2001). Dans la phase non-oxydante, l'excès de Ru5P pourra être transformé en xyluose 5-phosphate (Xu5P), en fructose 6-phosphate (F6P) et en glycéraldéhyde 3-phosphate (GAP) (Horton et al., 2000 Voet et Voet, 1998). Selon les besoins métaboliques, ces derniers, en tant qu'intermédiaires de la glycolyse, pourront être dégradés par cette voie ou encore recyclés par la gluconéogenèse pour reformer du G6P (Horton et al., 2000 Voet et Voet, 1998). Le ribose 5-phosphate (R5P), quant à lui, est un intermédiaire de la phase non oxydante (Horton et al., 2000 Voet et Voet, 1998).

Cette enzyme a longtemps été perçue comme l'enzyme principale dans la génération du NADPH (Yang, Yang et Park, 2004). En effet, son rôle dans la réponse au stress oxydatif est bien établi dans les levures, les érythrocytes humains et dans les cellules souches de souris (Pandolfi *et al.*, 1995 Salvemini *et al.*, 1999 Scott *et al.*, 1991). La production de NADPH par la voie des pentoses phosphates utilise environ 10% du glucose total consommé par les érythrocytes. Dans d'autres types cellulaires comme par exemple les muscles et le cerveau, la consommation de glucoses par cette voie est minime.

Chez l'homme, la déficience en G6PDH est l'enzymopathie la plus fréquente avec environ 400 millions de personnes atteintes. Ces personnes possèdent une faible activité de la G6PDH et sont sujettes à une anémie hémolytique suite à une administration de

primaquine, un médicament utilisé pour traiter la malaria (Voet et Voet, 1998). Cette condition peut être due à la présence de différentes mutations de ce gène (Voet et Voet, 1998).

1.3.2.3 Système antioxydant non enzymatique

En plus des enzymes mentionnées précédemment et du GSH, d'autres agents réducteurs et fixateurs de radicaux libres comme l'urate, le 2-oxoglutarate et les tocophérols fournissent à la cellule une protection non enzymatique contre les ROS (Singhal *et al.*, 1999).

1.3.3 Peroxydation des membranes lipidiques

Les mécanismes responsables des dysfonctions cellulaires liées au stress oxydatif demeurent nébuleux. Par contre, le phénomène de la peroxydation lipidique induit par le stress oxydatif est aujourd'hui bien décrit (Uchida, 2000). Ce sont les ROS, dont le NO fait aussi partie, qui sont responsables du processus où les lipides de la membrane sont oxydés, générant ainsi différents aldéhydes (Yang, Yang et Park, 2004). En raison de leurs caractéristiques structurales, les aldéhydes sont classés en trois catégories : 2-alkenals, 4-hydroxy-2-alkenals et kétoaldéhydes (Uchida, 2003). Il semblerait que ces aldéhydes soient impliqués dans certains événements pathophysiologiques associés au stress oxydatif dans les cellules et les tissus, c'est pourquoi plusieurs de ces aldéhydes sont considérés comme des seconds messagers toxiques (Esterbauer, Schaur et Zollner, 1991).

Plus particulièrement, les groupements acyles hautement insaturés sont extrêmement sensibles aux dommages oxydatifs, ce qui conduit à une production de produits lipidiques réactifs et hautement toxiques tels que le MDA et le HNE (Esterbauer,

Schaur et Zollner, 1991 Shigenaga, Hagen et Ames, 1994). Lors du stress oxydatif, ces aldéhydes réactifs atteignent une concentration locale suffisamment élevée (1mM) pour réagir avec plusieurs acides aminés telles les lysines, les histidines et les cystéines (Bolgar, Yang et Gaskell, 1996 Szweda *et al.*, 1993 Uchida et Stadtman, 1992).

1.3.3.1 4-hydroxy-2-nonénale

Le niveau de HNE est souvent élevé dans les cellules et leurs organites en présence de conditions oxydantes (Blasig *et al.*, 1995 Chen, Schenker et Henderson, 1997 Chen et Yu, 1994 Tsukamoto *et al.*, 1995). Le HNE est le principal aldéhyde α-β-insaturé produit lors de la peroxydation non enzymatique des acides gras ω-6-polyinsaturés tels l'acide linoléique (18:2) et l'acide arachidonique (20:4) qui est induite par les radicaux libres (Esterbauer *et al.*, 1986 Esterbauer, Schaur et Zollner, 1991).

Le HNE est aujourd'hui considéré comme un important médiateur des dommages cellulaires liés au stress oxydatif (Esterbauer, 1993 Esterbauer, Schaur et Zollner, 1991). Malgré que le HNE ait longtemps été considéré comme un simple marqueur des dommages tissulaires, son rôle en tant que «second messager toxique», selon l'hypothèse d'Esterbauer, devient de plus en plus accepté (Benderdour *et al.*, 2004 Esterbauer, Schaur et Zollner, 1991). Le HNE est généralement considéré comme le plus toxique des aldéhydes (Esterbauer, Schaur et Zollner, 1991). Tel que présenté à la figure 1-3, il est possible de constater que c'est un aldéhyde hautement réactif qui est constitué de neuf carbones et qui possède trois groupes fonctionnels, le double lien C=C, le groupe –OH et le groupe -CHO (aldéhyde) (Esterbauer, Schaur et Zollner, 1991). Il possède une grande stabilité et il peut facilement diffuser à travers les membranes pour attaquer d'autres compartiments cellulaires ou extracellulaires (Uchida et Stadtman, 1993).

Figure 1.3 Structure chimique du HNE.

Ce sont ses caractéristiques chimiques qui déterminent la réactivité du HNE avec différentes espèces moléculaires, particulièrement avec les protéines, mais aussi avec les acides nucléiques. En outre, il affecte les lipides en favorisant la peroxydation lipidique (Chen et Yu, 1994 Esterbauer, Schaur et Zollner, 1991 Park et Floyd, 1992 Uchida *et al.*, 1993). De façon plus détaillée, le HNE peut former des complexes stables avec les protéines par des additions de Michael avec les résidus nucléophiles lysyls, sulfhydriles ou histidyls, ou encore, il peut former des complexes par les bases de Schiff avec les acides aminés primaires (Benderdour *et al.*, 2004 Bolgar, Yang et Gaskell, 1996 Brodie et Reed, 1990 Chen, Henderson et Freeman, 2001 Esterbauer, Schaur et Zollner, 1991 Ishii *et al.*, 2003 Kanazawa et Ashida, 1991 Szweda *et al.*, 1993 Uchida, 2003 Uchida et Stadtman, 1992, 1993). Son atome C3 oléfinique peut aussi agir comme un centre électrophile avec les résidus guanines de l'ADN (Esterbauer, Schaur et Zollner, 1991).

Les effets cytopathologiques du HNE sont nombreux et très diversifiés. Ils incluent l'inactivation, par des modifications irréversibles, de la glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase (GAPDH), de la G6PDH, de la COX et de la GR (Benderdour *et al.*, 2004 Brodie et Reed, 1990 Chen *et al.*, 1998 Chen, Bertrand et Yu, 1995 Ishii *et al.*, 2003 Kanazawa et Ashida, 1991 Palinski *et al.*, 1989 Palinski *et al.*, 1990 Szweda *et al.*, 1993 Uchida, 2003 Uchida et Stadtman, 1993 Vander Jagt *et al.*, 1997). Il peut aussi induire la lyse des érythrocytes, l'activité chimiotactique des neutrophiles et l'inhibition de la

synthèse de l'ADN, de l'ARN et des protéines (Benedetti, Comporti et Esterbauer, 1980 Curzio et al., 1986 Esterbauer, Schaur et Zollner, 1991 Hauptlorenz et al., 1985 Poot et al., 1988 Uchida et al., 1999). Ces effets cytotoxiques sont induits par différents mécanismes incluant l'interaction directe avec des récepteurs, des facteurs de transcription et d'importantes protéines catalytiques, l'altération des mécanismes de transduction des signaux et l'atténuation du niveau de GSH (Esterbauer, Schaur et Zollner, 1991 Feng, Hu et Tang, 2004 Uchida, 2003 Uchida et al., 1999).

En outre, le HNE est aussi un agent mutagène, carcinogène et apoptotique dans plusieurs cultures cellulaires (Ahmed et al., 2002 Kruman et al., 1997 Laurora et al., 2005 Patrick et al., 2005). Ces effets génotoxiques, attribués au HNE, mènent à l'échange de chromatides sœurs, à la formation de micronoyaux et à la fragmentation de l'ADN (Ahmed et al., 2002 Esterbauer, Schaur et Zollner, 1991 Kruman et al., 1997 Laurora et al., 2005 Patrick et al., 2005). Bien que le mécanisme par lequel le HNE induit l'apoptose n'est pas complètement élucidé, il est clair que le HNE peut induire la libération du cytochrome *c* depuis la mitochondrie, en raison d'une augmentation de la fluidité membranaire (Chen et Yu, 1994 Ji *et al.*, 2001). Un résumé de ces phénomènes est représenté dans la figure 1-4.

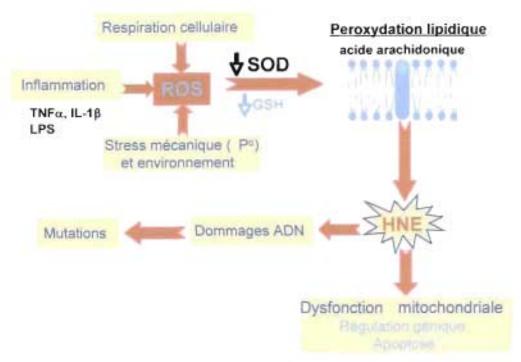


Figure 1.4 : Résumé des phénomènes causant la production du HNE lors de la peroxydation lipidique et des effets divers du HNE sur la cellule.

Dans la cellule, il existe un grand nombre de voies métaboliques permettant la détoxification et l'excrétion cellulaire du HNE (Choudhary et al., 2005). Plus précisément, le HNE est métabolisé en majeure partie par trois voies (Esterbauer, Schaur et Zollner, 1991 Hartley, Ruth et Petersen, 1995 Siems et al., 1997 Ullrich et al., 1994). Il est suggéré que le métabolite oxydatif, l'acide 4-hydroxy-2-nonénoique, est produit par l'oxydation du HNE catalysé par l'aldéhyde déshydrogénase (ALDH), tandis que le métabolite réduit, le 1,4-dihydroxy-2,nonene, est produit par la réduction du HNE par l'alcool déshydrogénase (ADH). Enfin, la conjugaison du HNE avec la GSH est catalysée par la GST (Chen, Schenker et Henderson, 1997). La figure 1-5 illustre l'ensemble de ces processus.

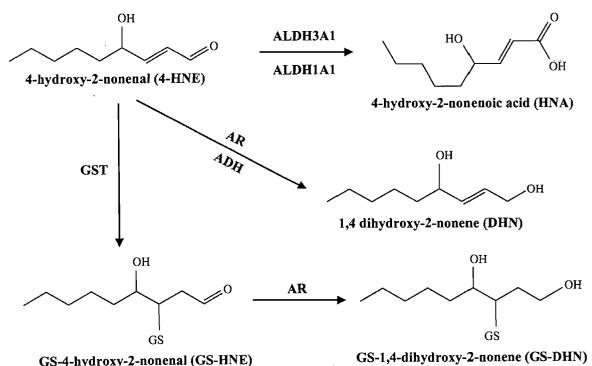


Figure 1.5: Description du métabolisme du HNE. Le métabolite oxydatif, l'acide 4-hydroxy-2-nonénoique, est produit par l'oxydation nicotine adénine dinucléotide (NAD)-dépendante du HNE catalysé par l'aldéhyde déshydrogénase (ALDH), tandis que le métabolite réduit, 1,4-dihydroxy-2,nonene, est produit par la réduction du HNE dépendante du NAD réduit (NADH) par l'alcool déshydrogénase (ADH). Enfin, la conjugaison du HNE avec la GSH est catalysée par la GST (Chen, Schenker et Henderson, 1997). http://www.biochemj.org/bj/376/0615/bj3760615a06.gif

1.3.3.1.1 Le 4-hydroxynonénal et l'arthrose

Notre groupe de recherche s'intéresse aux effets du HNE dans l'OA. Nous avons démontré récemment que le niveau du HNE est élevé dans le liquide synovial des patients OA comparativement aux sujets normaux (Morquette *et al.*, 2006). Dans cette étude, il a été rapporté que le HNE pourrait induire le catabolisme du cartilage en agissant sur le plan transcriptionel et post-traductionel de l'expression du collagène type II et de la MMP-13 (Morquette *et al.*, 2006). De plus, cet aldéhyde a la capacité de réguler la COX-2 et l'iNOS en modulant deux voies de signalisation distinctes (Vaillancourt *et al.*, 2006). Dans une étude plus récente encore, Shi et al. ont démontré que le HNE pourrait être impliqué dans l'altération du métabolisme cellulaire des ostéoblastes OA (Shi *et al.*, 2006).

1.3.3.1.2 Glutathion S-Transférase

Le GSH et les enzymes qui lient le GSH sont des éléments majeurs dans la défense cellulaire, entre autres, contre les effets toxiques du HNE (Alin, Danielson et Mannervik, 1985). La GST représente l'enzyme la plus connue et la plus efficace dans l'élimination du HNE (Alin, Danielson et Mannervik, 1985 Hayes et Pulford, 1995).

Chez les mammifères, les GST se trouvent dans le cytosol et dans les mitochondries. Ce sont des protéines homodimériques et hétérodimériques dont la masse moléculaire se situe entre 25 et 28 kDa (Hayes et Pulford, 1995 Ketterer, Meyer et Clark, 1988).

Les GST sont classifiées selon sept sous-familles: Alpha (A), Mu (M), Pi (P), Thêta, Sigma, Kappa et Zeta (Board et al., 1997 Hayes et Pulford, 1995 Ketterer, Meyer et Clark, 1988 Mannervik et al., 1985 Pemble, Wardle et Taylor, 1996). L'ensemble de ces sous-familles peut utiliser le 1-chloro-2,4-dinotrobenzene (CDNB) comme substrat (Alin, Danielson et Mannervik, 1985 Habig, Pabst et Jakoby, 1974). Par contre, la GSTA4-4, un membre de la famille A, utilise de façon préférentielle le HNE et le conjugue avec le GSH avec une haute affinité (Chen, Henderson et Freeman, 2001 Cheng et al., 2001 Hiratsuka et al., 1999 Hubatsch, Ridderstrom et Mannervik, 1998 Medh et al., 1991 Zimniak et al., 1992 Zimniak et al., 1994). Bien que la GSTA4-4 orthologue apparaisse comme une enzyme mineure dans le cytosol du rat, de la souris et de l'homme, elle possède une activité catalytique extrêmement élevée pour ce qui est de la conjugaison et de la détoxification du HNE lorsqu'on la compare à d'autres isoformes de GST (Alin et al., 1989 Hayes, 1986 Hayes et Pulford, 1995 Medh et al., 1991 Singhal et al., 1994). En effet, la conjugaison du HNE avec le GSH, spécialement par la GSTA4-4, est reconnue comme le principal

mécanisme d'élimination du HNE (Alin, Danielson et Mannervik, 1985 Awasthi, Ansari et Awasthi, 2005 Cheng et al., 2001 Engle et al., 2004 Haenen et al., 1987 Hiratsuka et al., 2000 Hubatsch, Ridderstrom et Mannervik, 1998 Lee et al., 2004 Nakajima et al., 2002 Srivastava et al., 1998). En outre, dans le foie des rats la GSTA4-4 est 100 fois plus active que les autres isoformes. Cela pourrait signifier que la GSTA4-4 joue un rôle essentiel dans la protection des tissus contre les aldéhydes toxiques générés par le stress oxydatif in vivo (Cheng et al., 1999 Hiratsuka et al., 2000 Singhal et al., 1995 Singhal et al., 1994 Singhal et al., 1994 Yang et al., 2001).

De plus, la GSTA4-4 aurait une activité peroxydase lui permettant de procéder à la détoxification de xénobiotiques électrophiles et de leurs métabolites (Singhal *et al.*, 1994 Singhal *et al.*, 1994). Finalement, la GSTA-4 a été localisée dans la membrane plasmique de souris, suggérant son rôle dans la détoxification métabolique des membranes (Singh *et al.*, 2002).

En plus de son rôle dans le métabolisme du HNE, l'expression de la GSTA4-4 semble être régulée par le HNE lui-même (Raza et John, 2006). Sous l'effet du HNE, il y a une augmentation de son ARNm et de son activité. L'augmentation de l'expression de la GSTA4-4 dans la mitochondrie est dépendante de la phosphorylation de PKA/PKC (Rinaldi *et al.*, 2000 Robin *et al.*, 2003). En somme, l'augmentation de l'expression et de l'activité de la GSTA4-4, dans le cytosol et la mitochondrie après le traitement avec le HNE, suggère une adaptation contre le stress oxydatif induit par le HNE (Musatov *et al.*, 2002 Raza *et al.*, 2004 Raza *et al.*, 2002).

1.4 Problématique

L'OA est un problème de santé entraînant des coûts très importants au système de santé. Dans cette pathologie, le phénomène inflammatoire et l'apparition du stress oxydatif ne sont plus à démontrer. Il a été démontré que le HNE, un produit de la peroxydation lipidique toxique induit lors de l'augmentation du stress oxydatif, est augmenté dans les tissus articulaires des patients OA. Par ailleurs, notre groupe de recherche a démontré l'importance de cette molécule dans la pathophysiologie de l'OA. Aujourd'hui, cet aldéhyde est reconnu pour avoir des effets à divers niveaux dans les cellules, entre autres sur les systèmes énergétiques et antioxydants.

Comme il a été décrit dans l'introduction, le maintien du métabolisme énergétique et le maintien de l'équilibre de l'état redox sont deux aspects importants pour la conservation de la viabilité cellulaire. Par contre, une diminution du métabolisme énergétique ainsi qu'une diminution du système antioxydant sont répertoriées dans l'OA. Toutefois, l'implication du HNE dans ce phénomène en ce qui concerne les chondrocytes est toujours à démontrer.

1.5 Hypothèses

Lors du développement de l'OA, l'augmentation du HNE observée dans les tissus articulaires pourrait altérer le métabolisme cellulaire des chondrocytes. Cette altération serait due à la perturbation du flux du glucose à travers la membrane plasmique en raison d'un défaut dans la régulation des GLUT, ainsi qu'à l'inhibition de l'activité et de l'expression d'enzymes clés impliquées dans la production de l'énergie et dans la défense

contre le stress oxydatif. Les effets du HNE sur les différentes enzymes pourraient être attribués, en partie, à l'épuisement du système de détoxification de cet aldéhyde, plus particulièrement à l'épuisement de la GST.

1.6 Objectifs

Ce travail de maîtrise a pour point de départ des données de la littérature sur les propriétés biologiques du HNE. Depuis deux ans, nos études décrivaient que cet aldéhyde a un rôle dans la modification de la matrice extracellulaire grâce à ses propriétés biologiques de se lier au collagène, ce qui rend ce dernier plus susceptible à la digestion par les collagénases. Par ailleurs, le HNE a été décrit comme un facteur modulateur de l'expression des gènes susceptibles d'être impliqués dans la physiopathologie de l'OA tel que la MMP-13, le collagène type II, la COX-2, et l'iNOS.

Pour le moment, les traitements de l'OA demeurent principalement symptomatiques (analgésiques, anti-inflammatoires). Dans l'optique du développement de traitements pouvant prévenir ou stabiliser cette maladie, la recherche conduisant à l'identification de cibles pharmacologiques est indispensable. C'est avec cette vision que nous proposons, dans ce travail, l'étude de différentes enzymes susceptibles d'être affectées par le HNE et susceptibles d'être impliquées dans le maintien du métabolisme énergétique et le maintien du système antioxydant. Ces enzymes comprennent les GLUT, les COX, la G6PDH, les NADP⁺-ICDH et les GST. L'étude de leurs activités et de leurs expressions protéiques et ARNm en présence ou en absence de HNE dans les chondrocytes provenant de patients atteints d'OA seront respectivement effectuées à l'aide de méthodes spectrophotométriques,

de l'utilisation des traceurs radioactifs, de l'immunobuvardage de type Western et de RT-PCR en temps réel.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1 Culture cellulaire

La culture cellulaire est effectuée sous une hotte à flux laminaire (classe II A2) afin de maintenir un environnement stérile. Les cellules sont cultivées, dans des flacons, à haute confluence dans un milieu de culture Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), acheté chez GIBCO, additionné de 10% de sérum fœtal bovin (FBS, HyClone), ainsi que d'antibiotiques composés de pénicilline (100 U/ml) et de streptomycine (100 mg/mL) (P/S 1X) (GIBCO) pour réduire le risque de contaminations. Le milieu complet est renouvelé tous les deux jours. Les flacons sont placés dans un incubateur humide contenant 5% de CO₂ et 95% d'air.

2.2.1 Le diagnostic

Le diagnostic des patients a été établi en accord avec les critères de l'«American College of Rheumatology» (Altman et al. 1986). Au moment de l'intervention, les patients présentaient les symptômes nécessitant un traitement aux anti-inflammatoires non stéroïdiens (NSAID) ou aux inhibiteurs sélectifs de la COX-2.

2.1.2 Comité d'éthique

Le protocole de l'étude impliquait l'utilisation de spécimens humains et a été approuvé par le comité d'éthique du centre de recherche de l'hôpital du Sacré-Cœur de Montréal. Les chondrocytes OA utilisés dans cette étude proviennent de patients âgés

d'environ 67 ± 11 ans (âge ± écart-type), atteints d'OA et ayant subi un remplacement total du genou.

2.2 Isolation des chondrocytes

Les spécimens sélectionnés sont disséqués dans des conditions stériles. Le cartilage découpé en petits morceaux est alors placé dans un contenant stérile et rincé trois fois dans un tampon phosphate salin (PBS: NaCl, 137 mM; Na₂HPO₄, 8.09 mM; KCl, 2.68 mM; KH₂PO₄ 1.47 mM). Il est ensuite laissé pendant 1 heure (h) à la température de la pièce dans du PBS additionné de P/S 5X afin de réduire le risque de contaminations. Le cartilage est ensuite digéré dans un volume de 20 mL de DMEM complet (DMEM + 10% FBS + 1X P/S) contenant 1 mg/mL de protéase de type XIV (SIGMA) pendant 1 h à 37°C sous agitation. Par la suite, il est digéré durant 16 h dans le même milieu de culture contenant 1 mg/mL de collagénase de type I (SIGMA-ALDRICH). Une fois la digestion terminée, le tissu digéré est filtré à l'aide d'un tamis (100 μm Nylon) (BD Falcon[™] fourni par BDbiosciences).

Les cellules sont récupérées par centrifugation à 1000 x g pendant 10 minutes. Le culot cellulaire est à nouveau mis en suspension dans du DMEM complet, puis les chondrocytes isolés sont mis en culture dans des flacons pour environ deux semaines. Le milieu de culture est régulièrement changé, soit tous les deux jours. Seuls les chondrocytes du premier passage seront utilisés.

2.3 Préparation des cellules et traitements administrés

Lorsque les cellules sont prêtes à être utilisées, le milieu de culture DMEM est retiré et les cellules sont rincées avec du PBS puis détachées à l'aide d'un traitement avec 0.05% trypsine-EDTA (GIBCO Invitrogen™) pendant cinq minutes. Les cellules sont ensuite récupérées dans un tube conique qui sera centrifugé 10 minutes à 1000 x g. Les cellules sont alors remises en suspension, à la concentration désirée, dans le milieu DMEM complet, puis ensemencées dans des plaques de six puits. Après 72 h d'incubation, les chondrocytes ont été traités dans du milieu DMEM + 2% FBS + P/S 1 X à différentes concentrations de HNE (0, 1, 2, 5, 10, 20 μM) (Cayman Chemical) pendant 24 h ou à 10 μM de HNE pendant différents temps d'incubation (0, 1, 2, 4, 8, 16 h).

2.4 Lyse cellulaire

Après le traitement, un volume de 200 μL du tampon d'isolation 1X (Mannitol, 220 mM; sucrose, 70 mM; HEPES-KOH, 10 mM, pH 7.4; EDTA, 10 mM; glycérol, 10%) est ajouté dans chaque puits. Par la suite, les cellules sont décollées délicatement à l'aide d'un grattoir de plastique et récupérées à l'aide d'une micropipette pour être déposées dans un microtube de 1,5 mL. Afin de procéder à la lyse cellulaire, nous avons fait subir deux cycles de congélation/décongélation aux cellules. Une fois les cellules lysées, les échantillons sont centrifugés à 1000 x g pendant cinq minutes puis le surnageant est récupéré.

2.4.1 Isolation des mitochondries

Les cellules sont rincées avec du PBS, puis, pendant quatre minutes, elles sont recouvertes de 500 μ L d'eau pure glacée (18,2 m Ω .cm). Par la suite, 500 μ L du tampon d'isolation 2X sont ajoutés. Les cellules sont alors décollées délicatement à l'aide d'un grattoir de plastique et récupérées à l'aide d'une micropipette pour être déposées dans un microtube de 1,5 mL. Afin de faciliter la lyse cellulaire, les cellules ont été passées à plusieurs reprises à travers une aiguille (26G1/2 BD). Par la suite, l'extrait cellulaire est centrifugé pendant 15 minutes à 1000 x g, puis subit une deuxième centrifugation de 15 minutes à 10 000 x g. Le surnageant est récupéré (fraction cytosolique) et le culot (fraction mitochondriale) est mis en suspension dans 500 μ L de milieu d'isolation 1X, puis soniqué pendant trois secondes. La fraction mitochondriale, conservée dans la glace, sera immédiatement utilisée pour la mesure de l'activité enzymatique de différentes enzymes et pour le dosage protéique.

2.4.1.1 Activité des mNADP⁺-ICDH et cNADP⁺-ICDH

La mesure de l'activité des mNADP⁺-ICDH et cNADP⁺-ICDH est réalisée à l'aide de la spectrophotométrie en suivant la réduction du cofacteur NADP⁺ en NADPH à 340 nm. La réaction enzymatique s'effectue dans un milieu réactionnel de la composition suivante : 180 μL de solution contenant 0.5 mM de β-NADP⁺ (SIGMA), 4 mM d'isocitrate (SIGMA), 160 mM de triethanodoloaamine (SIGMA), 3.5 mM de MgCl₂ et 20 μL d'extrait mitochondrial. Le mélange est préalablement chauffé à 37°C, puis mis dans une cuve en quartz. La cinétique enzymatique est suivie à 340 nm pendant deux minutes. L'activité enzymatique est calculée en suivant la méthode suivante:

 $U/mL = pente \ x \ 60 \ (min) \ x \ 0,2 \ mL \ (volume \ final)/6,22 \ x \ 0,02 \ mL \ (volume \ d'essai)$ $U*/mg = U/mL \ / \ mg \ protéines/mL$

* U = unité = μmoles de substrat par minute à 37 °C

2.4.1.2 Activité de la G6PDH

La mesure de l'activité de la G6PDH est réalisée à l'aide de la spectrophotométrie à 340 nm, en mesurant la conversion du NADP⁺ en NADPH par cette enzyme. La réaction enzymatique s'effectue dans un milieu réactionnel de la composition suivante : 180 μL de solution contenant : 50 mM de glycine, 2 mM de D-glucose 6-phosphate, 0,67 mM de β-NADP⁺, 10 mM de MgCl₂ et 20 μL de l'extrait cytosolique. Le mélange est préalablement chauffé à 37°C, puis déposé dans une cuve en quartz. La lecture de la densité optique (DO) s'effectue à 340 nm pendant deux minutes. Le calcul de l'activité enzymatique se fait ainsi :

$$U/mL = \underline{\Delta A_{340}/min \text{ (\'echantillon)}} - \underline{\Delta A_{340}/min \text{ (blanc)}} \times (3) \times (df)$$

$$(6,22) \times (0,1)$$

3 = volume total (m/L) de l'essai df = facteur de dilution 6,22 = coefficient d'extinction millimolaire ($\Delta \epsilon^{mM}$) du β-NADPH à 340 nm 0,1 = volume (mL) de l'enzyme utilisé.

2.4.1.3 Activité de la COX

La mesure de l'activité totale de la COX est effectuée à l'aide d'un kit acheté chez Sigma-Aldrich « Cytochrome c Oxidase Assay Kit ». L'essai est basé sur la diminution de l'absorbance du ferrocytochrome c à 550 nm. Cette diminution est causée pas l'oxydation du ferrocytochrome c en ferricytochrome c par la COX. Les 45 premières secondes représentent la phase rapide de l'activité et sont suivies d'une réaction plus lente. Les mesures ont été effectuées selon le protocole proposé par

SIGMA-ALDRICH. Avant tout, la procédure nécessite la préparation d'une solution de ferrocytochrome *c* réduit avec du dithiothreitol (DTT). Le ratio de l'absorbance à 550 nm/565 nm de cette solution doit être entre 10 et 20. La réaction enzymatique de la COX s'effectue par l'addition, dans une cuve de quartz, des composantes suivantes : 0.95 mL de tampon réactionnel comprenant 10 mM de TRIS-HCl, pH 7.0, 120 mM de KCl et 100 μL d'extrait mitochondrial. La réaction est initiée par l'addition de 50 μL de la solution de substrat de ferrocytochrome *c* à 0.22 mM. La lecture de l'absorbance à 550 nm doit se faire immédiatement et à la température de la pièce en raison de la rapidité de la réaction enzymatique. Les lectures sont effectuées à toutes les dix secondes pour un total de six lectures. L'activité de la COX est calculée comme suit:

 $U/mL = \frac{\Delta A/\min x \text{ dil } x \text{ 1.1}}{\text{(volume d'enzyme) } x \text{ 21.84}}$

 $\Delta A/\min = A/\min$ (échantillon) - A/\min (blanc) dil = facteur de dilution de l'enzyme ou de l'échantillon 1.1 = volume réactionnel en mLvolume d'enzyme = volume d'enzyme ou d'échantillon en mL $21.84 = \Delta \epsilon^{\text{mM}}$ entre le ferrocytochrome c et ferricytochrome c à 550 nm

2.4.1.4 Activité de la GST

Le dosage de l'activité totale de la GST est effectué à l'aide d'un kit commercial acheté chez SIGMA. Le principe de ce dosage spectrométrique est basé sur la conjugaison des groupements thiols du GSH avec le 1-chloro-2,4-dinitrobenzène (CDNB). Le maximum d'absorbance du conjugué GS-DNB est situé à 340 nm. La réaction enzymatique s'effectue dans un milieu réactionnel de la composition suivante : 980 μL du tampon PBS, 10 μL de GSH (200 mM), 10 μL de CDNB (100 mM). Le mélange est déposé dans une cuvette de quartz, puis la réaction est initiée avec l'ajout

de $50~\mu L$ de l'extrait cellulaire. La lecture s'effectue par la mesure de l'absorbance à 340~nm à toutes les 30~secondes pendant cinq minutes. L'activité enzymatique est évaluée selon la formule suivante :

 $\mu \text{mole/mL/min} = \frac{(\Delta A 340/\text{min x volume total})}{(9.6 \text{ x volume de l'extrait})}$

 $\Delta A340/min = A/minute$ (échantillon) - A/minute (blanc) $9,6 = \Delta \epsilon^{mM}$ du CDNB à 340 nm volume de l'extrait = volume (mL) de l'enzyme utilisé

2.5 Dosage de protéines totales

Dans une plaque de 96 puits, une courbe standard a été réalisée en déposant 1, 2, 5, 10 et 20 μL d'albumine sérique bovine (BSA) dont la concentration est de 1 mg/mL. Le premier puits a servi de blanc et ne contenait donc pas de BSA. Dix microlitres de chaque échantillon sont déposés dans chaque puits. Par la suite, le volume est complété à 40 μL finaux avec de l'eau. Chaque puits de standard contient 10 μL du tampon de lyse. La réaction est initiée par l'addition de 160 μL du réactif préalablement préparé en mélangeant 10 mL d'acide bicinchoninique (BCA) avec 0,2 mL de sulfate de cuivre. La réaction se développe sur une période allant de 15 à 30 minutes. Une fois la réaction développée, la plaque est lue à 562 nm à l'aide d'un lecteur de plaques (*EL800 Universal Microplate Reader* BIO-TEK INSTRUMENTS INC.).

2.6 L'incorporation du glucose

Les chondrocytes OA ont été répartis dans les puits d'une plaque de 24 puits dans du DMEM complet à raison de 2 x 10⁵ cellules/puits. Les plaques sont placées

dans l'incubateur pendant 48 heures à 37°C. Au jour de l'expérience, le milieu de culture est remplacé avec du milieu DMEM + 2% FBS + P/S 1X puis les cellules ont été traitées avec des concentrations croissantes du HNE pendant 24 h ou en présence de 10 μM HNE à différents temps d'incubation. À la fin de l'incubation, les cellules ont été lavées trois fois avec du PBS chauffé à 37°C, puis mises de nouveau en culture pendant 20 minutes dans du DMEM sans glucose contenant 10 μCi/mL de [³H]2-déoxyglucose (2DG). Par la suite, le tapis cellulaire est lavé cinq fois avec du PBS froid afin d'éliminer la radioactivité non incorporée, puis lysé avec 200 μL du tampon de lyse (Mannitol, 220 mM; sucrose, 70 mM; HEPES-KOH, 10 mM, pH 7,4; EDTA, 10 mM; glycérol, 10%) en utilisant le processus de congélation/décongélation. Après une centrifugation de 10 minutes à 1000 x g, un volume de 100 μL de l'extrait cellulaire est déposé dans des fioles contenant 3 mL de liquide de scintillation (Amersham). Après 1 h de repos à l'abri de la lumière, le comptage de la radioactivité est effectué dans un compteur PerkinElmer. Les résultats sont exprimés en cpm/mg protéines.

2.7 Immunobuvardage de type western

Le niveau d'expression de différentes protéines a pu être détecté à l'aide de la méthode d'immunobuvardage de type Western. Pour ce faire, des chondrocytes traités dans différentes conditions ont été lysés dans un milieu RIPA (NaCl, 150 mM; EDTA, 1 mM; TRIS, 40 mM, pH 7,6; Tween 20, 1%; Anti-protéase, 100µL/mL), puis récupérés et dílués dans un tampon d'électrophorèse (SDS, 8%; glycérol, 24%; TRIS, 100 mM à pH 6,8; β-mercaptoéthanol, 4% et de bleu de bromophénol, 0,02%). Afin de séparer les protéines, 20 µg de protéines totales provenant de ces extraits et 10 µL de

marqueur de poids moléculaire (*Bench Mark*[™] *Pre-Straine Protein Ladder* Invitrogen[™]) ont migré dans un gel discontinu de polyacrylamide (4-12%) en présence de 0,1% de SDS. La migration est effectuée à 120 V pendant 2 h dans un tampon de migration composé de 0,12 M de TRIS, 0,5 M de glycine et 17,338 mM de SDS. Une fois la migration terminée, les protéines ont été transférées sur une membrane de PVDF (Bio-Rad) ou de nitrocellulose (Bio-Rad) en utilisant un tampon de transfert composé de 25 mM de TRIS, 192 mM de glycine et 20% de méthanol. Les membranes de PVDF doivent être préalablement hydratées par une courte immersion dans l'éthanol 100%, suivie d'une immersion d'environ une minute dans l'eau avant d'être placées dans le tampon de transfert.

L'efficacité du transfert n'a pu être contrôlée seulement lors de l'utilisation des membranes de nitrocellulose. Pour ce faire, la membrane de nitrocellulose a été colorée brièvement à l'aide d'une solution de 5% d'acide acétique contenant 0,1% (p/v) de rouge Ponceau S (Sigma Chemical Co.)

À la suite du transfert, les membranes sont rincées trois fois dans une solution de tampon salin tris-Tween (TTBS) (20 mM de TRIS à pH 7,5; 150 mM de NaCl et 0,1% de Tween 20). Les membranes de PVDF sont ensuite saturées sous agitation pendant 30 minutes dans le TTBS tandis que les membranes de nitrocellulose sont saturées sous agitation pendant une nuit à 4°C dans du TTBS contenant 5% (p/v) de lait écrémé.

Une fois saturées, les membranes sont incubées sous agitation pendant la nuit à 4°C en présence de l'anticorps d'intérêt, dilué dans du TTBS + 10% de solution de

blocage SuperBloc™ (PIERCE). Les anticorps utilisés sont : anticorps polyclonal de chèvre anti-COX-I, III humains (Santa Cruz Biotechnology) à une dilution de 1:200; anticorps polyclonal de lapin anti-G6PDH humain (BETHYL) à une dilution de 1:5000; anticorps polyclonal de souris anti-GSTA4-4 humain à une dilution de 1:1000; anticorps polyclonal de lapin anti-mNADP⁺-ICDH et anti-cNADP⁺-ICDH humains fournis par Dr Sadaki Yokota et utilisés à une dilution de 1:500.

Par la suite, les membranes sont lavées dans le TTBS deux fois cinq minutes, puis deux fois 15 minutes, puis incubées pendant une heure à température de la pièce avec l'anticorps secondaire approprié : Anticorps IgG secondaire anti-lapin (1:20 000 Jackson ImmunoResearch), anti-souris (1:20 000 Jackson ImmunoResearch) ou anti-chèvre (1:10 000, Pierce).

Après une série de lavages (tels que décrits précédemment) les membranes sont incubées à nouveau avec un réactif luminescent pour environ 15 secondes. Les membranes sont enfin exposées à des films Bioflex® EconoFilm (Clonex corporation).

2.8 Isolation de l'ARN total

L'ARN total a été extrait à partir des chondrocytes traités dans différentes conditions en utilisant le réactif TRIzol® (InvitrogenTM) et en suivant les instructions du fabricant. Une fois isolé, l'ARN total a été mis en suspension dans l'eau stérile, puis dosé comme décrit ci-dessous.

2.8.1 Dosage de l'ARN

Afin d'évaluer le plus précisément possible la quantité d'ARN recueillie, le dosage a été effectué à l'aide du *Quant-iT*TM *RiboGreen*® *RNA reagent* (InvitrogenTM). Cette technique est spécifique à l'ARN et est très sensible (en ng d'ARN). Deux gammes étalons d'ARN standard ribosomale (ribosomal RNA standard) (InvitrogenTM) sont réalisées, la première entre 0 et 50 ng et l'autre entre 0 et 6,25 ng d'ARN. Vingtcinq microlitres d'échantillon ou de standard sont déposés dans les puits d'une plaque de 96 puits, ainsi que 25 μL de RiboGreenTM (InvitrogenTM) (1:4000 ou 1:400). La plaque est protégée de la lumière et laissée 10 minutes à la température de la pièce pour laisser la réaction se développer, puis est lue à l'aide du MX3005PTM avec le filtre FAM (exitation 492; émisson 516). La concentration initiale est évaluée par la formule suivante:

 $ng/\mu L$ x facteur de dilution = concentration initiale

2.8.2 Transcription inverse et réaction en chaîne de la polymérase en temps réel

La transcription inverse-réaction en chaîne de la polymérase (RT-PCR) en temps réel a été réalisée en deux étapes :

2.8.2.1 Transcription inverse

La transcription inverse (RT) a été effectuée à l'aide d'un kit acheté chez QIAGEN. Pour ce faire, 100 ng d'ARNm ont d'abord été incubés pendant deux minutes à 42°C en présence de 2 μL de tampon d'élimination d'ADN génomiques contaminants (7X) et d'eau ultra pure pour un total de 14 μL. Par la suite, une solution

contenant les réactifs de la RT est préparée selon une proportion de 1:4:1 de RT Quantiscript (incluant des inhibiteurs de RNase) : de tampon RT Quantiscript (5X) : de mélange d'amorces de RT (incluant du Mg²⁺ et des dNTP), respectivement. Six microlitres de ce mélange sont ensuite additionnés aux 14 μL de la solution précédente avant d'être incubés pendant 20 minutes à 42°C. Par la suite, ils sont incubés à 95°C pendant trois minutes. Une fois l'acide désoxyribonucléique complémentaire (ADNc) synthétisé, il est conservé à -20°C jusqu'au moment de la PCR.

2.8.2.2 Réaction en chaîne de la polymérase en temps réel

Une fois l'ADNc synthétisé, la quantification relative de différents gènes a pu être réalisée par PCR en temps réel. Les amorces ont été commandées chez Montréal Biotech (Roxboro) Québec. Ces amorces ont été choisies pour leurs spécificités avec les gènes étudiés, la longueur des produits de PCR (81-131pb) et leur température d'hybridation (57-59°C). Les amorces sont décrites dans le tableau 1.

La réaction de PCR est réalisée dans une plaque de 96 puits par l'ajout dans chaque puits du «Master Mix» (QIAGEN) contenant 30 mM de chaque amorce, sens et anti-sens, 1x de SYBRGreen, 0,25 unité d'uracil ADN glycosylase (UNG) et 25 μL d'ADNc. La plaque est ensuite placée dans le thermocycleur MX3005PTM (Invitrogen®). L'amplification de l'ADNc se fait pendant 40 cycles composés de 15 secondes à 94°C, 30 secondes à 58°C et 15 secondes à 72°C. Les lectures sont prises à chaque cycle pendant la période d'hybridation avec le filtre FAM (excitation 492; émission 516). La quantité relative d'ARNm initiale a été évaluée par la formule 2-ΔΔCt.

Tableau I Description des amorces utilisées.

Amorce	Longueur de la séquence	Sens 5'-3'	Anti-Sens 5'-3'
GAPDH	104	GCCTCAAGATCATCAGCAATGCCT	TGTGGTCATGAGTCCTTCCACGAT
COXI	131	TGCCATAACCCAATACCAAACGCC	TGGTGTTGAGGTTGCGGTCTGTTA
COX3	81	ACTTCCACTCCATAACGCTCCTCA	GTGTTACATCGCGCCATCATTGGT
G6PDH	90	ATGGTGCTGAGATTTGCCAACAGG	AAAGGGCTCCTTGAAGGTGAGGA'I
GSTA4-4	115	AGGAAGTGGTTAACATGGCCCAGA	TCTGCAAGGCTCAGCTGATTACCA
cNADP*-ICDH	87	TTTGAAGAAGGTGGTGGTGTTGCC	AGCCATTTGGAAGGAACTGTGTGC
mNADP*-ICDH	124	AAGACCTCATCAGGTTTGCCCAGA	TGCTCGTTCAGCTTCACATTGCTG
Glut1	134	ATCCTCATTG CCGTGGTGCT	ACGATGCCAGAGCCGATGGT
Glut9	229	ACTGAGACCCATGGCAAGGAA	GAGTGTCTGGGTCTATTGGA

2.8.2.3 Spécificité des amorces

La spécificité des amorces a pu être confirmée par migration sur gel d'agarose à 2% (p/v) (InvitrogenTM) des différents produits de PCR en présence du tampon TBE (TRIS-borate, 0,090 M; EDTA, 0,002 M). Les brins d'ADN sont révélés par l'incorporation du bromure d'éthidium à 2% (p/v) entre les brins d'ADN. En effet, une seule bande a été observée pour l'ensemble des amorces (résultats non montrés).

2.8.2.4 Efficacité d'amplification

L'efficacité d'amplification, dans les conditions choisies, a été comparée entre les gènes étudiés et le gène de référence GAPDH. Pour étudier les efficacités d'amplification, des dilutions (1 à 1/100 000) d'ADNc ont été amplifiées, puis comparées avec celles du gène de référence. Le ratio des efficacités d'amplification linéaire était accepté lorsqu'il ne dépassait pas 0,14.

Ratio d'efficacité d'amplification = pente des dilutions du gène étudié/ pente des dilutions du gène de référence.

2.9 Analyses statistiques

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM. La valeur statistique des résultats est évaluée par une analyse de variance suivie d'un test de Dunnett à l'aide du programme «InStat3». Les résultats sont statistiquement significatifs lorsque la valeur de p est inférieure à 0,05 (p \leq 0,05).

RÉSULTATS

3.1 Effet du HNE à différentes concentrations sur l'activité et l'expression de la COX dans les chondrocytes OA

Les chondrocytes OA ont d'abord été traités avec le HNE à diverses concentrations (0-20 μ M), pendant 24 h, afin d'étudier l'effet de ce dernier sur l'activité et l'expression de la COX.

Dans les cellules non traitées, l'activité de la COX dans les chondrocytes OA était d'environ 128,3 \pm 7,6 μ mol/mg (moyenne \pm SEM) de protéines totales (figure 3-1A). L'ajout de 1 μ M de HNE n'affecte pas significativement son activité. Toutefois, dès l'ajout des concentrations égales ou supérieures à 2 μ M de HNE, l'activité diminue progressivement et significativement pour atteindre 34% de l'activité initiale, soit une valeur de 43,9 \pm 4,6 μ mol/mg de protéines totales (p \leq 0,01), lors de l'ajout de 20 μ M de HNE (figure 3-1A).

Par la suite, nous avons voulu vérifier si les changements de l'activité de la COX suivaient ceux de l'expression protéique et ARNm de la COX-I et —III. Les résultats illustrés dans les figures 3-1B et 3-1C montrent que le niveau d'expression protéique de la COX-I diminue légèrement en présence de 10 et 20 µM de HNE et que celui de la COX-III ne varie pas en fonction de la concentration de HNE ajoutée après 24 h d'incubation.

Pour ce qui est de l'ARNm, l'expression de la COX-I ainsi que celle de la COX-III n'est affectée significativement par aucune concentration de HNE (0-20 μ M) après 24 h d'incubation (figure 3-1D et 3-1E).

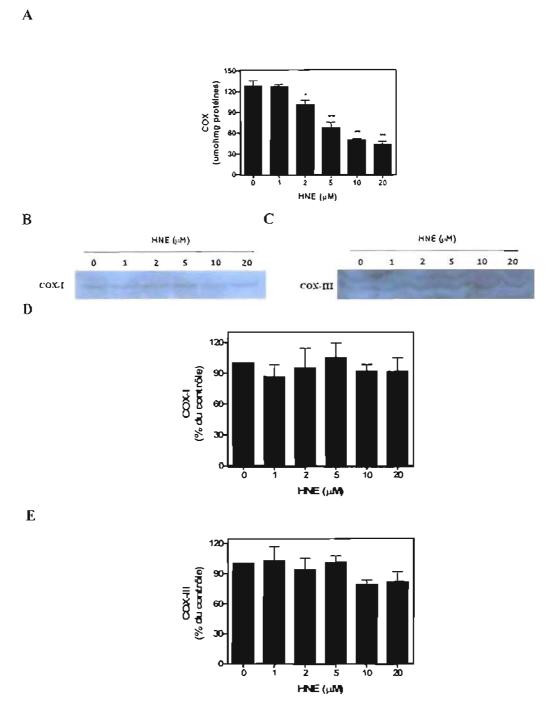


Figure 3-1: Modulation de la COX par le HNE dans les chondrocytes OA. Les cellules ont été incubées avec le HNE à différentes concentrations (0-20 μ M) durant 24 h. Par la suite, l'activité enzymatique (A), l'expression protéique (B-C) et ARNm (D-E) de la COX-1 et -III ont respectivement été déterminées à l'aide de la spectrophotométrie, de l'immunobuvardage et de la RT-PCR en temps réel. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM, $\pi=3$. $^*P \le 0.05$, $^*P \le 0.01$.

3.2 Effet de 10 μM de HNE en fonction du temps d'incubation sur l'activité et l'expression de la COX dans les chondrocytes OA

Afin de mieux comprendre l'effet du HNE en fonction du temps sur la COX, les chondrocytes OA ont été traités en présence de $10~\mu M$ de HNE pour différentes périodes d'incubation (0-24 h).

À l'état basal, l'activité de la COX était d'environ $61,7 \pm 1,9$ µmol/mg de protéines totales (moyenne \pm SEM) (figure 3-2A). En présence de 10 µM de HNE, l'activité de la COX demeure semblable après 2 h d'incubation, mais par la suite, elle diminue significativement pour atteindre une activité de $44,3 \pm 3,8, 39,3 \pm 2,4$ et $37,7 \pm 6,1$ µmol/mg protéines totales après respectivement 4, 8 et 16 h d'incubation, soit une baisse de 27, 36 et 39% de l'activité initiale. La différence n'est toutefois plus significative après 24 h (figure 3-2A).

Au niveau protéique, l'expression de la COX-I et -III a tendance à diminuer légèrement en fonction du temps en présence de 10 μM de HNE (figures 3-2B et 3-2C).

Par ailleurs, pour ce qui est de l'ARNm l'expression des COX-I et COX-III n'est affectée à aucun temps d'incubation en présence de 10 µM de HNE (figures 3-2D et 3-2E).

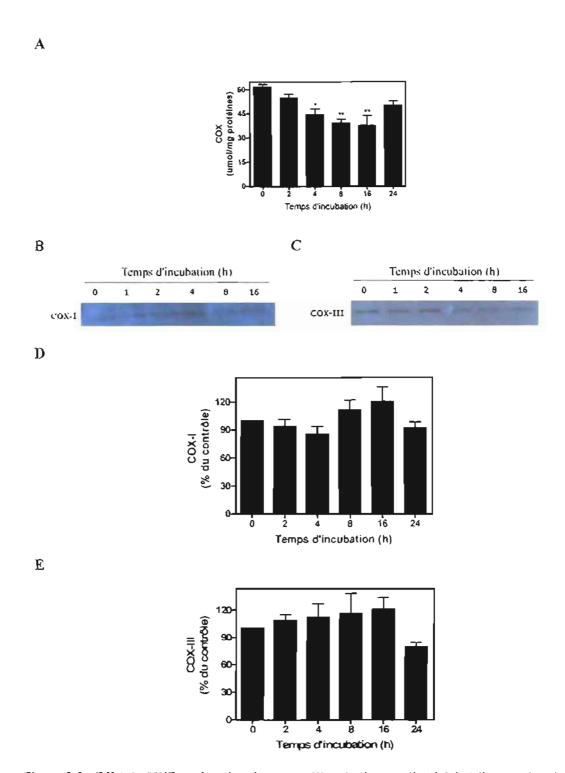


Figure 3-2: Effet du HNE en fonction du temps d'incubation sur l'activité et l'expression de la COX dans les chondrocytes OA. Les cellules ont été traitées avec $10 \mu M$ de HNE pendant différents temps d'incubation (0-24 h). Par la suite, l'activité enzymatique (A), l'expression protéique (B-C) et ARNm (D-E) de la COX-1 et -III ont respectivement été déterminées à l'aide de la spectrophotométrie, de l'immunobuvardage et de la RT-PCR en temps réel. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM, n=3. *P ≤ 0.05 , ** $P\leq 0.01$.

3.3 Effet du HNE à différentes concentrations sur l'activité et l'expression de la mNADP+-ICDH dans les chondrocytes OA

Les chondrocytes OA ont d'abord été traités avec le HNE à diverses concentrations (0-20 µM), pendant 24 h, afin d'étudier l'effet de ce dernier sur l'activité et l'expression de la mNADP⁺-ICDH.

Dans les chondrocytes OA non traités, l'activité de la mNADP⁺-ICDH dans les cellules était d'environ 12.7 ± 0.9 µmol/mg de protéines totales (moyenne \pm SEM) (figure 3-3A). En présence de différentes concentrations de HNE, l'activité de la mNADP⁺-ICDH diminue uniquement à 10 et 20 µM de HNE pour atteindre le niveau de 7.3 ± 1.2 et 5.7 ± 0.3 µmol/mg de protéines totales, soit une baisse de 41 et 45% comparativement au témoin (figure 3-3A).

L'investigation de l'expression protéique de la mNADP⁺-ICDH n'a révélé aucun changement de son niveau lorsque les chondrocytes OA ont été incubés avec des concentrations croissantes de HNE durant 24 h d'incubation comme il est possible de le constater à la figure 3-3B.

Cependant, l'expression de l'ARNm de la mNADP⁺-ICDH quant à elle ne diminue significativement qu'à 20 μ M de HNE et la valeur est d'environ 58% (p \leq 0,05) de la valeur basale (figure 3-3C).

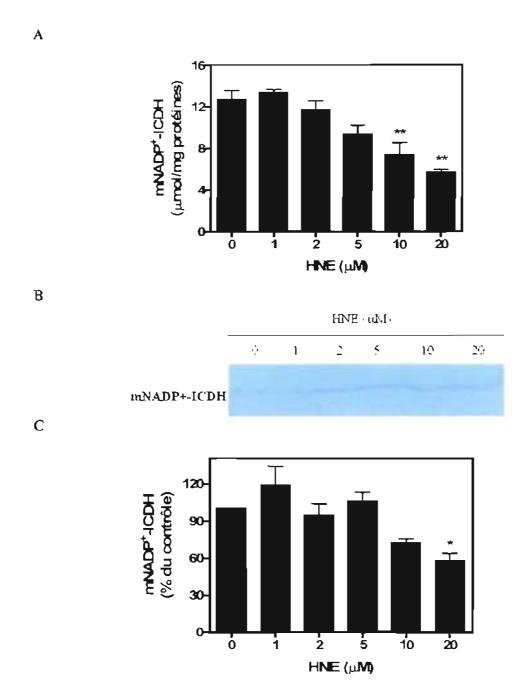


Figure 3-3: Effet du HNE à différentes concentrations sur l'activité et l'expression de la mNADP-1CDH dans les chondrocytes OA. Les cellules ont été incubées avec des concentrations croissantes de HNE (0-20 μ M), durant 24 h. Par la suite, l'activité enzymatique (A), l'expression protéique (B) et ARNm (C) de la mNADP-1CDH ont respectivement été déterminées à l'aide de la spectrophotométrie, de l'immunobuvardage et de la RT-PCR en temps réel. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM, n=3. *P \leq 0,05 ** P \leq 0,01.

3.4 Effet de 10 μM de HNE en fonction du temps d'incubation sur l'activité et l'expression de la mNADP+-ICDH dans les chondrocytes OA

Afin de mieux comprendre l'effet du HNE en fonction du temps sur la mNADP⁺-ICDH, les chondrocytes OA ont été traités en présence de 10 μM de HNE pendant différents temps d'incubation (0-24 h).

En absence de HNE, l'activité de la mNADP⁺-ICDH dans les chondrocytes OA était d'environ $16.0 \pm 0.6 \mu \text{mol/mg}$ de protéines totales (moyenne \pm SEM) (figure 3-4A). En présence de $10 \mu \text{M}$ de HNE, l'activité de la mNADP⁺-ICDH demeure inchangée après 2 h d'incubation, puis elle commence à diminuer de façon graduelle et significative pour atteindre un niveau de 10.7 ± 1.2 , 8.3 ± 0.9 , 7.7 ± 0.9 et $7.3 \pm 1.2 \mu \text{mol/mg}$ de protéines totales (p ≤ 0.05), soit une diminution de 33, 48, 52 et 55% comparativement au témoin (figure 3-4A).

Pour ce qui est de l'expression protéique de la mNADP⁺-ICDH, elle tend légèrement à augmenter en fonction du temps en présence de $10~\mu M$ de HNE, comme il est possible de le constater à la figure 3-4B.

Par ailleurs, l'expression de l'ARNm de la mNADP⁺-ICDH tend à augmenter pendant les 16 premières heures sans pour autant que ces valeurs ne soient significatives. Toutefois, après 24 h d'incubation, l'expression diminue de 28% comparativement au témoin sans que cette valeur ne soit significative (figure 3-4C).

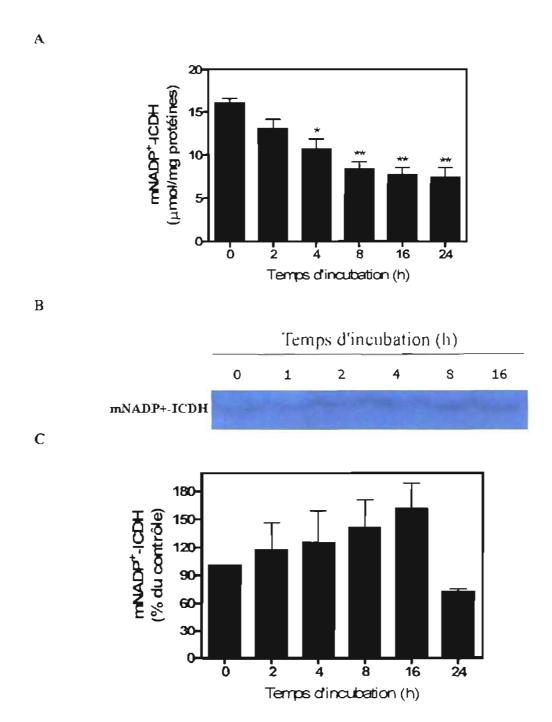


Figure 3-4: Effet du HNE à 10 µM en fonction du temps sur l'activité et l'expression de la mNADP-ICDH dans les chondrocytes OA. Les cellules ont été traitées avec 10 µM de HNE pendant différents temps d'incubation (0-24h). Par la suite, l'activité enzymatique (A), l'expression protéique (B) et ARNm (C) ont respectivement été mesurées à l'aide de la spectrophotométrie, de l'immunobuvardage et de la RT-PCR en temps réel. Les résultats sont exprimés en moyenne ± SEM, n=3. *P≤ 0,05 ** P≤ 0,01.

3.5 Effet du HNE à différentes concentrations sur l'activité et l'expression de la cNADP+-ICDH dans les chondrocytes OA

Les chondrocytes OA ont d'abord été traités avec le HNE à diverses concentrations (0-20 μ M), pendant 24 h, afin d'étudier l'effet de ce dernier sur l'activité et l'expression de la cNADP⁺-ICDH.

Lorsque les chondrocytes OA sont incubés en absence de HNE, l'activité de la cNADP⁺-ICDH dans les cellules était d'environ $83.8 \pm 6.0 \, \mu \text{mol/mg}$ de protéines totales (moyenne \pm SEM) (figure 3-5A). En présence de concentration croissante de HNE (5, 10 et 20 μM de HNE), l'activité de la cNADP⁺-ICDH diminue significativement et de façon graduelle pour atteindre 55.3 ± 6.4 , 51.8 ± 3.6 et $45.8 \pm 3.1 \, \mu \text{mol/mg}$ de protéines totales, soit une baisse de 34 (p \leq 0,01), 38 (p \leq 0,01) et 45% (p \leq 0,01) comparativement à l'activité basale (figure 3-5A).

Nous avons examiné par la suite, par immunobuvardage, le niveau d'expression protéique de la cNADP⁺-ICDH. Après 24 h d'incubation, les résultats présentés dans la figure 3-5B ne montrent aucune variation du niveau de l'enzyme en présence des concentrations croissantes de HNE.

De même, les résultats de RT-PCR en temps réel montrent que le HNE n'exerce aucun effet sur le niveau d'expression des ARNm de la cNADP⁺-ICDH dans les conditions indiquées ci-dessus (figure 3-5C).

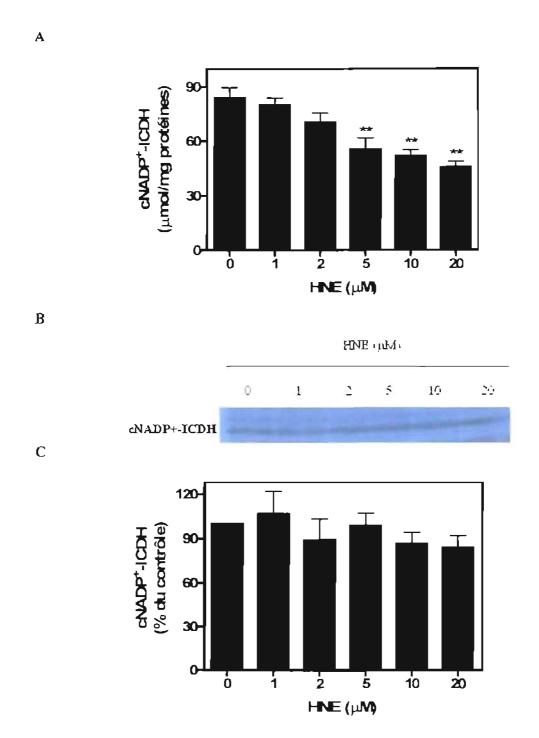


Figure 3-5: Effet du HNE à différentes concentrations sur l'activité et l'expression de la cNADP^{*}-ICDH dans les chondrocytes OA. Les cellules ont été incubées en présence de concentrations croissantes de HNE (0-20 μ M), durant 24 b. Par la suite, l'activité enzymatique (A), l'expression protéique (B) et ARNm (C) ont respectivement été déterminées à l'aide de la spectrophotométrie, de l'immunobuvardage et de la RT-PCR en temps réel. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM, n=3. ** $P\leq 0.01$.

3.6 Effet de 10 µM de HNE en fonction du temps d'incubation sur l'activité et l'expression de la cNADP+-ICDH dans les chondrocytes OA

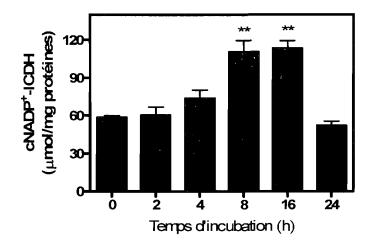
Afin de mieux comprendre l'effet du HNE en fonction du temps sur la cNADP⁺-ICDH, les chondrocytes OA ont été traités en présence de 10 μM de HNE durant différents temps d'incubation (0-24 h).

Comme le montre la figure 3-6A, l'activité basale de la cNADP⁺-ICDH dans les chondrocytes OA était d'environ $58,3 \pm 1,5 \mu \text{mol/mg}$ de protéines totales (moyenne \pm SEM). En présence de HNE, l'activité de la cNADP⁺-ICDH demeure stable jusqu'à 4 h d'incubation puis, par la suite, elle augmente de manière significative après 8 et 16 h d'incubation pour atteindre $110,3 \pm 9,1$ et $113,0 \pm 6,1 \mu \text{mol/mg}$ de protéines totales. Après 24 h d'incubation, l'activité enzymatique retrouve son niveau basal (figure 3-6A).

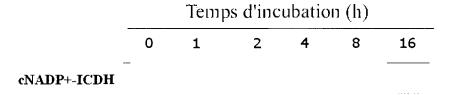
Au niveau protéique, il semble que le HNE à 10 μM n'affecte pas le niveau d'expression de la cNADP⁺-ICDH à l'exception de 16 h où il est possible de constater une augmentation de son niveau par rapport au témoin tel que représenté à la figure 3-6B.

L'expression de l'ARNm de la cNADP⁺-ICDH semble suivre le même profil que celui de son activité. Comme illustrée à la figure 3-6C, cette expression reste stable sous l'effet du HNE à 10 μ M jusqu'à 16 h d'incubation où l'expression se voit augmenter significativement de 200% (p \leq 0,01) par rapport à son expression initiale (figure 3-6C). Toutefois, à 24 h, il est possible de constater une diminution non significative de 13% de l'expression de la cNADP⁺-ICDH.

A



В



 \mathbf{C}

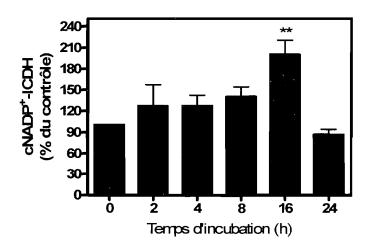


Figure 3-6: Effet du HNE en fonction du temps sur l'activité et l'expression de la cNADP⁺-ICDH dans les chondrocytes OA. Les cellules ont été traitées avec $10~\mu M$ de HNE durant différents temps d'incubation (0-24 h). Par la suite, l'activité enzymatique (A), l'expression protéique (B) et ARNm (C) de la cNADP⁺-ICDH ont respectivement été mesurées à l'aide de la spectrophotométrie, de l'immunobuvardage et de la RT-PCR en temps réel. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm S.E.M, n=3. ** $P \le 0,01$.

3.7 Effet du HNE à différentes concentrations sur l'activité et l'expression de la G6PDH dans les chondrocytes OA

Les chondrocytes OA ont d'abord été traités avec le HNE à diverses concentrations (0-20 µM), pendant 24 h, afin d'étudier l'effet de ce dernier sur l'activité et l'expression de la G6PDH.

Comme représenté dans la figure 3-7A, l'activité basale de la G6PDH dans les chondrocytes OA était d'environ $154.3 \pm 16.8 \mu \text{mol/mg}$ de protéines totales (moyenne \pm SEM). Aucune différence significative n'est notée aux concentrations inférieures à $10 \mu \text{M}$ de HNE pour une période d'incubation de 24 h. Toutefois, en présence de $10 \mu \text{M}$ de HNE, l'activité de cette enzyme diminue significativement à environ 60% de l'activité initiale, soit $92.0 \pm 8.1 \mu \text{mol/mg}$ de protéines totales (p ≤ 0.05). De plus, en présence de $20 \mu \text{M}$ de HNE, elle atteint 48% de l'activité initiale, soit $73.7 \pm 7.2 \mu \text{mol/mg}$ de protéines totales (p ≤ 0.01) (figure 3-7A).

Par ailleurs, l'expression protéique et celle de l'ARNm de la G6PDH ne varient pas en fonction de la concentration de HNE après 24 h d'incubation comme il est possible de le constater aux figures 3-7B et 3-7C.

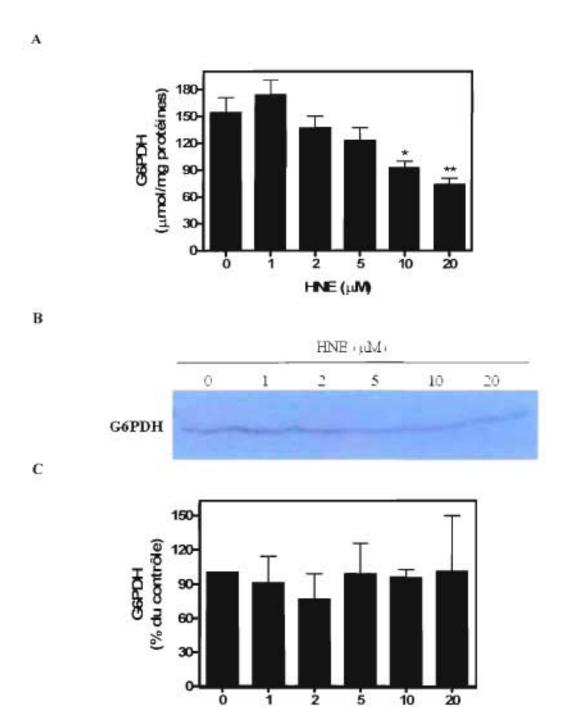


Figure 3-7 : Effet du HNE à différentes concentrations sur l'activité et l'expression de la G6PDH dans les chondrocytes OA. Les cellules ont été incubées avec des concentrations croissantes de HNE (0-20 μM), durant 24 h. Par la suite, l'activité enzymatique (A), l'expression protéique (B) et ARNm (C) de la G6PDH ont respectivement été mesurées à l'aide de la spectrophotométrie, de l'immunobuvardage et de la RT-PCR en temps réel. Les résultats sont exprimés en moyenne ± S.E.M, n=3. *P≤0,05 ** P≤0,01.

HNE (µM)

3.8 Effet de 10 µM de HNE en fonction du temps d'incubation sur l'activité et l'expression de la G6PDH dans les chondrocytes OA

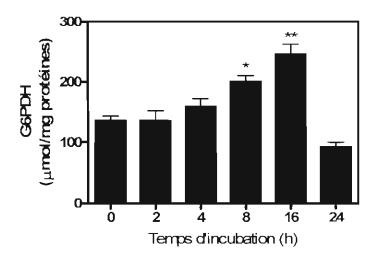
Afin de mieux comprendre l'effet du HNE en fonction du temps sur l'activité et l'expression de la G6PDH, les chondrocytes OA ont été traités en présence de $10~\mu M$ de HNE pendant différents temps d'incubation (0-24 h).

Lorsque les cellules n'ont pas été traitées, l'activité de la G6PDH dans les chondrocytes OA était d'environ 135,3 \pm 8,1 μ mol/mg de protéines totales (moyenne \pm SEM) (figure 3-8A). Après 4 h d'incubation en présence de 10 μ M de HNE, l'activité est demeurée semblable. Toutefois, après 8 h d'incubation, l'activité augmente significativement pour atteindre près de 148% de l'activité initiale, soit 200,3 \pm 10,3 μ mol/mg de protéines totales (p \leq 0,05), puis atteint son maximum (181 %) après 16 h d'incubation, soit 245,3 \pm 16,8 μ mol/mg de protéines totales (p \leq 0,01). Par contre, après 24 h, l'activité enzymatique diminue pour atteindre environ 68% de son niveau initial, toutefois, cette valeur n'est pas significative (figure 3-8A).

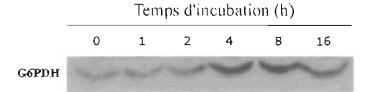
L'expression protéique de la G6PDH à tendance à augmenter après 4 h d'incubation lorsque les cellules sont incubées en présence de $10~\mu M$ de HNE comme il est possible de le constater à la figure 3-8B.

En outre, l'expression de l'ARNm de la G6PDH semble stable jusqu'à 8 h d'incubation en présence de $10~\mu M$ de HNE, puis commence à augmenter pour atteindre $300~\%~(p \le 0,01)$ à 16~h d'incubation par rapport à l'expression initiale. Toutefois, après 24~h d'incubation, l'expression diminue pour se retrouver près de son expression initiale (figure 3-8C).

A



В



C

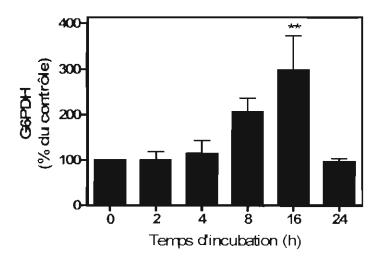


Figure 3-8: Effet du HNE en fonction du temps sur l'activité et l'expression de la G6PDH dans les chondrocytes OA. Les cellules ont été traitées avec $10~\mu M$ de HNE durant différents temps d'incubation (0-24 h). Par la suite, l'activité enzymatique (A), l'expression protéique (B) et ARNm (C) de la G6PDH ont respectivement été mesurées à l'aide de la spectrophotométrie, de l'immunobuvardage et de la RT-PCR en temps réel. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm S.E.M, n=3. *P \leq 0,05 ** P \leq 0,01.

3.9 Effet du HNE à différentes concentrations sur l'activité et l'expression de la GST dans les chondrocytes OA

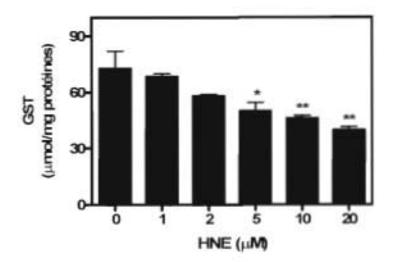
Les chondrocytes OA ont d'abord été traités avec le HNE à diverses concentrations (0-20 μ M), pendant 24 h, afin d'étudier l'effet de ce dernier sur l'activité et l'expression de la GST.

Lorsque les cellules sont incubées en absence de HNE, l'activité de la GST dans les chondrocytes OA était d'environ 72,8 \pm 9,4 μ mol/mg de protéines totales (moyenne \pm SEM) (figure 3-9A). Aucune différence significative n'est notée aux concentrations inférieures à 5 μ M de HNE pour une période d'incubation de 24 h. Toutefois, en présence de 5, 10 et 20 μ M de HNE l'activité de cette enzyme diminue significativement à environ 77% (p \leq 0,05), 63% (p \leq 0,01) et 55% (p \leq 0,01) de l'activité initiale, respectivement, soit 49.9 \pm 4.6, 46,0 \pm 1,5 et 39,7 \pm 1,8 μ mol/mg de protéines totales (figure 3-9A).

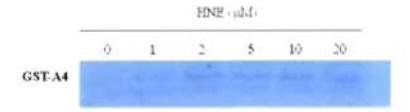
Pour ce qui est de l'expression de la GST-A4, elle tend légèrement à augmenter entre 2 et 10 µM de HNE à 24 h comme il est possible de le constater à la figure 3-9B.

Toutefois, l'expression de l'ARNm de la GST-A4 ne varie pas de façon significative (figure 3-9C).

A



В



C

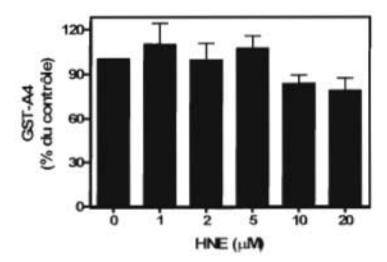


Figure 3-9: Effet du HNE à différentes concentrations sur l'activité et l'expression de la GST dans les chondrocytes OA. Les cellules ont été incubées avec le HNE à différentes concentrations (0-20 μM), durant 24 h. Par la suite, l'activité enzymatique (A), l'expression protéique (B) et ARNm (C) de la GST ont respectivement été mesurées à l'aide de la spectrophotométrie, de l'immunobuvardage et de la RT-PCR en temps réel. Les résultats sont exprimés en moyenne ± S.E.M, n=3. *P≤0,05 **P≤0,01.

3.10 Effet de 10 μM de HNE en fonction du temps d'incubation sur l'activité et l'expression de la GST dans les chondrocytes OA

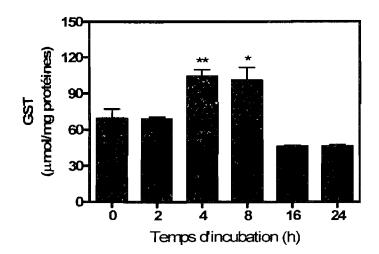
Afin de mieux comprendre l'effet du HNE en fonction du temps sur la GST, les chondrocytes OA ont été traités en présence de 10 µM de HNE durant différents temps d'incubation (0-24 h).

Les résultats présentés à la figure 3-10A démontent que l'activité basale de la GST dans les chondrocytes OA était d'environ $69,1\pm7,9$ µmol/mg de protéines totales (moyenne \pm SEM). En présence de 10 µM de HNE, le niveau d'activité augmente de manière significative de 150% (p $\leq 0,01$) et 146% (p $\leq 0,05$) après, respectivement, 4 et 8 h d'incubation. Toutefois, après 16 et 24 h d'incubation, l'activité diminue de manière non significative pour atteindre environ 67% de l'activité initiale, (figure 3-10A).

L'expression protéique de la GST-A4 semble être augmentée entre 2 et 8 h d'incubation en présence de $10~\mu M$ de HNE comme il est possible de le constater à la figure 3-10B.

L'expression de l'ARNm de la GST-A4 tend à augmenter en fonction du temps d'incubation jusqu'à la seizième heure sans pour autant que les différences ne soient significatives. Par contre, après 24 h d'incubation, l'expression diminue de manière non significative à environ 84% de l'expression initiale (figure 3-10C).

 \mathbf{A}



В

		Temps d'incubation (h)					
	0	1	2	4	8	16	
GST-A4							

 \mathbf{C}

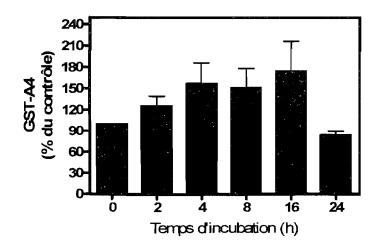


Figure 3-10: Effet du HNE en fonction du temps sur l'activité et l'expression de la GST dans les chondrocytes OA. Les cellules ont été traitées avec $10~\mu M$ de HNE durant différents temps d'incubation (0-24 heures). Par la suite, l'activité enzymatique (A), le niveau protéique (B) et ARNm (C) de la GST ont respectivement été mesurées à l'aide de la spectrophotométrie, de l'immunobuvardage et de la RT-PCR en temps réel. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm S.E.M, n=3. *P \leq 0,05 **P \leq 0,01.

3.11 Régulation du transport du glucose par 10 μM de HNE en fonction du temps dans des chondrocytes OA

Étant donné que le glucose représente la source énergétique principale des chondrocytes, nous avons voulu investiguer l'implication du HNE dans l'altération du transport du glucose observée lors du développement de l'OA. Dans cet objectif, les chondrocytes OA ont été incubés en présence de 10 µM de HNE durant différents temps d'incubation (0-16 h) en présence de [³H]2-déoxyglucose.

À l'état basal, le taux du glucose transporté dans les chondrocytes OA était d'environ 20030 ± 1697 CPM/mg de protéines totales (moyenne \pm SEM) (figure 3-11A). En présence de $10 \mu M$ de HNE, il est possible de constater une diminution considérable du flux de glucose après 4, 8 et 16 h d'incubation. Après 16 h, le taux de glucose transporté n'est plus que de 6%, comparativement au témoin ($p \le 0.01$).

Pour ce qui est de l'ARNm, nous avons obtenu des résultats préliminaires de l'expression de quelques transporteurs de glucose démontrant que le niveau d'expression de la GLUT-1 diminue de manière non significative à 48 et 24% comparativement au témoin, après, respectivement, 2 et 4 h d'incubation. Par la suite, il tend à remonter sans atteindre la valeur du témoin (figure 3-11B). D'autre part, l'expression de la GLUT-9 tend à augmenter en fonction du temps sans pour autant que cette variation ne soit significative (figure 3-11C).

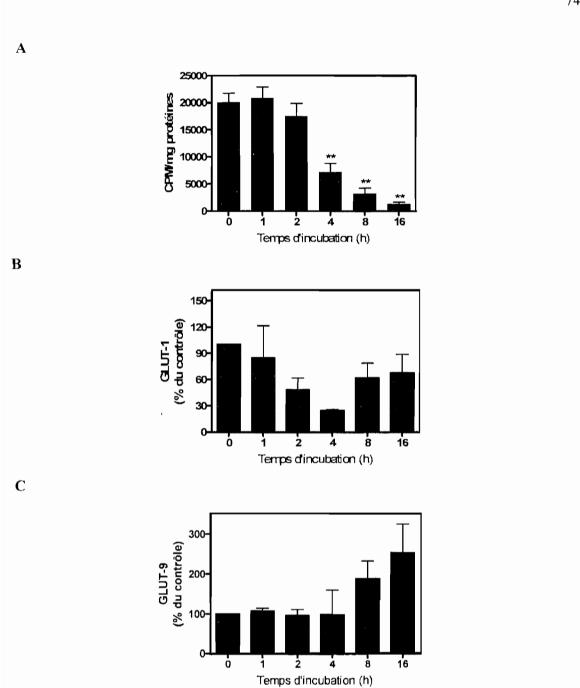


Figure 3-11: Effet du HNE en fonction du temps sur le transport du glucose dans les chondrocytes OA. Le transport du glucose (A) a été mesuré dans l'extrait total des chondrocytes traitées avec 10 μ M de HNE et 10 μ Ci/ml de [³H]2-déoxyglucose pendant différents temps d'incubation (0-16 h). L'expression des ARNm de la GLUT1 (B) et de la GLUT9 (C) a été déterminée dans les conditions décrites précédemment à l'aide de la RT-PCR en temps réel. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm S.E.M, n=3. **P \leq 0.01.

DISCUSSION

L'OA est une maladie répandue. Pourtant, les causes de cette pathologie demeurent peu connues. D'autre part, le stress oxydatif est un processus normal du métabolisme qui peut être augmenté lors de différentes pathologies. Initialement considéré uniquement comme un marqueur du stress oxydatif, le HNE est probablement l'un des aldéhydes de la peroxydation lipidique les plus toxiques et les plus réactifs (Esterbauer, Schaur et Zollner, 1991). Grigolo et al. ont démontré que sa présence était augmentée dans les synoviocytes des patients atteints d'OA (Grigolo et al., 2003). Pour ces raisons, notre équipe s'intéresse aux rôles de cet aldéhyde dans la pathophysiologie de l'OA. Nous avons déjà démontré son implication dans la dégradation du cartilage ainsi que dans le processus de mort cellulaire des chondrocytes. Dans ce travail, nous avons tenté d'étudier son effet sur des enzymes mitochondriales et cytosoliques impliquées dans les systèmes énergétiques et antioxydants. Ces systèmes sont étroitement liés au bon fonctionnement cellulaire. En effet, un déséquilibre dans l'un ou l'autre de ces systèmes est susceptible d'entraîner l'altération des mécanismes responsables de la production et de la réparation du cartilage ainsi que la mort cellulaire.

4.1 Cytochrome c oxydase

Comme il a été vu dans l'introduction, dans le cadre de différentes maladies associées au stress oxydatif, l'altération de la fonction mitochondriale pourrait être l'un des

acteurs de la perte de fonction cellulaire (Ambrosio et al., 1993 Bindoli, 1988 Das et al., 1989 Salganik et al., 1994 Sciamanna et Lee, 1993 Sun et Gilboe, 1994 van Jaarsveld et al., 1994 Veitch et al., 1992). La mitochondrie est reconnue pour être une source ainsi qu'une cible importante du HNE. Bien que le rôle des mitochondries dans la production d'énergie soit fréquemment étudié séparément du rôle qu'elles jouent dans la production du stress oxydatif, une accumulation d'évidences démontre que ces deux phénomènes sont liés. Par exemple, plusieurs enzymes du métabolisme sont inactivées par des mécanismes tels que des modifications post-traductionnelles induites par des composantes moléculaires associées au stress oxydatif (Chen, Henderson et Freeman, 2001 Cheung et al., 1998 Humphries et Szweda, 1998 Ide et al., 1999 Lucas et Szweda, 1998, 1999 Nulton-Persson et Szweda, 2001 Sadek et al., 2002). Ces molécules incluent les ROS, les espèces réactives de l'azote et les aldéhydes produits lors de la peroxydation lipidique.

Les informations détaillées à propos des changements fonctionnels des mitochondries dans le cartilage humain OA sont peu nombreuses. Bien qu'il ait été démontré que le HNE forme des complexes avec différentes protéines dans le cartilage et le liquide synovial des patients atteints d'OA, aucune étude n'a fourni d'explications sur l'impact de ces complexes dans le métabolisme des chondrocytes. La première enzyme liée au système énergétique que nous avons étudiée est la COX. Puisqu'elle est la dernière enzyme de la chaîne de transport d'électrons, son altération est susceptible de nuire à la production de l'ATP par l'ATP synthase. Les résultats obtenus en ce qui concerne l'activité de cette enzyme démontrent clairement une altération de son activité en présence de HNE. Cette altération est dépendante de la concentration ainsi que du temps d'incubation des cellules en présence de cet aldéhyde. Maneiro et son groupe ont observé que l'activité des

complexes II et III est réduite dans les chondrocytes OA lorsqu'elle est comparée à celles des chondrocytes normaux (Maneiro *et al.*, 2003). Cependant, aucune différence significative au niveau de l'activité de la COX n'est observée entre ces deux groupes de cellules (Maneiro *et al.*, 2003). *In vivo*, ceci pourrait être expliqué par une concentration de HNE insuffisante pour affecter l'activité de la COX. De plus, les chondrocytes utilisés dans l'étude de Maneiro proviennent du cartilage de la tête fémorale des patients atteints d'OA (Maneiro *et al.*, 2003). Il est connu que le cartilage du genou subit un stress de surcharge plus important que celui de la tête fémorale, ce qui peut expliquer l'existence des changements plus importants dans les chondrocytes provenant du cartilage de genou.

Les trois plus grandes sous-unités de la COX sont les sous-unités I à III. Elles sont encodées par le génome mitochondrial et constituent le noyau fonctionnel de l'enzyme (Musatov *et al.*, 2002). La COX (principalement les complexes I à III) est totalement intégrée à la double couche phospholipidique de la membrane interne mitochondriale (Musatov *et al.*, 2002). Cette enzyme est donc en contact intime avec la cardiolipine (Musatov *et al.*, 2002). La cardiolipine est principalement composée d'acide linoléique, un phospholipide hautement insaturé qui est très susceptible aux dommages oxydatifs (Sedlak et Robinson, 1999 Tsukihara *et al.*, 1996). Ce contact entre la cardiolipine et la COX fait de cette dernière une cible potentielle du HNE (Musatov, Carroll *et al.*, 2002). Chen et al. ont démontré le rôle du HNE, autant endogène qu'exogène, dans les dommages oxydatifs des mitochondries par l'inhibition de la COX (Chen *et al.*, 1998). Nos résultats corroborent ceux de cette étude puisque dès l'incubation des chondrocytes avec 2 µM pour 24 h ou encore avec 10 µM pendant 4 h, l'activité de la COX est réduite dans les cellules.

L'ampleur de ces altérations est probablement liée à la quantité d'antioxydants présente dans les mitochondries de ce type cellulaire.

En ce qui concerne sa structure, la sous-unité I (COX-I), contenant de six à huit résidus histidines, supporte le noyau fonctionnel de l'enzyme avec trois centres métalliques, tous liés à ce polypeptide (Anderson et al., 1981 Babcock et Wikstrom, 1992 Bibb et al., 1981 Brunori et Wilson, 1995 Hosler et al., 1993 Wikstrom, Krab et Saraste, 1981). Étant donné que la double liaison α et/ou β du HNE réagit facilement avec des acides aminés cystéines, histidines et lysines, la formation de complexes entre le HNE et les résidus histidines de la COX-I pourrait mener à une perte de son activité enzymatique. Par conséquent, il semblerait que la modification de cette sous-unité de la COX par le HNE pourrait éventuellement altérer le transport d'électrons et/ou la pompe à protons, deux aspects fonctionnels majeurs de la COX (Capitanio et al., 1994 Chen, Henderson et Freeman, 2001 Chen et al., 1999). Au contraire, Musatov précise que l'inhibition de la COX par le HNE ne serait pas due à une altération dans l'environnement de l'hème, mais serait plutôt due à une interaction avec les petites sous-unités (Musatov et al., 2002). Plus précisément, cet auteur propose que l'inhibition de la COX par le HNE soit principalement causée indirectement par la modification de l'histidine 36 de la sous-unité VIII par un mécanisme lié à sa conformation. Par contre, les résultats de Chen n'appuient pas ce point de vue. En effet, à faible dose de HNE (20 µM), ils démontrent la formation de complexes, au niveau d'acides aminés histidines, entre le HNE et les sous-unités I (57 kDa) et IV (17 kDa) (Capitanio et al., 1994 Chen, Henderson et Freeman, 2001 Chen et al., 1999 Chen et al., 1998).

De plus, dans notre étude, il ne semble pas que l'expression de nos deux sous-unités de la COX, encodées par le génome mitochondriale, soit altérée. Ceci éclipse par le fait même, aux concentrations utilisées, la théorie proposant que le HNE cause d'importantes inhibitions de la transcription mitochondriale (Benderdour *et al.*, 2003 Chen, Bertrand et Yu, 1995 Chen et Yu, 1994 Kristal, Chen et Yu, 1994 Siems, Hapner et van Kuijk, 1996). Il ne faut pas oublier que cette différence pourrait être liée l'utilisation exogène du HNE. En effet, un traitement exogène, par rapport à un traitement endogène par le HNE, peut réduire l'efficacité de ce dernier à agir sur la mitochondrie. Les résultats des deux premières figures démontrent clairement que l'effet du HNE sur l'activité n'est pas associé à l'altération de l'expression des sous-unités I et III. Son inactivation est donc probablement due à la formation de complexes HNE/COX.

4.2 Isocitrate déshydrogénase dépendante du NADP⁺

Les m/c NADP⁺-ICDH sont deux isoformes provenant du génome nucléaire et sont encodées par deux gènes distincts (Huh *et al.*, 1993 Loftus *et al.*, 1994 Yang *et al.*, 2002). En raison de leur capacité à produire le NADPH, il a déjà été démontré que les cellules contenant moins de NADP⁺-ICDH voyaient leur ratio GSSG/ [GSH + GSSG] augmenter et que ces cellules étaient plus sensibles au stress oxydatif (Lee *et al.*, 2002 Rall et Lehninger, 1952 Vogel *et al.*, 1999).

Bien que le niveau d'activité des NADP⁺-ICDH peut varier d'un tissu à l'autre, nous n'avons pas observé de différences entre ceux des chondrocytes et des synoviocytes OA humains (résultats non montrés). Tout comme dans le foie, nous avons démontré que la cNADP⁺-ICDH était majoritaire dans les chondrocytes OA humains (Haraguchi, Mabuchi

et Yokota, 2003 Henderson, 1968 Macfarlane, Mathews et Dalziel, 1977 Minich, Yokota et Dringen, 2003 Plaut, Cook et Aogaichi, 1983 Yoshihara *et al.*, 2001). L'activité dans le cytosol est environ cinq fois plus grande que dans la mitochondrie pour ce type cellulaire. À notre connaissance, nous sommes les premiers à en faire la démonstration.

Il a déjà été démontré que le NO et certains produits de la peroxydation lipidique tels le MDA et le HNE pouvaient entraîner des dommages oxydatifs chez la NADP⁺-ICDH (Benderdour *et al.*, 2003 Yang *et al.*, 2002 Yang, Yang et Park, 2004). Nous avons tenté de vérifier si le HNE affectait ces enzymes dans les chondrocytes OA humains en culture. D'une part, il s'est avéré que l'activité de la mNADP⁺-ICDH diminuait en fonction du temps d'incubation et de la concentration de HNE utilisée, sans pour autant que le niveau protéique n'en soit affecté. Toutefois, au niveau messager, la mNADP⁺-ICDH diminue faiblement en présence de 20 μM de HNE après 24 h de traitement. D'autre part, en fonction du temps, dans les chondrocytes OA humains, aucune différence significative n'apparaît en présence de 10 μM de HNE.

En effet, la mNADP⁺-ICDH contient six cystéines et est enrichie de résidus lysines et histidines comme le démontre son pl de 9,0 (Benderdour *et al.*, 2003 Smyth et Colman, 1991 Yang *et al.*, 2002). Ceci explique bien sa susceptibilité à être affectée par le HNE comme il a été démontré par Benderdour et ses collaborateurs dans les cœurs de rats SHR (Benderdour *et al.*, 2003). En effet, le HNE pourrait modifier l'activité de la mNADP⁺-ICDH par sa capacité d'addition aux résidus nucléophiles tels que la lysine 212, l'histidine 315 et la cystéine 387 qui sont, entre autres, situés aux sites actifs ou aux sites de liaisons des cofacteurs (Ceccarelli *et al.*, 2002 Smyth et Colman, 1991). En plus de ces sites

spécifiques, des dommages aux autres acides aminés suivis de subtils changements de conformation pourraient aussi mener à l'inhibition de l'enzyme (Yang, Yang et Park, 2004). Par ailleurs, il a été démontré que le NO pouvait moduler l'activité de la NADP⁺-ICDH. Il est capable de former des complexes S-nitrosothiol, entre autres, sur la cystéine 387 et de réduire la capacité de la NADP⁺-ICDH à être dégradée par la pronase (Ceccarelli et al., 2002 Smyth et Colman, 1991 Yang et al., 2002). Comme il est probable que le HNE se complexe à cette même cystéine, ceci pourrait expliquer, du moins en partie, le niveau protéique constant de la NADP⁺-ICDH malgré la légère baisse de son expression au niveau ARNm. Évidemment d'autres tests devront être effectués pour confirmer cette hypothèse.

En ce qui concerne la transcription, Benderdour et al. ont suggéré que l'expression de ce gène pourrait être régulée par le facteur nucléaire κ-B (NF-κB) et le facteur SP-1. Toutefois, ces hypothèses restent à confirmer (Benderdour *et al.*, 2004). Puisque le HNE a la capacité d'inhiber l'activation de NF-κB, la baisse de l'expression des ARNm de la mNADP⁺-ICDH par le HNE pourrait être due en partie à l'inactivation de ce facteur de transcription par cet aldéhyde ou tout simplement à l'instabilité des ARNm transcrits (Vaillancourt *et al.*, 2006).

Tout comme l'isoforme mitochondriale, la cNADP⁺-ICDH subit une diminution de son activité en fonction de la concentration de HNE utilisée suite à un traitement de 24 h, sans modification de son expression protéique et ARNm.

De manière intéressante, l'activité de la cNADP⁺-ICDH augmente en fonction du temps, jusqu'à 16 h, puis redescend à 24 h, lorsque les cellules sont traitées avec 10 μM de HNE. De plus, l'expression de l'ARNm de la cNADP⁺-ICDH augmente avec la même

tendance que celle de l'activité. Toutefois, cette variation n'est significative qu'à 16 h, tout comme c'est le cas pour l'expression protéique. L'augmentation de l'expression et de l'activité de la cNADP⁺-ICDH reflète probablement un mécanisme d'adaptation au stress induit par le HNE. Plusieurs études ont rapporté le rôle antioxydant joué par cette enzyme en produisant le cofacteur NADPH nécessaire à la régénération du GSH suite à l'augmentation du stress oxydatif (Rall et Lehninger, 1952 Vogel et al., 1999). Sur le plan métabolique, Koh et ses collaborateurs ont rapporté que l'augmentation de l'expression de la cNADP⁺-ICDH stimule l'adipogénèse en stimulant la synthèse du cholesterol et des acides gras (Koh et al., 2004). Ces résultats suggèrent le possible rôle du HNE dans l'altération du phénotype cellulaire des chondrocytes, lors du développement de l'OA, par la stimulation du processus adipogénique. Finalement, il est possible de constater, dans cette étude, que la régulation de la mNADP⁺-ICDH et de la cNADP⁺-ICDH est différente, ce qui soutient l'hypothèse que ce sont deux gènes distincts ayant leurs propres facteurs de régulation (Loftus et al., 1994).

4.3 Glucose-6-phosphate déshydrogénase

L'activité de la G6PDH, connue pour être inhibée par le NADPH, constitue l'étape limitante de la voie des pentoses phosphates (Eggleston et Krebs, 1974 Loreck *et al.*, 1987). La G6PDH est nécessaire à la biosynthèse des nucléotides et joue un rôle dans la réponse au stress oxydatif ainsi que dans la qualité du cartilage, entre autres, par la glycosylation des glycosaminoglycanes (Matsubara *et al.*, 2001 Pandolfi *et al.*, 1995 Salvemini *et al.*, 1999 Scott *et al.*, 1991).

Il semblerait que l'activité de la G6PDH soit un marqueur du développement précoce de l'OA ainsi que du potentiel thérapeutique de certains agents (Dunham et al., 1988, 1989). Dans le but de comparer le niveau d'activité de la G6PDH dans le cartilage OA et sain, un groupe de chercheurs a démontré que l'activité de cette enzyme était plus élevée dans le cartilage de têtes fémorales provenant de patients ayant subi une fracture suite à une ostéoporose primaire que dans le cartilage provenant de patients OA (Nahir, Vitis et Silbermann, 1990). Au contraire, l'activité d'autres enzymes oxydatives, telle la succinate déshydrogénase, ne diffère pas entre ces deux conditions (Nahir, Vitis et Silbermann, 1990). À la lumière de ces informations, il est possible de croire que l'activité de la G6PDH dans le cartilage provenant de genoux de patients OA soit diminuée comparativement à un cartilage normal. Dans une autre étude, il a été rapporté que les patients atteints d'OA ont une déficience du gène de la G6PDH (Pandolfi et al., 1995).

Un autre fait intéressant que nous avons pu observer est que l'activité de la G6PDH et celle de la cNADP⁺-ICDH sont altérées de la même manière après 24 h d'incubation en présence de 10 et 20 μM de HNE, sans que l'expression protéique et celle de l'ARNm ne soit modifiée. Par contre, l'étude de l'effet du temps sur la G6PDH a révélé que l'activité et l'expression de la G6PDH augmentent à 8 et 16 h en présence de 10 μM de HNE, puis redescendent à 24 h. Larini et al. ont aussi observé une augmentation transitoire de l'activité de la G6PDH en fonction de la concentration de HNE et du temps d'incubation dans les cellules Jurkat T (Larini, Bianchi et Bocci, 2004). Toutefois, l'inhibition de l'activité, dans les cellules Jurkat T, survient uniquement à partir de 50 μM après 24 h d'incubation (Larini, Bianchi et Bocci, 2004). Dans notre cas, une inhibition significative est déjà observable à partir de 10 μM de HNE après 24 h. Ce phénomène pourrait

s'expliquer par le fait que la principale variation entre les tissus en ce qui concerne la cytotoxicité au HNE réside dans la vitesse du métabolisme du HNE et celle du renouvellement des enzymes modifiées par le HNE (Laurent *et al.*, 1999 Ninfali *et al.*, 2001).

La perte d'activité de la G6PDH, tout comme c'était le cas pour les deux isoformes de la NADP⁺-ICDH, ne semble pas être liée à une diminution de l'expression protéique tel que démontré à l'aide de l'immunobuvadage de type Western des échantillons traités avec différentes concentrations de HNE pendant 24 h. L'effet du HNE serait donc probablement associé à une modification post-traductionnelle de l'enzyme. En effet, Szweda et son équipe ont démontré en 1993 que le HNE avait la capacité d'inactiver de manière sélective la G6PDH, isolée de Leuconostoc mesenteroide, en formant des complexes équimolaires, c'est-à-dire, une mole de HNE par mole de sous-unité de G6PDH. Ils ont d'ailleurs proposé que le HNE se lie sur un acide aminé lysine situé près du site actif puisque le glucose-6phosphate avait la capacité d'empêcher l'inactivation de l'enzyme par le HNE (Szweda et al., 1993). Plus tard, Grace et son équipe ont démontré que le HNE se complexait, entre autres, à la lysine 182 située près du site actif de la même enzyme (Grace et al., 1996). Cette inactivation était irréversible (Szweda et al., 1993). Pour le moment, nous ignorons si la G6PDH humaine, qui ne possède pas de lysine au site 182, se comporte exactement de la même manière que celle étudiée chez Leuconostoc mesenteroide (Grace et al., 1996 Szweda et al., 1993).

Il est connu que la G6PDH modifiée par différents radicaux hydroxyles est rapidement dégradée par la protéase multicatalytique (Friguet, Szweda et Stadtman, 1994). Par contre, les enzymes oxydées et complexées au HNE ne sont pas dégradées (Friguet,

Stadtman et Szweda, 1994). Puisque la G6PDH oxydée modifiée par le HNE est un inhibiteur non compétitif du MCP, il est possible qu'il soit responsable de l'augmentation des protéines endommagées par le stress oxydatif *in vivo* (Friguet, Stadtman et Szweda, 1994).

La G6PDH, une des principales sources de NADPH, est faiblement augmentée en présence de faibles concentrations de HNE, mais rapidement diminuée à fortes concentrations, entre autres, dans les cellules Jurkat T (Larini, Bianchi et Bocci, 2004). Plusieurs études ont montré que sous le stress oxydatif, le niveau de G6PDH augmentait et que cela jouait un rôle critique dans la mort cellulaire en affectant le potentiel d'oxydoréduction (Slekar, Kosman et Culotta, 1996 Tian et al., 1999 Ursini et al., 1997). Nous pouvons seulement spéculer que cette augmentation ou cette diminution de l'enzyme dépend de différents paramètres tels que le niveau intracellulaire d'antioxydants (Larini, Bianchi et Bocci, 2004). Toutefois, nous avons franchi un pas de plus par rapport à l'étude de Larini en démontrant que l'augmentation de l'activité se produisait au même moment que l'augmentation de l'expression protéique. L'augmentation de l'activité de la G6PDH pourrait permettre de réduire les effets cytotoxiques du HNE par la régénération de la réserve intracellulaire du GSH. À hautes concentrations, le HNE induit un processus apoptotique en activant la caspase-3 et en diminuant le niveau du GSH dans les chondrocytes OA humains (résultats non montrés) tout comme dans les cellules Jurkat T, ce qui suggère que l'inhibition de la G6PDH à hautes concentrations de HNE contribue au processus apoptotique par la baisse du GSH (Larini, Bianchi et Bocci, 2004).

4.4 Glutathion S-Transférase

Un élément important de la défense cellulaire contre les effets toxiques des réactions électrophiles est la GST (Alin, Danielson et Mannervik, 1985). Cette enzyme est cytosolique et mitochondriale et est classée en sous-familles (Board *et al.*, 1997 Hayes et Pulford, 1995 Ketterer, Meyer et Clark, 1988 Mannervik *et al.*, 1985 Pemble, Wardle et Taylor, 1996). L'ensemble de ces familles utilise le CDNB comme substrat. Toutefois, l'enzyme qui nous intéresse, la GST-A4, conjugue de manière préférentielle le HNE avec le GSH (Chen, Henderson et Freeman, 2001 Cheng *et al.*, 2001 Hiratsuka *et al.*, 1999 Hubatsch, Ridderstrom et Mannervik, 1998 Medh *et al.*, 1991 Zimniak *et al.*, 1992 Zimniak *et al.*, 1994). Bien que la GST-A4 se retrouve en faible quantité dans les cellules humaines, sa capacité à métaboliser le HNE est extrêmement élevée par rapport aux autres isoformes (Alin *et al.*, 1989 Hayes, 1986 Hayes et Pulford, 1995 Medh *et al.*, 1991 Singhal *et al.*, 1994).

Nos résultats démontrent, qu'après 24 h d'incubation, l'activité des GST, mesurée par la conjugaison du GSH avec le CDNB, diminue dans les chondrocytes OA en présence de concentrations croissantes de HNE. Toutefois, les diminutions sont significatives seulement aux concentrations supérieures à 5 μΜ. Il est important de noter que la méthode utilisée ne permet pas de distinguer les différentes isoformes de la GST. Puisque la GST-A4 est une isoforme mineure, il est probable que son activité spécifique diffère quelque peu. En effet, pour ce qui est des protéines, l'expression de cette isoforme semble augmenter jusqu'à 10 μΜ de HNE après 24 h d'incubation, puis diminue légèrement à 20 μΜ. En ce qui concerne l'ARNm, l'expression de la GST-A4 ne diminue pas

significativement en présence de HNE. Contrairement à nous, différents groupes dont ceux de Musatov et Raza ont observé une augmentation mitochondriale et cytosolique de l'expression et de l'activité de la GST-A4 suite à un traitement en présence de HNE (Musatov et al., 2002 Raza et al., 2004). Ces groupes ont toutefois utilisé des concentrations plus élevées ainsi que des périodes d'incubation beaucoup plus courtes.

Puisque nous ne voulions pas utiliser de concentrations reconnues pour induire la mort cellulaire, nous avons étudié l'effet de 10 μM de HNE en fonction du temps. Dans les chondrocytes, la GST atteint son niveau maximal d'activité et d'expression protéique à quatre heures. Ceci correspond, entre autres, à l'étude de Dwivedi qui suggère que l'augmentation de la GST-A4 joue un rôle important seulement lors de l'étape précoce de la protection contre le stress oxydatif (1 à 6 h) en éliminant des oxydants et des aldéhydes de la peroxydation lipidique (Dwivedi *et al.*, 2006 Musatov *et al.*, 2002 Raza *et al.*, 2004).

Pour ce qui est de l'expression de l'ARNm de la GST-A4, nous avons observé une augmentation entre 2 et 16 h d'incubation qui n'était pas significative chez les chondrocytes incubés avec 10 µM de HNE. Il est probable qu'en présence d'une concentration de HNE supérieure, cette augmentation deviendrait significative.

Comme le mentionnait Ahmed et al., nos résultats démontrent que l'activité des GST est souvent augmentée en présence de molécules qui en sont les substrats, ce qui représente une forme d'adaptation face au stress chimique (Ahmed *et al.*, 2002). Toutefois, nos résultats montrent qu'après 24 h, l'activité ainsi que l'expression de l'ARNm de la GST retrouvent leur niveau initial. Deux possibilités pourraient expliquer ce phénomène. La première pourrait être attribuée à un épuisement de la cellule face à l'exacerbation du stress

oxydatif. La deuxième pourrait être liée à l'inactivation de l'enzyme par la formation des complexes HNE/GST-A4 ou par la baisse de l'expression génique suite au changement de l'état rédox.

De plus, l'augmentation de l'expression de la GST-A4 observée dans notre étude confirme les résultats de l'étude rapportée par Ahmed et al. réalisée chez les astrocytes traités avec du HNE pendant 3 h (Ahmed *et al.*, 2002). Comme l'avait déjà proposé Raza, il semblerait que l'induction dans l'expression de la GST-A4-4 suggère un mécanisme compensatoire pour la détoxification du HNE (Ahmed *et al.*, 2002 Musatov *et al.*, 2002 Raza *et al.*, 2002).

Il est connu que la phase de transcription d'enzymes de la phase II comme la GST est contrôlée par un site de liaison nommé élément de réponse antioxydant (ARE) (Puiggros *et al.*, 2005 Tjalkens *et al.*, 1998). En outre, un groupe du Centre Universitaire de Luxembourg a démontré que l'expression génique de la GST peut être induite par différents agents chimiques tels que l'ester de phorbol lors de l'activation de la voie de P38 MAPK, MEK/ERK et du facteur AP-1 (Jun/Fos) (Borde-Chiche *et al.*, 2001 Duvoix *et al.*, 2003). Il est connu que le HNE active les voies de MAPK et le facteur nucléaire AP-1, ce qui peut expliquer, en partie, l'augmentation de l'expression des GST en fonction du temps en présence de HNE. Finalement, certains sites de liaisons impliqués dans la région de la régulation de la hGST-A4 (STAT, GATA1, et NF-κB) pourraient être étudiés afin de mieux comprendre les phénomènes altérant l'expression de cette enzyme en présence de HNE (Desmots *et al.*, 1998).

4.5 Transport du glucose

La dégradation du cartilage articulaire est un phénomène inhérent à l'OA qui est associé à l'altération du métabolisme du glucose (Dunham *et al.*, 1989 Dunham, Hoedt-Schmidt et Kalbhen, 1992 Nahir, Vitis et Silbermann, 1990 Sandell et Aigner, 2001). L'étape limitant le métabolisme du glucose est régulée par le transport transmembranaire de celui-ci. Les mécanismes moléculaires régulant l'apport et le métabolisme du glucose sont donc importants dans la physiologie du cartilage et la pathogénèse de l'OA (Shikhman, Brinson et Lotz, 2004).

Nous avons observé une altération du transport du glucose en fonction du temps lorsque les chondrocytes ont été mis en culture en présence de 10 µM de HNE. En général, la régulation du transport du glucose peut être effectuée selon deux mécanismes principaux : 1) la modulation de la synthèse et de l'incorporation à la membrane des GLUT et 2) la modification des GLUT quant à leur affinité pour le glucose.

En 2002, Mobasheri et al. ont identifié au moins trois isoformes de GLUT dans les chondrocytes humains normaux, soit la GLUT-1, -3, -6 (aussi appelé GLUT-9) (Mobasheri et al., 2002).

Lorsque nous avons étudié l'expression des ARNm de la GLUT-1 et de la GLUT-9, les résultats ne concordaient pas avec ceux du transport du glucose. En effet, l'ARNm de la GLUT-1 diminue de manière non significative entre 2 et 4 h d'incubation en présence de 10 µM de HNE, puis retrouve son niveau basal jusqu'à 16 h. Malgré le fait que ces variations ne sont pas significatives, il est probable que la diminution rapide de l'expression de

l'ARNm de la GLUT-1, dès les deux premières heures d'incubation, suggère une légère instabilité des ARNm suite à l'ajout de cet aldéhyde. Après 4 h d'incubation, le niveau des ARNm de la GLUT-1 remonte probablement en raison de la diminution du niveau du HNE libre dans la cellule suite à son métabolisme. La GLUT-9, quant à elle, ne varie pas significativement, mais à tendance à augmenter. En somme, aucune de ces deux enzymes ne semble expliquer la diminution du flux du glucose en présence du HNE. Il est possible que cette diminution soit liée à l'inactivation des GLUT au niveau membranaire lors de la formation de complexes HNE/GLUT. Ces transporteurs de glucose sont riches en résidus cystéines près de leurs sites actifs, ce qui en fait des cibles potentielles pour le HNE (Birnbaum, Haspel et Rosen, 1986 Nagamatsu et al., 1992).

Toutefois, une autre sous-unité devrait être étudiée : la GLUT-3. Cette sous-unité est le transporteur rapide du glucose. Ce transporteur possède une haute affinité pour le glucose et est spécialisé dans sa capture lorsque la concentration de glucose est basse. Il est donc susceptible d'être plus influent que les autres GLUT. De plus, Mark et al. ont démontré en 1997 que le HNE avait la capacité de former des complexes avec cette isoforme et d'altérer le transport du glucose dans les neurones de rats (Mark *et al.*, 1997). Ce phénomène pourrait expliquer, au moins en partie, l'altération marquée au niveau du transport du glucose dans les chondrocytes OA humains lors du traitement avec le HNE.

4.6 Conclusion

L'ensemble des résultats présentés, dans cette étude, démontrent que le HNE possède la capacité d'altérer différemment l'activité et l'expression de différentes enzymes importantes dans les systèmes énergétiques et antioxydants (COX, NADP⁺-ICDH, G6PDH,

GST-A4, GLUT). Plus précisément, il est possible de voir que le HNE altère, à long terme (24 h), d'abord l'activité de certaines enzymes, et ce, même aux faibles concentrations de HNE (2-5 μΜ). En général, des concentrations plus importantes de HNE (10-20 μΜ) sont nécessaires afin d'altérer l'expression de ces enzymes. Par contre, l'activité des enzymes antioxydantes cytosoliques telles la cNADP⁺-ICDH, la G6PDH et la GST-A4 est augmentée de façon transitoire en fonction du temps lorsque les chondrocytes ont été traités avec 10 μΜ de HNE. De plus, deux enzymes impliquées dans le système énergétique sont affectées par le HNE. Premièrement, la COX qui est le dernier accepteur d'électrons impliqué dans la chaîne de transport d'électrons, un élément essentiel à la production d'ATP. Deuxièmement, les GLUT, qui sont probablement eux aussi ciblés par des modifications post-transcriptionnelles, pourraient réduire l'entrée de glucose dans la cellule, un phénomène essentiel au maintien d'un cartilage sain.

La confirmation de la formation de complexes entre les enzymes étudiées et le HNE ainsi que des recherches plus approfondies en ce qui concerne les GLUT sont prévues dans notre laboratoire. De plus, nous prévoyons effectuer des tests similaires sur des chondrocytes surexprimants la GST-A4 afin de vérifier si cette enzyme pourrait renverser les différents effets du HNE observés dans l'OA.

Bibliographie

- Abramson, S. B., M. Attur, A. R. Amin et R. Clancy. 2001. «Nitric oxide and inflammatory mediators in the perpetuation of osteoarthritis». *Curr Rheumatol Rep.* vol. 3, no 6, p. 535-541. En ligne.
 - http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11709117.
- Ahmed, I., A. John, C. Vijayasarathy, M. A. Robin et H. Raza. 2002. «Differential modulation of growth and glutathione metabolism in cultured rat astrocytes by 4-hydroxynonenal and green tea polyphenol, epigallocatechin-3-gallate».

 Neurotoxicology. vol. 23, no 3, p. 289-300. En ligne.

 **Shipping Company of the properties of the
- Akizuki, S., V. C. Mow, F. Muller, J. C. Pita, D. S. Howell et D. H. Manicourt. 1986.
 «Tensile properties of human knee joint cartilage: I. Influence of ionic conditions, weight bearing, and fibrillation on the tensile modulus». *J Orthop Res.* vol. 4, no 4, p. 379-392. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=3783297.
- Alin, P., U. H. Danielson et B. Mannervik. 1985. «4-Hydroxyalk-2-enals are substrates for glutathione transferase». *FEBS Lett.* vol. 179, no 2, p. 267-270. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=3838159.
- Alin, P., H. Jensson, E. Cederlund, H. Jornvall et B. Mannervik. 1989. «Cytosolic glutathione transferases from rat liver. Primary structure of class alpha glutathione transferase 8-8 and characterization of low-abundance class Mu glutathione transferases». *Biochem J.* vol. 261, no 2, p. 531-539. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2775231.
- Almeida, A., J. Almeida, J. P. Bolanos et S. Moncada. 2001. «Different responses of astrocytes and neurons to nitric oxide: the role of glycolytically generated ATP in astrocyte protection». *Proc Natl Acad Sci US A*. vol. 98, no 26, p. 15294-15299. En ligne.
 - http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list*uids=11742096.

- Ambrosio, G., J. L. Zweier, C. Duilio, P. Kuppusamy, G. Santoro, P. P. Elia, I. Tritto, P. Cirillo, M. Condorelli, M. Chiariello et et al. 1993. «Evidence that mitochondrial respiration is a source of potentially toxic oxygen free radicals in intact rabbit hearts subjected to ischemia and reflow». *J Biol Chem.* vol. 268, no 25, p. 18532-18541. En ligne.
 - http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8395507.
- Ames, B. N., M. K. Shigenaga et T. M. Hagen. 1993. «Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging». *Proc Natl Acad Sci U S A*. vol. 90, no 17, p. 7915-7922. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list uids=8367443.
- Amin, A. R., et S. B. Abramson. 1998. «The role of nitric oxide in articular cartilage breakdown in osteoarthritis». *Curr Opin Rheumatol*. vol. 10, no 3, p. 263-268. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9608331.
- Amin, A. R., M. Dave, M. Attur et S. B. Abramson. 2000. «COX-2, NO, and cartilage damage and repair». *Curr Rheumatol Rep.* vol. 2, no 6, p. 447-453. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11123096>.
- Amin, A. R., P. E. Di Cesare, P. Vyas, M. Attur, E. Tzeng, T. R. Billiar, S. A. Stuchin et S. B. Abramson. 1995. «The expression and regulation of nitric oxide synthase in human osteoarthritis-affected chondrocytes: evidence for up-regulated neuronal nitric oxide synthase». *J Exp Med.* vol. 182, no 6, p. 2097-2102. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7500055>.
- Anderson, S., A. T. Bankier, B. G. Barrell, M. H. de Bruijn, A. R. Coulson, J. Drouin, I. C. Eperon, D. P. Nierlich, B. A. Roe, F. Sanger, P. H. Schreier, A. J. Smith, R. Staden et I. G. Young. 1981. «Sequence and organization of the human mitochondrial genome». *Nature*. vol. 290, no 5806, p. 457-465. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7219534>.
- Aoki, H., P. M. Kang, J. Hampe, K. Yoshimura, T. Noma, M. Matsuzaki et S. Izumo. 2002. «Direct activation of mitochondrial apoptosis machinery by c-Jun N-terminal kinase in adult cardiac myocytes». *J Biol Chem.* vol. 277, no 12, p. 10244-10250. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11786558>.

- Apel, K., et H. Hirt. 2004. «Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction». *Annu Rev Plant Biol.* vol. 55, p. 373-399. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15377225.
- Arden, N., et M. C. Nevitt. 2006. «Osteoarthritis: epidemiology». *Best Pract Res Clin Rheumatol*. vol. 20, no 1, p. 3-25. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16483904>.
- Awasthi, Y. C., G. A. Ansari et S. Awasthi. 2005. «Regulation of 4-hydroxynonenal mediated signaling by glutathione S-transferases». *Methods Enzymol*. vol. 401, p. 379-407. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16399399>.
- Babcock, G. T., et M. Wikstrom. 1992. «Oxygen activation and the conservation of energy in cell respiration». *Nature*. vol. 356, no 6367, p. 301-309. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1312679>.
- Benderdour, M., G. Charron, B. Comte, R. Ayoub, D. Beaudry, S. Foisy, D. Deblois et C. Des Rosiers. 2004. «Decreased cardiac mitochondrial NADP+-isocitrate dehydrogenase activity and expression: a marker of oxidative stress in hypertrophy development». *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. vol. 287, no 5, p. H2122-2131. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15271667>.
- Benderdour, M., G. Charron, D. DeBlois, B. Comte et C. Des Rosiers. 2003. «Cardiac mitochondrial NADP+-isocitrate dehydrogenase is inactivated through 4-hydroxynonenal adduct formation: an event that precedes hypertrophy development». *J Biol Chem.* vol. 278, no 46, p. 45154-45159. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12960146>.
- Benedetti, A., M. Comporti et H. Esterbauer. 1980. «Identification of 4-hydroxynonenal as a cytotoxic product originating from the peroxidation of liver microsomal lipids». *Biochim Biophys Acta*. vol. 620, no 2, p. 281-296. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=6254573.
- Bibb, M. J., R. A. Van Etten, C. T. Wright, M. W. Walberg et D. A. Clayton. 1981. «Sequence and gene organization of mouse mitochondrial DNA». *Cell.* vol. 26, no 2 Pt 2, p. 167-180. En ligne.

- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7332926>.
- Bindoli, A. 1988. «Lipid peroxidation in mitochondria». *Free Radic Biol Med.* vol. 5, no 4, p. 247-261. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=3075952.
- Birnbaum, M. J., H. C. Haspel et O. M. Rosen. 1986. «Cloning and characterization of a cDNA encoding the rat brain glucose-transporter protein». *Proc Natl Acad Sci U S A.* vol. 83, no 16, p. 5784-5788. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=3016720.
- Blanco, F. J., M. J. Lopez-Armada et E. Maneiro. 2004. «Mitochondrial dysfunction in osteoarthritis». *Mitochondrion*. vol. 4, no 5-6, p. 715-728. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16120427>.
- Blasig, I. E., T. Grune, K. Schonheit, E. Rohde, M. Jakstadt, R. F. Haseloff et W. G. Siems. 1995. «4-Hydroxynonenal, a novel indicator of lipid peroxidation for reperfusion injury of the myocardium». *Am J Physiol.* vol. 269, no 1 Pt 2, p. H14-22. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7631842.
- Board, P. G., R. T. Baker, G. Chelvanayagam et L. S. Jermiin. 1997. «Zeta, a novel class of glutathione transferases in a range of species from plants to humans». *Biochem J.* vol. 328 (Pt 3), p. 929-935. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9396740>.
- Bolgar, M. S., C. Y. Yang et S. J. Gaskell. 1996. «First direct evidence for lipid/protein conjugation in oxidized human low density lipoprotein». *J Biol Chem.* vol. 271, no 45, p. 27999-28001. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8910407>.
- Borde-Chiche, P., M. Diederich, F. Morceau, M. Wellman et M. Dicato. 2001. «Phorbol ester responsiveness of the glutathione S-transferase P1 gene promoter involves an inducible c-jun binding in human K562 leukemia cells». *Leuk Res.* vol. 25, no 3, p. 241-247. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11226521.
- Borutaite, V., et G. C. Brown. 2003. «Mitochondria in apoptosis of ischemic heart». *FEBS Lett.* vol. 541, no 1-3, p. 1-5. En ligne.

- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12706809.
- Boveris, A., et E. Cadenas. 1975. «Mitochondrial production of superoxide anions and its relationship to the antimycin insensitive respiration». *FEBS Lett.* vol. 54, no 3, p. 311-314. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=236930.
- Boveris, A., et B. Chance. 1973. «The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen». *Biochem J.* vol. 134, no 3, p. 707-716. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=4749271.
- Brodie, A. E., et D. J. Reed. 1990. «Cellular recovery of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase activity and thiol status after exposure to hydroperoxides». *Arch Biochem Biophys.* vol. 276, no 1, p. 212-218. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2297224.
- Brown, G. K. 2000. «Glucose transporters: structure, function and consequences of deficiency». *J Inherit Metab Dis.* vol. 23, no 3, p. 237-246. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10863940>.
- Brunori, M., et M. T. Wilson. 1995. «Electron transfer and proton pumping in cytochrome oxidase». *Biochimie*. vol. 77, no 7-8, p. 668-676. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8589077>.
- Capaldi, R. A. 1990. «Structure and function of cytochrome c oxidase». *Annu Rev Biochem.* vol. 59, p. 569-596. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2165384.
- Capitanio, N., R. Peccarisi, G. Capitanio, G. Villani, E. De Nitto, S. Scacco et S. Papa. 1994. «Role of nuclear-encoded subunits of mitochondrial cytochrome c oxidase in proton pumping revealed by limited enzymatic proteolysis». *Biochemistry*. vol. 33, no 41, p. 12521-12526. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7918475>.
- Caron, J. P., J. C. Fernandes, J. Martel-Pelletier, G. Tardif, F. Mineau, C. Geng et J. P. Pelletier. 1996. «Chondroprotective effect of intraarticular injections of interleukin-1 receptor antagonist in experimental osteoarthritis. Suppression of collagenase-1

- expression». *Arthritis Rheum.* vol. 39, no 9, p. 1535-1544. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8814066>.
- Ceccarelli, C., N. B. Grodsky, N. Ariyaratne, R. F. Colman et B. J. Bahnson. 2002.
 «Crystal structure of porcine mitochondrial NADP+-dependent isocitrate dehydrogenase complexed with Mn2+ and isocitrate. Insights into the enzyme mechanism». *J Biol Chem.* vol. 277, no 45, p. 43454-43462. En ligne.
 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12207025>.
- Cerutti, P. A. 1985. «Prooxidant states and tumor promotion». *Science*. vol. 227, no 4685, p. 375-381. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2981433>.
- Chance, B., H. Sies et A. Boveris. 1979. «Hydroperoxide metabolism in mammalian organs». *Physiol Rev.* vol. 59, no 3, p. 527-605. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=37532>.
- Chen, J., G. I. Henderson et G. L. Freeman. 2001. «Role of 4-hydroxynonenal in modification of cytochrome c oxidase in ischemia/reperfused rat heart». *J Mol Cell Cardiol*. vol. 33, no 11, p. 1919-1927. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11708837>.
- Chen, J. J., H. Bertrand et B. P. Yu. 1995. «Inhibition of adenine nucleotide translocator by lipid peroxidation products». *Free Radic Biol Med.* vol. 19, no 5, p. 583-590. En ligne.

 <a href="http://w
- Chen, J. J., S. Schenker et G. I. Henderson. 1997. «4-hydroxynonenal levels are enhanced in fetal liver mitochondria by in utero ethanol exposure». *Hepatology*. vol. 25, no 1, p. 142-147. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8985280>.
- Chen, J. J., et B. P. Yu. 1994. «Alterations in mitochondrial membrane fluidity by lipid peroxidation products». *Free Radic Biol Med.* vol. 17, no 5, p. 411-418. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7835747>.
- Chen, J., N. C. Robinson, S. Schenker, T. A. Frosto et G. I. Henderson. 1999. «Formation of 4-hydroxynonenal adducts with cytochrome c oxidase in rats following short-

- term ethanol intake». *Hepatology*. vol. 29, no 6, p. 1792-1798. En ligne. < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10347122>.
- Chen, J., S. Schenker, T. A. Frosto et G. I. Henderson. 1998. «Inhibition of cytochrome c oxidase activity by 4-hydroxynonenal (HNE). Role of HNE adduct formation with the enzyme subunits». *Biochim Biophys Acta*. vol. 1380, no 3, p. 336-344. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9555085>.
- Chen, Q., E. J. Vazquez, S. Moghaddas, C. L. Hoppel et E. J. Lesnefsky. 2003. «Production of reactive oxygen species by mitochondria: central role of complex III». *J Biol Chem.* vol. 278, no 38, p. 36027-36031. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12840017>.
- Cheng, J. Z., S. S. Singhal, M. Saini, J. Singhal, J. T. Piper, F. J. Van Kuijk, P. Zimniak, Y. C. Awasthi et S. Awasthi. 1999. «Effects of mGST A4 transfection on 4-hydroxynonenal-mediated apoptosis and differentiation of K562 human erythroleukemia cells». *Arch Biochem Biophys.* vol. 372, no 1, p. 29-36. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10562413>.
- Cheng, J. Z., S. S. Singhal, A. Sharma, M. Saini, Y. Yang, S. Awasthi, P. Zimniak et Y. C. Awasthi. 2001. «Transfection of mGSTA4 in HL-60 cells protects against 4-hydroxynonenal-induced apoptosis by inhibiting JNK-mediated signaling». *Arch Biochem Biophys.* vol. 392, no 2, p. 197-207. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11488593>.
- Cheung, P. Y., H. Danial, J. Jong et R. Schulz. 1998. «Thiols protect the inhibition of myocardial aconitase by peroxynitrite». *Arch Biochem Biophys.* vol. 350, no 1, p. 104-108. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9466826.
- Choudhary, S., T. Xiao, S. Srivastava, W. Zhang, L. L. Chan, L. A. Vergara, F. J. Van Kuijk et N. H. Ansari. 2005. «Toxicity and detoxification of lipid-derived aldehydes in cultured retinal pigmented epithelial cells». *Toxicol Appl Pharmacol*. vol. 204, no 2, p. 122-134. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15808518.
- Cleeter, M. W., J. M. Cooper, V. M. Darley-Usmar, S. Moncada et A. H. Schapira. 1994. «Reversible inhibition of cytochrome c oxidase, the terminal enzyme of the mitochondrial respiratory chain, by nitric oxide. Implications for neurodegenerative

- diseases». FEBS Lett. vol. 345, no 1, p. 50-54. En ligne.
- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt = Citation&list_uids=8194600 >.
- Crompton, M. 1999. «The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death». *Biochem J.* vol. 341 (Pt 2), p. 233-249. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10393078>.
- Curzio, M., H. Esterbauer, C. Di Mauro, G. Cecchini et M. U. Dianzani. 1986. «Chemotactic activity of the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal and homologous hydroxyalkenals». *Biol Chem Hoppe Seyler*. vol. 367, no 4, p. 321-329. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=3755047.
- Das, D. K., A. George, X. K. Liu et P. S. Rao. 1989. «Detection of hydroxyl radical in the mitochondria of ischemic-reperfused myocardium by trapping with salicylate». *Biochem Biophys Res Commun.* vol. 165, no 3, p. 1004-1009. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2558644.
- Denko, C. W., et C. J. Malemud. 1999. «Metabolic disturbances and synovial joint responses in osteoarthritis». *Front Biosci*. vol. 4, p. D686-693. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10525474>.
- Desmots, F., C. Rauch, C. Henry, A. Guillouzo et F. Morel. 1998. «Genomic organization, 5'-flanking region and chromosomal localization of the human glutathione transferase A4 gene». *Biochem J.* vol. 336 (Pt 2), p. 437-442. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9820822>.
- Dimock, A. N., P. D. Siciliano et C. W. McIlwraith. 2000. «Evidence supporting an increased presence of reactive oxygen species in the diseased equine joint». *Equine Vet J.* vol. 32, no 5, p. 439-443. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11037267>.
- Dore, S., J. P. Pelletier, J. A. DiBattista, G. Tardif, P. Brazeau et J. Martel-Pelletier. 1994. «Human osteoarthritic chondrocytes possess an increased number of insulin-like growth factor 1 binding sites but are unresponsive to its stimulation. Possible role of IGF-1-binding proteins». *Arthritis Rheum.* vol. 37, no 2, p. 253-263. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7510486>.

- Duchen, M. R. 2004. «Roles of mitochondria in health and disease». *Diabetes*. vol. 53 Suppl 1, p. S96-102. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=14749273>.
- Dunham, J., M. G. Chambers, M. K. Jasani, L. Bitensky et J. Chayen. 1988. «Changes in oxidative activities of chondrocytes during the early development of natural murine osteoarthritis». *Br J Exp Pathol*. vol. 69, no 6, p. 845-853. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=3219287.
- Dunham, J., M. G. Chambers, M. K. Jasani, L. Bitensky et J. Chayen. 1989. «Quantitative criteria for evaluating the early development of osteoarthritis and the effect of diclofenac sodium». *Agents Actions*. vol. 28, no 1-2, p. 93-97. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2782224.
- Dunham, J., S. Hoedt-Schmidt et D. A. Kalbhen. 1992. «Structural and metabolic changes in articular cartilage induced by iodoacetate». *Int J Exp Pathol.* vol. 73, no 4, p. 455-464. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1390193>.
- Duvoix, A., F. Morceau, S. Delhalle, M. Schmitz, M. Schnekenburger, M. M. Galteau, M. Dicato et M. Diederich. 2003. «Induction of apoptosis by curcumin: mediation by glutathione S-transferase P1-1 inhibition». *Biochem Pharmacol*. vol. 66, no 8, p. 1475-1483. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=14555224.
- Dwivedi, S., R. Sharma, A. Sharma, P. Zimniak, J. D. Ceci, Y. C. Awasthi et P. J. Boor. 2006. «The course of CCl4 induced hepatotoxicity is altered in mGSTA4-4 null (-/-) mice». *Toxicology*. vol. 218, no 1, p. 58-66. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16325313.
- Eggleston, L. V., et H. A. Krebs. 1974. «Regulation of the pentose phosphate cycle». *Biochem J.* vol. 138, no 3, p. 425-435. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=4154743>.
- Engle, M. R., S. P. Singh, P. J. Czernik, D. Gaddy, D. C. Montague, J. D. Ceci, Y. Yang, S. Awasthi, Y. C. Awasthi et P. Zimniak. 2004. «Physiological role of mGSTA4-4, a glutathione S-transferase metabolizing 4-hydroxynonenal: generation and analysis of mGsta4 null mouse». *Toxicol Appl Pharmacol*. vol. 194, no 3, p. 296-308. En ligne.

- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=14761685.
- Enns, G. M. 2003. «The contribution of mitochondria to common disorders». *Mol Genet Metab*. vol. 80, no 1-2, p. 11-26. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=14567954>.
- Esterbauer, H. 1993. «Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products». *Am J Clin Nutr.* vol. 57, no 5 Suppl, p. 779S-785S; discussion 785S-786S. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt , =Citation&list_uids=8475896 >.
- Esterbauer, H., A. Benedetti, J. Lang, R. Fulceri, G. Fauler et M. Comporti. 1986. «Studies on the mechanism of formation of 4-hydroxynonenal during microsomal lipid peroxidation». *Biochim Biophys Acta*. vol. 876, no 1, p. 154-166. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=3081043>.
- Esterbauer, H., R. J. Schaur et H. Zollner. 1991. «Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes». *Free Radic Biol Med.* vol. 11, no 1, p. 81-128. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1937131.
- Falchuk, K. H., E. J. Goetzl et J. P. Kulka. 1970. «Respiratory gases of synovial fluids. An approach to synovial tissue circulatory-metabolic imbalance in rheumatoid arthritis». *Am J Med.* vol. 49, no 2, p. 223-231. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=5452943>.
- Fariss, M. W., C. B. Chan, M. Patel, B. Van Houten et S. Orrenius. 2005. «Role of mitochondria in toxic oxidative stress». *Mol Interv.* vol. 5, no 2, p. 94-111. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15821158.
- Farrell, A. J., D. R. Blake, R. M. Palmer et S. Moncada. 1992. «Increased concentrations of nitrite in synovial fluid and serum samples suggest increased nitric oxide synthesis in rheumatic diseases». *Ann Rheum Dis.* vol. 51, no 11, p. 1219-1222. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1466599>.
- Fawthrop, F. W., A. Frazer, R. G. Russell et R. A. Bunning. 1997. «Effects of transforming growth factor beta on the production of prostaglandin E and caseinase activity of unstimulated and interleukin 1-stimulated human articular chondrocytes in culture». *Br J Rheumatol*. vol. 36, no 7, p. 729-734. En ligne.

- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9255105.
- Feng, Z., W. Hu et M. S. Tang. 2004. «Trans-4-hydroxy-2-nonenal inhibits nucleotide excision repair in human cells: a possible mechanism for lipid peroxidation-induced carcinogenesis». *Proc Natl Acad Sci U S A*. vol. 101, no 23, p. 8598-8602. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15187227.
- Friguet, B., E. R. Stadtman et L. I. Szweda. 1994. «Modification of glucose-6-phosphate dehydrogenase by 4-hydroxy-2-nonenal. Formation of cross-linked protein that inhibits the multicatalytic protease». *J Biol Chem.* vol. 269, no 34, p. 21639-21643. En ligne.
 - http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8063806>.
- Friguet, B., L. I. Szweda et E. R. Stadtman. 1994. «Susceptibility of glucose-6-phosphate dehydrogenase modified by 4-hydroxy-2-nonenal and metal-catalyzed oxidation to proteolysis by the multicatalytic protease». *Arch Biochem Biophys.* vol. 311, no 1, p. 168-173. En ligne.
 - http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8185314>.
- Gaby, A. R. 1999. «Natural treatments for osteoarthritis». *Altern Med Rev.* vol. 4, no 5, p. 330-341. En ligne.
 - http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt = Citation&list uids=10559548 >.
- Garcia-Ruiz, C., A. Colell, A. Morales, N. Kaplowitz et J. C. Fernandez-Checa. 1995. «Role of oxidative stress generated from the mitochondrial electron transport chain and mitochondrial glutathione status in loss of mitochondrial function and activation of transcription factor nuclear factor-kappa B: studies with isolated mitochondria and rat hepatocytes». *Mol Pharmacol.* vol. 48, no 5, p. 825-834. En ligne.
 - http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7476912>.
- Geisbrecht, B. V., et S. J. Gould. 1999. «The human PICD gene encodes a cytoplasmic and peroxisomal NADP(+)-dependent isocitrate dehydrogenase». *J Biol Chem.* vol. 274, no 43, p. 30527-30533. En ligne.
 - http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10521434.
- Geng, Y., J. Valbracht et M. Lotz. 1996. «Selective activation of the mitogen-activated protein kinase subgroups c-Jun NH2 terminal kinase and p38 by IL-1 and TNF in human articular chondrocytes». *J Clin Invest.* vol. 98, no 10, p. 2425-2430. En

ligne.

- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8941662.
- Gerard-Monnier, D., et J. Chaudiere. 1996. «[Metabolism and antioxidant function of glutathione]». *Pathol Biol (Paris)*. vol. 44, no 1, p. 77-85. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8734304.
- Gerbitz, K. D., K. Gempel et D. Brdiczka. 1996. «Mitochondria and diabetes. Genetic, biochemical, and clinical implications of the cellular energy circuit». *Diabetes*. vol. 45, no 2, p. 113-126. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8549853>.
- Gouze, J. N., K. Bordji, S. Gulberti, B. Terlain, P. Netter, J. Magdalou, S. Fournel-Gigleux et M. Ouzzine. 2001. «Interleukin-1beta down-regulates the expression of glucuronosyltransferase I, a key enzyme priming glycosaminoglycan biosynthesis: influence of glucosamine on interleukin-1beta-mediated effects in rat chondrocytes». *Arthritis Rheum.* vol. 44, no 2, p. 351-360. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt = Citation&list_uids=11229466 >.
- Grabowski, P. S., P. K. Wright, R. J. Van 't Hof, M. H. Helfrich, H. Ohshima et S. H. Ralston. 1997. «Immunolocalization of inducible nitric oxide synthase in synovium and cartilage in rheumatoid arthritis and osteoarthritis». *Br J Rheumatol*. vol. 36, no 6, p. 651-655. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9236674.
- Grace, J. M., T. L. MacDonald, R. J. Roberts et M. Kinter. 1996. «Determination of site-specific modifications of glucose-6-phosphate dehydrogenase by 4-hydroxy-2-nonenal using matrix assisted laser desorption time-of-flight mass spectrometry». Free Radic Res. vol. 25, no 1, p. 23-29. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8814441.
- Green, D. R., et J. C. Reed. 1998. «Mitochondria and apoptosis». *Science*. vol. 281, no 5381, p. 1309-1312. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9721092>.
- Greenwald, A. S., et D. W. Haynes. 1969. «A pathway for nutrients from the medullary cavity to the articular cartilage of the human femoral head». *J Bone Joint Surg Br*. vol. 51, no 4, p. 747-753. En ligne.

- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=4190171.
- Greenwald, R. A. 1991. «Oxygen radicals, inflammation, and arthritis: pathophysiological considerations and implications for treatment». Semin Arthritis Rheum. vol. 20, no 4, p. 219-240. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2042055.
- Grigolo, B., L. Roseti, M. Fiorini et A. Facchini. 2003. «Enhanced lipid peroxidation in synoviocytes from patients with osteoarthritis». *J Rheumatol*. vol. 30, no 2, p. 345-347. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12563693>.
- Gutteridge, J. M. 1993. «Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence». Free Radic Res Commun. vol. 19, no 3, p. 141-158. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8244084.
- Gutteridge, J. M., et B. Halliwell. 2000. «Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future». *Ann N Y Acad Sci.* vol. 899, p. 136-147. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10863535>.
- Habig, W. H., M. J. Pabst et W. B. Jakoby. 1974. «Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation». *J Biol Chem.* vol. 249, no 22, p. 7130-7139. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=4436300>.
- Haenen, G. R., J. N. Tai Tin Tsoi, N. P. Vermeulen, H. Timmerman et A. Bast. 1987. «4-Hydroxy-2,3-trans-nonenal stimulates microsomal lipid peroxidation by reducing the glutathione-dependent protection». *Arch Biochem Biophys.* vol. 259, no 2, p. 449-456. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=3426239>.
- Haklar, U., M. Yuksel, A. Velioglu, M. Turkmen, G. Haklar et A. S. Yalcin. 2002.
 «Oxygen radicals and nitric oxide levels in chondral or meniscal lesions or both».
 Clin Orthop Relat Res, no 403, p. 135-142. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12360019>.
- Haraguchi, C. M., T. Mabuchi et S. Yokota. 2003. «Localization of a mitochondrial type of NADP-dependent isocitrate dehydrogenase in kidney and heart of rat: an

- immunocytochemical and biochemical study». J Histochem Cytochem. vol. 51, no 2, p. 215-226. En ligne.
- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12533530.
- Hartley, D. P., J. A. Ruth et D. R. Petersen. 1995. «The hepatocellular metabolism of 4-hydroxynonenal by alcohol dehydrogenase, aldehyde dehydrogenase, and glutathione S-transferase». *Arch Biochem Biophys.* vol. 316, no 1, p. 197-205. En ligne.
 - http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7840616>.
- Hauptlorenz, S., H. Esterbauer, W. Moll, R. Pumpel, E. Schauenstein et B. Puschendorf. 1985. «Effects of the lipidperoxidation product 4-hydroxynonenal and related aldehydes on proliferation and viability of cultured Ehrlich ascites tumor cells». Biochem Pharmacol. vol. 34, no 21, p. 3803-3809. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=3840691>.
- Hayes, J. D. 1986. «Purification and physical characterization of glutathione S-transferase K. Differential use of S-hexylglutathione and glutathione affinity matrices to isolate a novel glutathione S-transferase from rat liver». *Biochem J.* vol. 233, no 3, p. 789-798. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=3707526>.
- Hayes, J. D., et D. J. Pulford. 1995. «The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance». *Crit Rev Biochem Mol Biol.* vol. 30, no 6, p. 445-600. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8770536.
- Henderson, N. S. 1968. «Intracellular location and genetic control of isozymes of NADP-dependent isocitrate dehydrogenase and malate dehydrogenase». *Ann N Y Acad Sci.* vol. 151, no 1, p. 429-440. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=4388365>.
- Henrotin, Y. E., P. Bruckner et J. P. Pujol. 2003. «The role of reactive oxygen species in homeostasis and degradation of cartilage». *Osteoarthritis Cartilage*. vol. 11, no 10, p. 747-755. En ligne.

 klipsi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=13129694.

- Higuchi, H., I. Kurose, S. Kato, S. Miura et H. Ishii. 1996. «Ethanol-induced apoptosis and oxidative stress in hepatocytes». *Alcohol Clin Exp Res.* vol. 20, no 9 Suppl, p. 340A-346A. En ligne.
 - http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8986234>.
- Hiratsuka, A., K. Hirose, H. Saito et T. Watabe. 2000. «4-Hydroxy-2(E)-nonenal enantiomers: (S)-selective inactivation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase and detoxification by rat glutathione S-transferase A4-4». *Biochem J.* vol. 349 Pt 3, p. 729-735. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10903133.
- Hiratsuka, A., H. Saito, K. Hirose et T. Watabe. 1999. «Marked expression of glutathione S-transferase A4-4 detoxifying 4-hydroxy-2(E)-nonenal in the skin of rats irradiated by ultraviolet B-band light (UVB)». *Biochem Biophys Res Commun.* vol. 260, no 3, p. 740-746. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10403836.
- Horton, H., L. Moran, R. Ochs, J. Rawn et K. Scrimgeour. 2000. *Principes de biochimie*. F. Camille, 1, no Bruxelles: De Boeck-Wesmael S.A., 720 p.
- Hosler, J. P., S. Ferguson-Miller, M. W. Calhoun, J. W. Thomas, J. Hill, L. Lemieux, J. Ma, C. Georgiou, J. Fetter, J. Shapleigh et et al. 1993. «Insight into the active-site structure and function of cytochrome oxidase by analysis of site-directed mutants of bacterial cytochrome aa3 and cytochrome bo». *J Bioenerg Biomembr*. vol. 25, no 2, p. 121-136. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8389745>.
- Hubatsch, I., M. Ridderstrom et B. Mannervik. 1998. «Human glutathione transferase A4-4: an alpha class enzyme with high catalytic efficiency in the conjugation of 4-hydroxynonenal and other genotoxic products of lipid peroxidation». *Biochem J.* vol. 330 (Pt 1), p. 175-179. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9461507>.
- Huh, T. L., J. H. Ryu, J. W. Huh, H. C. Sung, I. U. Oh, B. J. Song et R. L. Veech. 1993. «Cloning of a cDNA encoding bovine mitochondrial NADP(+)-specific isocitrate dehydrogenase and structural comparison with its isoenzymes from different species». *Biochem J.* vol. 292 (Pt 3), p. 705-710. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8318002>.

- Humphries, K. M., et L. I. Szweda. 1998. «Selective inactivation of alpha-ketoglutarate dehydrogenase and pyruvate dehydrogenase: reaction of lipoic acid with 4-hydroxy-2-nonenal». *Biochemistry*. vol. 37, no 45, p. 15835-15841. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9843389.
- Ide, T., H. Tsutsui, S. Kinugawa, H. Utsumi, D. Kang, N. Hattori, K. Uchida, K. Arimura, K. Egashira et A. Takeshita. 1999. «Mitochondrial electron transport complex I is a potential source of oxygen free radicals in the failing myocardium». *Circ Res.* vol. 85, no 4, p. 357-363. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10455064.
- Ishii, T., E. Tatsuda, S. Kumazawa, T. Nakayama et K. Uchida. 2003. «Molecular basis of enzyme inactivation by an endogenous electrophile 4-hydroxy-2-nonenal: identification of modification sites in glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase». *Biochemistry*. vol. 42, no 12, p. 3474-3480. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12653551>.
- Jennings, G. T., S. Sechi, P. M. Stevenson, R. C. Tuckey, D. Parmelee et L. McAlister-Henn. 1994. «Cytosolic NADP(+)-dependent isocitrate dehydrogenase. Isolation of rat cDNA and study of tissue-specific and developmental expression of mRNA». *J Biol Chem.* vol. 269, no 37, p. 23128-23134. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8083215>.
- Ji, C., V. Amarnath, J. A. Pietenpol et L. J. Marnett. 2001. «4-hydroxynonenal induces apoptosis via caspase-3 activation and cytochrome c release». *Chem Res Toxicol*. vol. 14, no 8, p. 1090-1096. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11511183>.
- Jo, S. H., M. K. Son, H. J. Koh, S. M. Lee, I. H. Song, Y. O. Kim, Y. S. Lee, K. S. Jeong, W. B. Kim, J. W. Park, B. J. Song et T. L. Huh. 2001. «Control of mitochondrial redox balance and cellular defense against oxidative damage by mitochondrial NADP+-dependent isocitrate dehydrogenase». *J Biol Chem.* vol. 276, no 19, p. 16168-16176. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11278619>.
- Johnson, K., A. Jung, A. Murphy, A. Andreyev, J. Dykens et R. Terkeltaub. 2000. «Mitochondrial oxidative phosphorylation is a downstream regulator of nitric oxide effects on chondrocyte matrix synthesis and mineralization». *Arthritis Rheum.* vol. 43, no 7, p. 1560-1570. En ligne.

- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt = Citation&list uids=10902761 >.
- Joost, H. G., et B. Thorens. 2001. «The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators: nomenclature, sequence characteristics, and potential function of its novel members (review)». *Mol Membr Biol*. vol. 18, no 4, p. 247-256. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11780753>.
- Kadenbach, B. 1986. «Regulation of respiration and ATP synthesis in higher organisms: hypothesis». *J Bioenerg Biomembr*. vol. 18, no 1, p. 39-54. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=3009427.
- Kadenbach, B., M. Huttemann, S. Arnold, I. Lee et E. Bender. 2000. «Mitochondrial energy metabolism is regulated via nuclear-coded subunits of cytochrome c oxidase». Free Radic Biol Med. vol. 29, no 3-4, p. 211-221. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11035249>.
- Kadenbach, B., J. Jarausch, R. Hartmann et P. Merle. 1983. «Separation of mammalian cytochrome c oxidase into 13 polypeptides by a sodium dodecyl sulfate-gel electrophoretic procedure». *Anal Biochem.* vol. 129, no 2, p. 517-521. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=6303162>.
- Kadenbach, B., et P. Merle. 1981. «On the function of multiple subunits of cytochrome c oxidase from higher eukaryotes». *FEBS Lett.* vol. 135, no 1, p. 1-11. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=6274682.
- Kamiya, H., K. Okumura, M. Ito, H. Matsui, Y. Saburi, K. Hayashi et T. Hayakawa. 2001.
 «Antioxidant changes in the hypertrophied heart due to energy metabolic disorder».
 Basic Res Cardiol. vol. 96, no 5, p. 431-438. En ligne.
 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11605989>.
- Kanazawa, K., et H. Ashida. 1991. «Target enzymes on hepatic dysfunction caused by dietary products of lipid peroxidation». *Arch Biochem Biophys*. vol. 288, no 1, p. 71-78. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1898026>.
- Kaplowitz, N., et H. Tsukamoto. 1996. «Oxidative stress and liver disease». *Prog Liver Dis.* vol. 14, p. 131-159. En ligne.

- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list uids=9055577.
- Kawai, Y., E. Kubota et E. Okabe. 2000. «Reactive oxygen species participation in experimentally induced arthritis of the temporomandibular joint in rats». *J Dent Res.* vol. 79, no 7, p. 1489-1495. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11005733>.
- Keene, D. R., E. Engvall et R. W. Glanville. 1988. «Ultrastructure of type VI collagen in human skin and cartilage suggests an anchoring function for this filamentous network». *J Cell Biol.* vol. 107, no 5, p. 1995-2006. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=3182942.
- Kehrer, J. P. 1993. «Free radicals as mediators of tissue injury and disease». *Crit Rev Toxicol.* vol. 23, no 1, p. 21-48. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8471159>.
- Kellgren, J. H., et R. Moore. 1952. «Generalized osteoarthritis and Heberden's nodes». *Br Med J.* vol. 1, no 4751, p. 181-187. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=14896078>.
- Kempson, G. E., H. Muir, C. Pollard et M. Tuke. 1973. «The tensile properties of the cartilage of human femoral condyles related to the content of collagen and glycosaminoglycans». *Biochim Biophys Acta*. vol. 297, no 2, p. 456-472. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=4267503>.
- Ketterer, B., D. J. Meyer et A. G. Clark. 1988. Soluble glutathione transferase isozymes. In Glutathione Conjugation: Mechanism and Biological Significance Coll. «Academic Press, ». London, 73-135 p.
- Kluck, R. M., E. Bossy-Wetzel, D. R. Green et D. D. Newmeyer. 1997. «The release of cytochrome c from mitochondria: a primary site for Bcl-2 regulation of apoptosis». *Science*. vol. 275, no 5303, p. 1132-1136. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9027315>.
- Koh, H. J., S. M. Lee, B. G. Son, S. H. Lee, Z. Y. Ryoo, K. T. Chang, J. W. Park, D. C. Park, B. J. Song, R. L. Veech, H. Song et T. L. Huh. 2004. «Cytosolic NADP+dependent isocitrate dehydrogenase plays a key role in lipid metabolism». *J Biol Chem.* vol. 279, no 38, p. 39968-39974. En ligne.

- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15254034.
- Kosel, S., G. Hofhaus, A. Maassen, P. Vieregge et M. B. Graeber. 1999. «Role of mitochondria in Parkinson disease». *Biol Chem.* vol. 380, no 7-8, p. 865-870. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt
- Kristal, B. S., J. Chen et B. P. Yu. 1994. «Sensitivity of mitochondrial transcription to different free radical species». *Free Radic Biol Med.* vol. 16, no 3, p. 323-329. En ligne

=Citation&list uids=10494835 >.

- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8063195.
- Kroemer, G., N. Zamzami et S. A. Susin. 1997. «Mitochondrial control of apoptosis». *Immunol Today*. vol. 18, no 1, p. 44-51. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9018974>.
- Kruman, I., A. J. Bruce-Keller, D. Bredesen, G. Waeg et M. P. Mattson. 1997. «Evidence that 4-hydroxynonenal mediates oxidative stress-induced neuronal apoptosis». *J Neurosci.* vol. 17, no 13, p. 5089-5100. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9185546>.
- Larini, A., L. Bianchi et V. Bocci. 2004. «Effect of 4-hydroxynonenal on antioxidant capacity and apoptosis induction in Jurkat T cells». *Free Radic Res.* vol. 38, no 5, p. 509-516. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15293559>.
- Laurent, A., J. Alary, L. Debrauwer et J. P. Cravedi. 1999. «Analysis in the rat of 4-hydroxynonenal metabolites excreted in bile: evidence of enterohepatic circulation of these byproducts of lipid peroxidation». *Chem Res Toxicol*. vol. 12, no 10, p. 887-894. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10525263.
- Laurora, S., E. Tamagno, F. Briatore, P. Bardini, S. Pizzimenti, C. Toaldo, P. Reffo, P. Costelli, M. U. Dianzani, O. Danni et G. Barrera. 2005. «4-Hydroxynonenal modulation of p53 family gene expression in the SK-N-BE neuroblastoma cell line». *Free Radic Biol Med.* vol. 38, no 2, p. 215-225. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list uids=15607904.

- Lee, J. Y., J. H. Je, D. H. Kim, S. W. Chung, Y. Zou, N. D. Kim, M. Ae Yoo, H. Suck Baik, B. P. Yu et H. Y. Chung. 2004. «Induction of endothelial apoptosis by 4-hydroxyhexenal». *Eur J Biochem*. vol. 271, no 7, p. 1339-1347. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15030484>.
- Lee, R. B., et J. P. Urban. 1997. «Evidence for a negative Pasteur effect in articular cartilage». *Biochem J.* vol. 321 (Pt 1), p. 95-102. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9003406>.
- Lee, S. M., H. J. Koh, D. C. Park, B. J. Song, T. L. Huh et J. W. Park. 2002. «Cytosolic NADP(+)-dependent isocitrate dehydrogenase status modulates oxidative damage to cells». Free Radic Biol Med. vol. 32, no 11, p. 1185-1196. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12031902.
- Leonard, J. V., et A. H. Schapira. 2000. «Mitochondrial respiratory chain disorders I: mitochondrial DNA defects». *Lancet*. vol. 355, no 9200, p. 299-304. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10675086>.
- Lesnefsky, E. J., S. Moghaddas, B. Tandler, J. Kerner et C. L. Hoppel. 2001.
 «Mitochondrial dysfunction in cardiac disease: ischemia--reperfusion, aging, and heart failure». *J Mol Cell Cardiol*. vol. 33, no 6, p. 1065-1089. En ligne.
 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11444914>.
- Liote, F., et P. Orcel. 2000. «Osteoarticular disorders of endocrine origin». *Baillieres Best Pract Res Clin Rheumatol.* vol. 14, no 2, p. 251-276. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10925744>.
- Loeffler, M., et G. Kroemer. 2000. «The mitochondrion in cell death control: certainties and incognita». *Exp Cell Res.* vol. 256, no 1, p. 19-26. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10739647.
- Loeser, R. F., C. S. Carlson, M. Del Carlo et A. Cole. 2002. «Detection of nitrotyrosine in aging and osteoarthritic cartilage: Correlation of oxidative damage with the presence of interleukin-1 beta and with chondrocyte resistance to insulin-like growth factor 1». *Arthritis Rheum*. vol. 46, no 9, p. 2349-2357. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12355482.

- Loftus, T. M., L. V. Hall, S. L. Anderson et L. McAlister-Henn. 1994. «Isolation, characterization, and disruption of the yeast gene encoding cytosolic NADP-specific isocitrate dehydrogenase». *Biochemistry*. vol. 33, no 32, p. 9661-9667. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8068643.
- Loreck, D. J., J. Galarraga, J. Van der Feen, J. M. Phang, B. H. Smith et C. J. Cummins. 1987. «Regulation of the pentose phosphate pathway in human astrocytes and gliomas». *Metab Brain Dis.* vol. 2, no 1, p. 31-46. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=3505333>.
- Lotz, M. 1999. «The role of nitric oxide in articular cartilage damage». *Rheum Dis Clin North Am.* vol. 25, no 2, p. 269-282. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10356417>.
- Lotz, M. 2001. «Cytokines in cartilage injury and repair». *Clin Orthop Relat Res*, no 391 Suppl, p. S108-115. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11603695>.
- Lucas, D. T., et L. I. Szweda. 1998. «Cardiac reperfusion injury: aging, lipid peroxidation, and mitochondrial dysfunction». *Proc Natl Acad Sci U S A*. vol. 95, no 2, p. 510-514. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9435222.
- Lucas, D. T., et L. I. Szweda. 1999. «Declines in mitochondrial respiration during cardiac reperfusion: age-dependent inactivation of alpha-ketoglutarate dehydrogenase». *Proc Natl Acad Sci U S A.* vol. 96, no 12, p. 6689-6693. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10359773>.
- Lund-Olesen, K. 1970. «Oxygen tension in synovial fluids». *Arthritis Rheum*. vol. 13, no 6, p. 769-776. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=5495389.
- Macfarlane, N., B. Mathews et K. Dalziel. 1977. «The purification and properties of NADP-dependent isocitrate dehydrogenase from ox-heart mitochondria». *Eur J Biochem.* vol. 74, no 3, p. 553-559. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15840.

- Maeng, O., Y. C. Kim, H. J. Shin, J. O. Lee, T. L. Huh, K. I. Kang, Y. S. Kim, S. G. Paik et H. Lee. 2004. «Cytosolic NADP(+)-dependent isocitrate dehydrogenase protects macrophages from LPS-induced nitric oxide and reactive oxygen species». *Biochem Biophys Res Commun.* vol. 317, no 2, p. 558-564. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15063794>.
- Mailloux, R. J., R. Singh et V. D. Appanna. 2006. «In-gel activity staining of oxidized nicotinamide adenine dinucleotide kinase by blue native polyacrylamide gel electrophoresis». *Anal Biochem.* vol. 359, no 2, p. 210-215. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17083911>.
- Malatesta, F., G. Antonini, P. Sarti et M. Brunori. 1995. «Structure and function of a molecular machine: cytochrome c oxidase». *Biophys Chem.* vol. 54, no 1, p. 1-33. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7703349>.
- Maneiro, E., M. A. Martin, M. C. de Andres, M. J. Lopez-Armada, J. L. Fernandez-Sueiro, P. del Hoyo, F. Galdo, J. Arenas et F. J. Blanco. 2003. «Mitochondrial respiratory activity is altered in osteoarthritic human articular chondrocytes». *Arthritis Rheum*. vol. 48, no 3, p. 700-708. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12632423>.
- Mannervik, B., P. Alin, C. Guthenberg, H. Jensson, M. K. Tahir, M. Warholm et H. Jornvall. 1985. «Identification of three classes of cytosolic glutathione transferase common to several mammalian species: correlation between structural data and enzymatic properties». *Proc Natl Acad Sci U S A*. vol. 82, no 21, p. 7202-7206. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=3864155>.
- Marcus, R. E. 1973. «The effect of low oxygen concentration on growth, glycolysis; and sulfate incorporation by articular chondrocytes in monolayer culture». *Arthritis Rheum.* vol. 16, no 5, p. 646-656. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=4795466>.
- Margaill, I., M. Plotkine et D. Lerouet. 2005. «Antioxidant strategies in the treatment of stroke». *Free Radic Biol Med.* vol. 39, no 4, p. 429-443. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16043015>.

- Mark, R. J., Z. Pang, J. W. Geddes, K. Uchida et M. P. Mattson. 1997. «Amyloid betapeptide impairs glucose transport in hippocampal and cortical neurons: involvement of membrane lipid peroxidation». *J Neurosci*. vol. 17, no 3, p. 1046-1054. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8994059>.
- Martel-Pelletier, J., N. Alaaeddine et J. P. Pelletier. 1999. «Cytokines and their role in the pathophysiology of osteoarthritis». *Front Biosci.* vol. 4, p. D694-703. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10525480.
- Martel-Pelletier, J., J. A. di Battista et D. Lajeunesse. 1999. *Biochemical factors in joint articular tissue degradation in osteoarthritis*. Coll. «Osteoarthritis: clinical and experimental aspects. ». Berlin: Springer-Verlag, 156-187 p.
- Martel-Pelletier, J., et J. P. Pelletier. 1996. «Wanted--the collagenase responsible for the destruction of the collagen network in human cartilage!». *Br J Rheumatol*. vol. 35, no 9, p. 818-820. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8810663>.
- Martel-Pelletier, J., G. Tardif, J. C. Fernandes et J. P. Pelletier. 2000. *Metalloproteases and their modulation as treatment in osteoarthritis*. Coll. «Principles of molecular rheumatology». Totowa, NJ: Humana Press, 499-514 p.
- Martin, J. A., T. D. Brown, A. D. Heiner et J. A. Buckwalter. 2004. «Chondrocyte senescence, joint loading and osteoarthritis». *Clin Orthop Relat Res*, no 427 Suppl, p. S96-103. En ligne.

 <a href="mailto:specific content or conte
- Martin, J. A., T. Brown, A. Heiner et J. A. Buckwalter. 2004. «Post-traumatic osteoarthritis: the role of accelerated chondrocyte senescence». *Biorheology*. vol. 41, no 3-4, p. 479-491. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15299279>.
- Matsubara, S., T. Takayama, R. Iwasaki, N. Komatsu, D. Matsubara, T. Takizawa et I. Sato. 2001. «Enzyme-cytochemically detectable glucose-6-phosphate dehydrogenase in human villous macrophages (Hofbauer cells)». *Placenta*. vol. 22, no 10, p. 882-885. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11718577>.
- McInnes, I. B., B. P. Leung, M. Field, X. Q. Wei, F. P. Huang, R. D. Sturrock, A. Kinninmonth, J. Weidner, R. Mumford et F. Y. Liew. 1996. «Production of nitric

- oxide in the synovial membrane of rheumatoid and osteoarthritis patients». *J Exp Med.* vol. 184, no 4, p. 1519-1524. En ligne.
- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8879223.
- McLennan, H. R., et M. Degli Esposti. 2000. «The contribution of mitochondrial respiratory complexes to the production of reactive oxygen species». *J Bioenerg Biomembr*. vol. 32, no 2, p. 153-162. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11768748>.
- Medh, R. D., M. Saxena, S. S. Singhal, H. Ahmad et Y. C. Awasthi. 1991.

 «Characterization of a novel glutathione S-transferase isoenzyme from mouse lung and liver having structural similarity to rat glutathione S-transferase 8-8». Biochem J. vol. 278 (Pt 3), p. 793-799. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1898365>.
- Minich, T., S. Yokota et R. Dringen. 2003. «Cytosolic and mitochondrial isoforms of NADP+-dependent isocitrate dehydrogenases are expressed in cultured rat neurons, astrocytes, oligodendrocytes and microglial cells». *J Neurochem*. vol. 86, no 3, p. 605-614. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12859674.
- Mobasheri, A., H. Dobson, S. L. Mason, F. Cullingham, M. Shakibaei, J. F. Moley et K. H. Moley. 2005. «Expression of the GLUT1 and GLUT9 facilitative glucose transporters in embryonic chondroblasts and mature chondrocytes in ovine articular cartilage». *Cell Biol Int.* vol. 29, no 4, p. 249-260. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15943951.
- Mobasheri, A., G. Neama, S. Bell, S. Richardson et S. D. Carter. 2002. «Human articular chondrocytes express three facilitative glucose transporter isoforms: GLUT1, GLUT3 and GLUT9». *Cell Biol Int.* vol. 26, no 3, p. 297-300. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11991658>.
- Mobasheri, A., S. J. Vannucci, C. A. Bondy, S. D. Carter, J. F. Innes, M. F. Arteaga, E. Trujillo, I. Ferraz, M. Shakibaei et P. Martin-Vasallo. 2002. «Glucose transport and metabolism in chondrocytes: a key to understanding chondrogenesis, skeletal development and cartilage degradation in osteoarthritis». *Histol Histopathol.* vol. 17, no 4, p. 1239-1267. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12371151.

- Morquette, B., Q. Shi, P. Lavigne, P. Ranger, J. C. Fernandes et M. Benderdour. 2006. «Production of lipid peroxidation products in osteoarthritic tissues: new evidence linking 4-hydroxynonenal to cartilage degradation». *Arthritis Rheum.* vol. 54, no 1, p. 271-281. En ligne.
 - http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list uids=16385544.
- Mulder, K. M. 2000. «Role of Ras and Mapks in TGFbeta signaling». *Cytokine Growth Factor Rev.* vol. 11, no 1-2, p. 23-35. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10708950>.
- Murrell, G. A., D. Jang et R. J. Williams. 1995. «Nitric oxide activates metalloprotease enzymes in articular cartilage». *Biochem Biophys Res Commun.* vol. 206, no 1, p. 15-21. En ligne.

 <a href="mailto:kl
- Musatov, A., C. A. Carroll, Y. C. Liu, G. I. Henderson, S. T. Weintraub et N. C. Robinson. 2002. «Identification of bovine heart cytochrome c oxidase subunits modified by the lipid peroxidation product 4-hydroxy-2-nonenal». *Biochemistry*. vol. 41, no 25, p. 8212-8220. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12069614.
- Nagamatsu, S., J. M. Kornhauser, C. F. Burant, S. Seino, K. E. Mayo et G. I. Bell. 1992.
 «Glucose transporter expression in brain. cDNA sequence of mouse GLUT3, the brain facilitative glucose transporter isoform, and identification of sites of expression by in situ hybridization». *J Biol Chem.* vol. 267, no 1, p. 467-472. En ligne.

 uids=1730609>.
- Nahir, A. M., N. Vitis et M. Silbermann. 1990. «Cellular enzymatic activities in the articular cartilage of osteoarthritic and osteoporotic hip joints of humans: a quantitative cytochemical study». *Aging (Milano)*. vol. 2, no 4, p. 363-369. En ligne.

 klist_uids=2094376>.
- Nakajima, A., K. Yamada, L. B. Zou, Y. Yan, M. Mizuno et T. Nabeshima. 2002.

 «Interleukin-6 protects PC12 cells from 4-hydroxynonenal-induced cytotoxicity by increasing intracellular glutathione levels». Free Radic Biol Med. vol. 32, no 12, p. 1324-1332. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12057770.

- Newman, A. B., C. L. Haggerty, B. Goodpaster, T. Harris, S. Kritchevsky, M. Nevitt, T. P. Miles et M. Visser. 2003. «Strength and muscle quality in a well-functioning cohort of older adults: the Health, Aging and Body Composition Study». *J Am Geriatr Soc.* vol. 51, no 3, p. 323-330. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12588575.
- Nicotera, P., M. Leist et E. Ferrando-May. 1998. «Intracellular ATP, a switch in the decision between apoptosis and necrosis». *Toxicol Lett.* vol. 102-103, p. 139-142. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10022245>.
- Ninfali, P., M. Ditroilo, S. Capellacci et E. Biagiotti. 2001. «Rabbit brain glucose-6-phosphate dehydrogenase: biochemical properties and inactivation by free radicals and 4-hydroxy-2-nonenal». *Neuroreport*. vol. 12, no 18, p. 4149-4153. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11742255>.
- Nulton-Persson, A. C., et L. I. Szweda. 2001. «Modulation of mitochondrial function by hydrogen peroxide». *J Biol Chem.* vol. 276, no 26, p. 23357-23361. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11283020>.
- Oegema, T. R. Jr, et R. C. Thompson. 1986. Articular Cartilage Biochemistry Raven Press
- Coll. «Metabolism of chondrocytes derived from normal and OA human cartilage». New York: , 257-271 p.
- Okma-Keulen, P., et M. Hopman-Rock. 2001. «The onset of generalized osteoarthritis in older women: a qualitative approach». *Arthritis Rheum.* vol. 45, no 2, p. 183-190. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11324783>.
- Oliveria, S. A., D. T. Felson, J. I. Reed, P. A. Cirillo et A. M. Walker. 1995. «Incidence of symptomatic hand, hip, and knee osteoarthritis among patients in a health maintenance organization». *Arthritis Rheum.* vol. 38, no 8, p. 1134-1141. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7639811>.
- Ostalowska, A., E. Birkner, M. Wiecha, S. Kasperczyk, A. Kasperczyk, D. Kapolka et A. Zon-Giebel. 2006. «Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in synovial fluid of patients with primary and secondary osteoarthritis of the knee joint». *Osteoarthritis Cartilage*. vol. 14, no 2, p. 139-145. En ligne.

- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt = Citation&list_uids=16289733 >.
- Otte, P. 1991. «Basic cell metabolism of articular cartilage. Manometric studies». *Z Rheumatol.* vol. 50, no 5, p. 304-312. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1776367>.
- Palinski, W., M. E. Rosenfeld, S. Yla-Herttuala, G. C. Gurtner, S. S. Socher, S. W. Butler, S. Parthasarathy, T. E. Carew, D. Steinberg et J. L. Witztum. 1989. «Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo». *Proc Natl Acad Sci U S A*. vol. 86, no 4, p. 1372-1376. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2465552>.
- Palinski, W., S. Yla-Herttuala, M. E. Rosenfeld, S. W. Butler, S. A. Socher, S. Parthasarathy, L. K. Curtiss et J. L. Witztum. 1990. «Antisera and monoclonal antibodies specific for epitopes generated during oxidative modification of low density lipoprotein». *Arteriosclerosis*. vol. 10, no 3, p. 325-335. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1693068>.
- Pandolfi, P. P., F. Sonati, R. Rivi, P. Mason, F. Grosveld et L. Luzzatto. 1995. «Targeted disruption of the housekeeping gene encoding glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD): G6PD is dispensable for pentose synthesis but essential for defense against oxidative stress». *Embo J.* vol. 14, no 21, p. 5209-5215. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7489710>.
- Park, J. W., et R. A. Floyd. 1992. «Lipid peroxidation products mediate the formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in DNA». Free Radic Biol Med. vol. 12, no 4, p. 245-250. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1315708>.
- Patrick, B., J. Li, P. V. Jeyabal, P. M. Reddy, Y. Yang, R. Sharma, M. Sinha, B. Luxon, P. Zimniak, S. Awasthi et Y. C. Awasthi. 2005. «Depletion of 4-hydroxynonenal in hGSTA4-transfected HLE B-3 cells results in profound changes in gene expression». *Biochem Biophys Res Commun.* vol. 334, no 2, p. 425-432. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16005854.
- Pelletier, J. P., J. A. DiBattista, P. Roughley, R. McCollum et J. Martel-Pelletier. 1993. «Cytokines and inflammation in cartilage degradation». *Rheum Dis Clin North Am.* vol. 19, no 3, p. 545-568. En ligne.

- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt = Citation&list uids=8210574 >.
- Pelletier, J. P., J. Martel-Pelletier et S. B. Abramson. 2001. «Osteoarthritis, an inflammatory disease: potential implication for the selection of new therapeutic targets». *Arthritis Rheum.* vol. 44, no 6, p. 1237-1247. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11407681>.
- Pelletier, J. P., J. Martel-Pelletier et D. S. Howell. 2000. *Etiopathogenesis of osteoarthritis*, 14th ed. Coll. «Arthritis & allied conditions: a textbook of rheumatology. ». Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2195-2245 p.
- Pelletier, J. P., F. Mineau, P. Ranger, G. Tardif et J. Martel-Pelletier. 1996. «The increased synthesis of inducible nitric oxide inhibits IL-1ra synthesis by human articular chondrocytes: possible role in osteoarthritic cartilage degradation». *Osteoarthritis Cartilage*. vol. 4, no 1, p. 77-84. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8731398>.
- Pemble, S. E., A. F. Wardle et J. B. Taylor. 1996. «Glutathione S-transferase class Kappa: characterization by the cloning of rat mitochondrial GST and identification of a human homologue». *Biochem J.* vol. 319 (Pt 3), p. 749-754. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8920976>.
- Petit, P. X., H. Lecoeur, E. Zorn, C. Dauguet, B. Mignotte et M. L. Gougeon. 1995.
 «Alterations in mitochondrial structure and function are early events of dexamethasone-induced thymocyte apoptosis». *J Cell Biol.* vol. 130, no 1, p. 157-167. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7790370>.
- Petit, P. X., N. Zamzami, J. L. Vayssiere, B. Mignotte, G. Kroemer et M. Castedo. 1997. «Implication of mitochondria in apoptosis». *Mol Cell Biochem*. vol. 174, no 1-2, p. 185-188. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9309685>.
- Phillips, T., I. Ferraz, S. Bell, P. D. Clegg, S. D. Carter et A. Mobasheri. 2005.
 «Differential regulation of the GLUT1 and GLUT3 glucose transporters by growth factors and pro-inflammatory cytokines in equine articular chondrocytes». *Vet J.* vol. 169, no 2, p. 216-222. En ligne.
 uids=15727913>.

- Plaut, G. W., M. Cook et T. Aogaichi. 1983. «The subcellular location of isozymes of NADP-isocitrate dehydrogenase in tissues from pig, ox and rat». *Biochim Biophys Acta*. vol. 760, no 2, p. 300-308. En ligne.

 <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/e
- Poole, A. R. 2001. *Cartilage in Health and Disease*, Ed. 14. Coll. «Arthritis and Allied Conditions. A Text-book of Rheumatology», no Vol 1. New York: Lippincott Williams and Wilkins 2260-2284 p.
- Poole, A. R., T. Kojima, T. Yasuda, F. Mwale, M. Kobayashi et S. Laverty. 2001. «Composition and structure of articular cartilage: a template for tissue repair». *Clin Orthop Relat Res*, no 391 Suppl, p. S26-33. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11603710>.
- Poole, A. R., I. Pidoux, A. Reiner et L. Rosenberg. 1982. «An immunoelectron microscope study of the organization of proteoglycan monomer, link protein, and collagen in the matrix of articular cartilage». *J Cell Biol*. vol. 93, no 3, p. 921-937. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7119005>.
- Poole, A. R., I. Pidoux, A. Reiner, L. H. Tang, H. Choi et L. Rosenberg. 1980.

 «Localization of proteoglycan monomer and link protein in the matrix of bovine articular cartilage: An immunohistochemical study». *J Histochem Cytochem*. vol. 28, no 7, p. 621-635. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=6156200>.
- Poole, A. R., L. C. Rosenberg, A. Reiner, M. Ionescu, E. Bogoch et P. J. Roughley. 1996. «Contents and distributions of the proteoglycans decorin and biglycan in normal and osteoarthritic human articular cartilage». *J Orthop Res.* vol. 14, no 5, p. 681-689. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8893759.
- Poole, A. R., C. Webber, I. Pidoux, H. Choi et L. C. Rosenberg. 1986. «Localization of a dermatan sulfate proteoglycan (DS-PGII) in cartilage and the presence of an immunologically related species in other tissues». *J Histochem Cytochem*. vol. 34, no 5, p. 619-625. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=3701029.
- Poot, M., A. Verkerk, J. F. Koster, H. Esterbauer et J. F. Jongkind. 1988. «Reversible inhibition of DNA and protein synthesis by cumene hydroperoxide and 4-hydroxy-

- nonenal». *Mech Ageing Dev.* vol. 43, no 1, p. 1-9. En ligne. < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt = Citation&list uids=3374176 >.
- Poyton, R. O., C. E. Trueblood, R. M. Wright et L. E. Farrell. 1988. «Expression and function of cytochrome c oxidase subunit isologues. Modulators of cellular energy production?». *Ann N Y Acad Sci.* vol. 550, p. 289-307. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2854400.
- Pratta, M. A., P. A. Scherle, G. Yang, R. Q. Liu et R. C. Newton. 2003. «Induction of aggrecanase 1 (ADAM-TS4) by interleukin-1 occurs through activation of constitutively produced protein». *Arthritis Rheum*. vol. 48, no 1, p. 119-133. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12528112>.
- Puiggros, F., N. Llopiz, A. Ardevol, C. Blade, L. Arola et M. J. Salvado. 2005. «Grape seed procyanidins prevent oxidative injury by modulating the expression of antioxidant enzyme systems». *J Agric Food Chem.* vol. 53, no 15, p. 6080-6086. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16028999>.
- Rall, T. W., et A. L. Lehninger. 1952. «Glutathione reductase of animal tissues». *J Biol Chem.* vol. 194, no 1, p. 119-130. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=14927599>.
- Raza, H., et A. John. 2006. «4-hydroxynonenal induces mitochondrial oxidative stress, apoptosis and expression of glutathione S-transferase A4-4 and cytochrome P450 2E1 in PC12 cells». *Toxicol Appl Pharmacol*. vol. 216, no 2, p. 309-318. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16843508>.
- Raza, H., S. K. Prabu, M. A. Robin et N. G. Avadhani. 2004. «Elevated mitochondrial cytochrome P450 2E1 and glutathione S-transferase A4-4 in streptozotocin-induced diabetic rats: tissue-specific variations and roles in oxidative stress». *Diabetes*. vol. 53, no 1, p. 185-194. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=14693714.
- Raza, H., M. A. Robin, J. K. Fang et N. G. Avadhani. 2002. «Multiple isoforms of mitochondrial glutathione S-transferases and their differential induction under oxidative stress». *Biochem J.* vol. 366, no Pt 1, p. 45-55. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12020353>.

- Richardson, S., G. Neama, T. Phillips, S. Bell, S. D. Carter, K. H. Moley, J. F. Moley, S. J. Vannucci et A. Mobasheri. 2003. «Molecular characterization and partial cDNA cloning of facilitative glucose transporters expressed in human articular chondrocytes; stimulation of 2-deoxyglucose uptake by IGF-I and elevated MMP-2 secretion by glucose deprivation». *Osteoarthritis Cartilage*. vol. 11, no 2, p. 92-101. En ligne.
 - http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12554125.
- Rinaldi, M., G. Barrera, A. Aquino, P. Spinsanti, S. Pizzimenti, M. G. Farace, M. U. Dianzani et V. M. Fazio. 2000. «4-Hydroxynonenal-induced MEL cell differentiation involves PKC activity translocation». *Biochem Biophys Res Commun.* vol. 272, no 1, p. 75-80. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10872805>.
- Robin, M. A., S. K. Prabu, H. Raza, H. K. Anandatheerthavarada et N. G. Avadhani. 2003. «Phosphorylation enhances mitochondrial targeting of GSTA4-4 through increased affinity for binding to cytoplasmic Hsp70». *J Biol Chem.* vol. 278, no 21, p. 18960-18970. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12646569>.
- Rogers, S., M. L. Macheda, S. E. Docherty, M. D. Carty, M. A. Henderson, W. C. Soeller, E. M. Gibbs, D. E. James et J. D. Best. 2002. «Identification of a novel glucose transporter-like protein-GLUT-12». *Am J Physiol Endocrinol Metab*. vol. 282, no 3, p. E733-738. En ligne.

 kitp://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11832379.
- Rohdich, F., et B. Kadenbach. 1993. «Tissue-specific regulation of cytochrome c oxidase efficiency by nucleotides». *Biochemistry*. vol. 32, no 33, p. 8499-8503. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8395207>.
- Rosenbloom, A. L., et J. H. Silverstein. 1996. «Connective tissue and joint disease in diabetes mellitus». *Endocrinol Metab Clin North Am.* vol. 25, no 2, p. 473-483. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list uids=8799711>.
- Sadek, H. A., K. M. Humphries, P. A. Szweda et L. I. Szweda. 2002. «Selective inactivation of redox-sensitive mitochondrial enzymes during cardiac reperfusion». *Arch Biochem Biophys.* vol. 406, no 2, p. 222-228. En ligne.

- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12361710>.
- Salganik, R. I., I. G. Shabalina, N. A. Solovyova, N. G. Kolosova, V. N. Solovyov et A. R. Kolpakov. 1994. «Impairment of respiratory functions in mitochondria of rats with an inherited hyperproduction of free radicals». *Biochem Biophys Res Commun.* vol. 205, no 1, p. 180-185. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7999021.
- Salvemini, F., A. Franze, A. Iervolino, S. Filosa, S. Salzano et M. V. Ursini. 1999.
 «Enhanced glutathione levels and oxidoresistance mediated by increased glucose-6-phosphate dehydrogenase expression». *J Biol Chem.* vol. 274, no 5, p. 2750-2757.
 En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9915806.
- Sandell, L. J., et T. Aigner. 2001. «Articular cartilage and changes in arthritis. An introduction: cell biology of osteoarthritis». *Arthritis Res.* vol. 3, no 2, p. 107-113. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11178118>.
- Sastre, J., F. V. Pallardo et J. Vina. 2003. «The role of mitochondrial oxidative stress in aging». Free Radic Biol Med. vol. 35, no 1, p. 1-8. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12826250>.
- Sazanov, L. A., et J. B. Jackson. 1994. «Proton-translocating transhydrogenase and NAD-and NADP-linked isocitrate dehydrogenases operate in a substrate cycle which contributes to fine regulation of the tricarboxylic acid cycle activity in mitochondria». *FEBS Lett.* vol. 344, no 2-3, p. 109-116. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8187868 >.
- Schumacher, B. L., C. E. Hughes, K. E. Kuettner, B. Caterson et M. B. Aydelotte. 1999.
 «Immunodetection and partial cDNA sequence of the proteoglycan, superficial zone protein, synthesized by cells lining synovial joints». *J Orthop Res.* vol. 17, no 1, p. 110-120. En ligne.
 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10073655.
- Sciamanna, M. A., et C. P. Lee. 1993. «Ischemia/reperfusion-induced injury of forebrain mitochondria and protection by ascorbate». *Arch Biochem Biophys.* vol. 305, no 2, p. 215-224. En ligne.

- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8373158.
- Scott, M. D., L. Zuo, B. H. Lubin et D. T. Chiu. 1991. «NADPH, not glutathione, status modulates oxidant sensitivity in normal and glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient erythrocytes». *Blood.* vol. 77, no 9, p. 2059-2064. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2018843>.
- Sedlak, E., et N. C. Robinson. 1999. «Phospholipase A(2) digestion of cardiolipin bound to bovine cytochrome c oxidase alters both activity and quaternary structure». *Biochemistry*. vol. 38, no 45, p. 14966-14972. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10555978>.
- Shapiro, I. M., T. Tokuoka et S. F. Silverton. 1991. *Energy metabolism in cartilage*. Coll. «Cartilage: Molecular Aspects». Boca Raton, FL: CRC Press, 97-130 p.
- Shi, Q., F. Vaillancourt, V. Cote, H. Fahmi, P. Lavigne, H. Afif, J. A. Di Battista, J. C. Fernandes et M. Benderdour. 2006. «Alterations of metabolic activity in human osteoarthritic osteoblasts by lipid peroxidation end product 4-hydroxynonenal».

 **Arthritis Res Ther. vol. 8, no 6, p. R159. En ligne.

 **http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt = Citation&list_uids=17042956 >.
- Shigenaga, M. K., T. M. Hagen et B. N. Ames. 1994. «Oxidative damage and mitochondrial decay in aging». *Proc Natl Acad Sci U S A*. vol. 91, no 23, p. 10771-10778. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7971961>.
- Shikhman, A. R., D. C. Brinson et M. Lotz. 2000. «Profile of glycosaminoglycan-degrading glycosidases and glycoside sulfatases secreted by human articular chondrocytes in homeostasis and inflammation». *Arthritis Rheum.* vol. 43, no 6, p. 1307-1314. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10857789.
- Shikhman, A. R., D. C. Brinson et M. K. Lotz. 2004. «Distinct pathways regulate facilitated glucose transport in human articular chondrocytes during anabolic and catabolic responses». *Am J Physiol Endocrinol Metab*. vol. 286, no 6, p. E980-985. En ligne.
 - http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=14749204.

- Shikhman, A. R., D. C. Brinson, J. Valbracht et M. K. Lotz. 2001. «Cytokine regulation of facilitated glucose transport in human articular chondrocytes». *J Immunol*. vol. 167, no 12, p. 7001-7008. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11739520.
- Shikhman, A. R., K. Kuhn, N. Alaaeddine et M. Lotz. 2001. «N-acetylglucosamine prevents IL-1 beta-mediated activation of human chondrocytes». *J Immunol*. vol. 166, no 8, p. 5155-5160. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11290798>.
- Siems, W. G., S. J. Hapner et F. J. van Kuijk. 1996. «4-hydroxynonenal inhibits Na(+)-K(+)-ATPase». Free Radic Biol Med. vol. 20, no 2, p. 215-223. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8746442>.
- Siems, W. G., H. Zollner, T. Grune et H. Esterbauer. 1997. «Metabolic fate of 4-hydroxynonenal in hepatocytes: 1,4-dihydroxynonene is not the main product». *J Lipid Res.* vol. 38, no 3, p. 612-622. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9101442.
- Sies, H. 1985. Oxidative stress. Coll. «Academic Press ». London.
- Singh, N., A. K. Dhalla, C. Seneviratne et P. K. Singal. 1995. «Oxidative stress and heart failure». *Mol Cell Biochem*. vol. 147, no 1-2, p. 77-81. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7494558>.
- Singh, S. P., A. J. Janecki, S. K. Srivastava, S. Awasthi, Y. C. Awasthi, S. J. Xia et P. Zimniak. 2002. «Membrane association of glutathione S-transferase mGSTA4-4, an enzyme that metabolizes lipid peroxidation products». *J Biol Chem.* vol. 277, no 6, p. 4232-4239. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11714719.
- Singhal, S. S., S. Awasthi, S. K. Srivastava, P. Zimniak, N. H. Ansari et Y. C. Awasthi. 1995. «Novel human ocular glutathione S-transferases with high activity toward 4-hydroxynonenal». *Invest Ophthalmol Vis Sci.* vol. 36, no 1, p. 142-150. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list uids=7822141.
- Singhal, S. S., B. F. Godley, A. Chandra, U. Pandya, G. F. Jin, M. K. Saini, S. Awasthi et Y. C. Awasthi. 1999. «Induction of glutathione S-transferase hGST 5.8 is an early response to oxidative stress in RPE cells». *Invest Ophthalmol Vis Sci.* vol. 40, no

- 11, p. 2652-2659. En ligne.
- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10509662.
- Singhal, S. S., P. Zimniak, S. Awasthi, J. T. Piper, N. G. He, J. I. Teng, D. R. Petersen et Y. C. Awasthi. 1994. «Several closely related glutathione S-transferase isozymes catalyzing conjugation of 4-hydroxynonenal are differentially expressed in human tissues». *Arch Biochem Biophys.* vol. 311, no 2, p. 242-250. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8203886>.
- Singhal, S. S., P. Zimniak, R. Sharma, S. K. Srivastava, S. Awasthi et Y. C. Awasthi. 1994. «A novel glutathione S-transferase isozyme similar to GST 8-8 of rat and mGSTA4-4 (GST 5.7) of mouse is selectively expressed in human tissues». *Biochim Biophys Acta*. vol. 1204, no 2, p. 279-286. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8142470.
- Slekar, K. H., D. J. Kosman et V. C. Culotta. 1996. «The yeast copper/zinc superoxide dismutase and the pentose phosphate pathway play overlapping roles in oxidative stress protection». *J Biol Chem.* vol. 271, no 46, p. 28831-28836. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8910528>.
- Smyth, G. E., et R. F. Colman. 1991. «Cysteinyl peptides of pig heart NADP-dependent isocitrate dehydrogenase that are modified upon inactivation by N-ethylmaleimide». *J Biol Chem.* vol. 266, no 23, p. 14918-14925. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1869531>.
- Spencer, C. A., T. N. Palmer et R. M. Mason. 1990. «Intermediary metabolism in the Swarm rat chondrosarcoma chondrocyte». *Biochem J.* vol. 265, no 3, p. 911-914. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=2306225.
- Srivastava, S., A. Chandra, L. F. Wang, W. E. Seifert, Jr., B. B. DaGue, N. H. Ansari, S. K. Srivastava et A. Bhatnagar. 1998. «Metabolism of the lipid peroxidation product, 4-hydroxy-trans-2-nonenal, in isolated perfused rat heart». *J Biol Chem.* vol. 273, no 18, p. 10893-10900. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9556565>.
- Stefanovic-Racic, M., J. Stadler, H. I. Georgescu et C. H. Evans. 1994. «Nitric oxide and energy production in articular chondrocytes». *J Cell Physiol*. vol. 159, no 2, p. 274-280. En ligne.

- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8163567.
- Stockwell, R. A., et G. Meachin. 1979. *The Chondrocytes*, Ed 2. Coll. «Adult Articular Cartilage». Tunbridge Wells United Kingdom: Pitman Medical 69-144 p.
- Studer, R., D. Jaffurs, M. Stefanovic-Racic, P. D. Robbins et C. H. Evans. 1999. «Nitric oxide in osteoarthritis». *Osteoarthritis Cartilage*. vol. 7, no 4, p. 377-379. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10419772>.
- Sun, D., et D. D. Gilboe. 1994. «Ischemia-induced changes in cerebral mitochondrial free fatty acids, phospholipids, and respiration in the rat». *J Neurochem*. vol. 62, no 5, p. 1921-1928. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8158140.
- Szweda, L. I., K. Uchida, L. Tsai et E. R. Stadtman. 1993. «Inactivation of glucose-6-phosphate dehydrogenase by 4-hydroxy-2-nonenal. Selective modification of an active-site lysine». *J Biol Chem.* vol. 268, no 5, p. 3342-3347. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8429010>.
- Taskiran, D., M. Stefanovic-Racic, H. Georgescu et C. Evans. 1994. «Nitric oxide mediates suppression of cartilage proteoglycan synthesis by interleukin-1». *Biochem Biophys Res Commun.* vol. 200, no 1, p. 142-148. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7513156>.
- Tian, W. N., L. D. Braunstein, K. Apse, J. Pang, M. Rose, X. Tian et R. C. Stanton. 1999.
 «Importance of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in cell death». *Am J Physiol*. vol. 276, no 5 Pt 1, p. C1121-1131. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10329961>.
- Tjalkens, R. B., S. W. Luckey, D. J. Kroll et D. R. Petersen. 1998. «Alpha,beta-unsaturated aldehydes increase glutathione S-transferase mRNA and protein: correlation with activation of the antioxidant response element». *Arch Biochem Biophys.* vol. 359, no 1, p. 42-50. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9799558>.
- Tomita, M., E. F. Sato, M. Nishikawa, Y. Yamano et M. Inoue. 2001. «Nitric oxide regulates mitochondrial respiration and functions of articular chondrocytes». *Arthritis Rheum.* vol. 44, no 1, p. 96-104. En ligne.

- http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt = Citation&list uids=11212181 >.
- Tsukamoto, H., R. Rippe, O. Niemela et M. Lin. 1995. «Roles of oxidative stress in activation of Kupffer and Ito cells in liver fibrogenesis». *J Gastroenterol Hepatol*. vol. 10 Suppl 1, p. S50-53. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8589343.
- Tsukihara, T., H. Aoyama, E. Yamashita, T. Tomizaki, H. Yamaguchi, K. Shinzawa-Itoh, R. Nakashima, R. Yaono et S. Yoshikawa. 1996. «The whole structure of the 13-subunit oxidized cytochrome c oxidase at 2.8 A». *Science*. vol. 272, no 5265, p. 1136-1144. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8638158>.
- Tsuru, M., H. Katagiri, T. Asano, T. Yamada, S. Ohno, T. Ogihara et Y. Oka. 2002. «Role of PKC isoforms in glucose transport in 3T3-L1 adipocytes: insignificance of atypical PKC». *Am J Physiol Endocrinol Metab.* vol. 283, no 2, p. E338-345. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12110540>.
- Uchida, K. 2000. «Role of reactive aldehyde in cardiovascular diseases». Free Radic Biol Med. vol. 28, no 12, p. 1685-1696. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10946210>.
- Uchida, K. 2003. «4-Hydroxy-2-nonenal: a product and mediator of oxidative stress». *Prog Lipid Res.* vol. 42, no 4, p. 318-343. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12689622>.
- Uchida, K., M. Shiraishi, Y. Naito, Y. Torii, Y. Nakamura et T. Osawa. 1999. «Activation of stress signaling pathways by the end product of lipid peroxidation. 4-hydroxy-2-nonenal is a potential inducer of intracellular peroxide production». *J Biol Chem.* vol. 274, no 4, p. 2234-2242. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9890986>.
- Uchida, K., et E. R. Stadtman. 1992. «Selective cleavage of thioether linkage in proteins modified with 4-hydroxynonenal». *Proc Natl Acad Sci U S A*. vol. 89, no 12, p. 5611-5615. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list uids=1608970.

- Uchida, K., et E. R. Stadtman. 1993. «Covalent attachment of 4-hydroxynonenal to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. A possible involvement of intra- and intermolecular cross-linking reaction». *J Biol Chem.* vol. 268, no 9, p. 6388-6393. En ligne.
 - http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8454610>.
- Uchida, K., L. I. Szweda, H. Z. Chae et E. R. Stadtman. 1993. «Immunochemical detection of 4-hydroxynonenal protein adducts in oxidized hepatocytes». *Proc Natl Acad Sci U S A*. vol. 90, no 18, p. 8742-8746. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8378358>.
- Ullrich, O., T. Grune, W. Henke, H. Esterbauer et W. G. Siems. 1994. «Identification of metabolic pathways of the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal by mitochondria isolated from rat kidney cortex». *FEBS Lett.* vol. 352, no 1, p. 84-86. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7925950>.
- Ursini, M. V., A. Parrella, G. Rosa, S. Salzano et G. Martini. 1997. «Enhanced expression of glucose-6-phosphate dehydrogenase in human cells sustaining oxidative stress». Biochem J. vol. 323 (Pt 3), p. 801-806. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9169615>.
- Vaillancourt, F., B. Morquette, Q. Shi, H. Fahmi, P. Lavigne, J. A. Di Battista, J. C. Fernandes et M. Benderdour. 2006. «Differential regulation of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase by 4-hydroxynonenal in human osteoarthritic chondrocytes through ATF-2/CREB-1 transactivation and concomitant inhibition of NF-kappaB signaling cascade». *J Cell Biochem*. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17031850.
- van Bladeren, P. J. 2000. «Glutathione conjugation as a bioactivation reaction». *Chem Biol Interact*. vol. 129, no 1-2, p. 61-76. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11154735>.
- van de Loo, F. A., L. A. Joosten, P. L. van Lent, O. J. Arntz et W. B. van den Berg. 1995. «Role of interleukin-1, tumor necrosis factor alpha, and interleukin-6 in cartilage proteoglycan metabolism and destruction. Effect of in situ blocking in murine antigen- and zymosan-induced arthritis». *Arthritis Rheum.* vol. 38, no 2, p. 164-172. En ligne.
 - http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7848306>.

- Van den Berg, W. B., P. M. Van der Kraan, A. Scharstuhl et H. M. Van Beuningen. 2001. «Growth factors and cartilage repair». *Clin Orthop*. vol. 391, no Suppl, p. S244–S250.
- van Jaarsveld, H., J. M. Kuyl, D. W. Alberts et M. N. Wiid. 1994. «Antioxidant supplementation partially protects against myocardial mitochondrial ischemia/reperfusion injury, but ascorbate in the perfusate prevented the beneficial effect». Res Commun Mol Pathol Pharmacol. vol. 85, no 1, p. 33-44. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7953193>.
- Vander Heiden, M. G., N. S. Chandel, X. X. Li, P. T. Schumacker, M. Colombini et C. B. Thompson. 2000. «Outer mitochondrial membrane permeability can regulate coupled respiration and cell survival». *Proc Natl Acad Sci U S A*. vol. 97, no 9, p. 4666-4671. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10781072.
- Vander Jagt, D. L., L. A. Hunsaker, T. J. Vander Jagt, M. S. Gomez, D. M. Gonzales, L. M. Deck et R. E. Royer. 1997. «Inactivation of glutathione reductase by 4-hydroxynonenal and other endogenous aldehydes». *Biochem Pharmacol*. vol. 53, no 8, p. 1133-1140. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=9175718>.
- Vayssiere, J. L., P. X. Petit, Y. Risler et B. Mignotte. 1994. «Commitment to apoptosis is associated with changes in mitochondrial biogenesis and activity in cell lines conditionally immortalized with simian virus 40». *Proc Natl Acad Sci U S A*. vol. 91, no 24, p. 11752-11756. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7972136>.
- Veech, R. L., L. V. Eggleston et H. A. Krebs. 1969. «The redox state of free nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate in the cytoplasm of rat liver». *Biochem J.* vol. 115, no 4, p. 609-619. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=4391039>.
- Veitch, K., A. Hombroeckx, D. Caucheteux, H. Pouleur et L. Hue. 1992. «Global ischaemia induces a biphasic response of the mitochondrial respiratory chain. Anoxic preperfusion protects against ischaemic damage». *Biochem J.* vol. 281 (Pt 3), p. 709-715. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1346958.

- Venn, M. F. 1978. «Variation of chemical composition with age in human femoral head cartilage». *Ann Rheum Dis.* vol. 37, no 2, p. 168-174. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=148244.
- Vincenti, M. P., et C. E. Brinckerhoff. 2002. «Transcriptional regulation of collagenase (MMP-1, MMP-13) genes in arthritis: integration of complex signaling pathways for the recruitment of gene-specific transcription factors». *Arthritis Res.* vol. 4, no 3, p. 157-164. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12010565>.
- Vlassara, H., R. Bucala et L. Striker. 1994. «Pathogenic effects of advanced glycosylation: biochemical, biologic, and clinical implications for diabetes and aging». *Lab Invest*. vol. 70, no 2, p. 138-151. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8139257.
- Voet, D., et G. Voet. 1998. Biochimie. Y. Gaudemer, 2: John Wiley & Sons, Inc., 1361 p.
- Vogel, R., H. Wiesinger, B. Hamprecht et R. Dringen. 1999. «The regeneration of reduced glutathione in rat forebrain mitochondria identifies metabolic pathways providing the NADPH required». *Neurosci Lett.* vol. 275, no 2, p. 97-100. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10568508>.
- Wallace, D. C. 2005. «A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine». *Annu Rev Genet*. vol. 39, p. 359-407. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16285865>.
- Wang, J., J. Zhou et C. A. Bondy. 1999. «Igf1 promotes longitudinal bone growth by insulin-like actions augmenting chondrocyte hypertrophy». *Faseb J.* vol. 13, no 14, p. 1985-1990. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=10544181.
- Warman, M. L. 2000. «Human genetic insights into skeletal development, growth, and homeostasis». *Clin Orthop Relat Res*, no 379 Suppl, p. S40-54. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11039750.
- Wheater, P. R., B. Young et J. W. Heath. 2001. *Histologie fonctionnelle* Trad. de: *Français*. P. Validire et P Validire-Charpy, 4e. Paris: Harcourt Publishers Limited 2000, 413 p.

- Wikstrom, M., K. Krab et M. Saraste. 1981. «Cytochrome oxidase: a synthesis». *In : Academic Press, New York.*
- Yang, E. S., C. Richter, J. S. Chun, T. L. Huh, S. S. Kang et J. W. Park. 2002. «Inactivation of NADP(+)-dependent isocitrate dehydrogenase by nitric oxide». *Free Radic Biol Med.* vol. 33, no 7, p. 927-937. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12361803>.
- Yang, J. H., E. S. Yang et J. W. Park. 2004. «Inactivation of NADP+-dependent isocitrate dehydrogenase by lipid peroxidation products». *Free Radic Res.* vol. 38, no 3, p. 241-249. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15129732.
- Yang, L., H. Luo, P. Vinay et J. Wu. 1996. «Molecular cloning of the cDNA of mouse mitochondrial NADP-dependent isocitrate dehydrogenase and the expression of the gene during lymphocyte activation». *J Cell Biochem.* vol. 60, no 3, p. 400-410. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8867815>.
- Yang, Y., J. Z. Cheng, S. S. Singhal, M. Saini, U. Pandya, S. Awasthi et Y. C. Awasthi. 2001. «Role of glutathione S-transferases in protection against lipid peroxidation. Overexpression of hGSTA2-2 in K562 cells protects against hydrogen peroxide-induced apoptosis and inhibits JNK and caspase 3 activation». *J Biol Chem.* vol. 276, no 22, p. 19220-19230. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11279091>.
- Yasuhara, R., Y. Miyamoto, T. Akaike, T. Akuta, M. Nakamura, M. Takami, N. Morimura, K. Yasu et R. Kamijo. 2005. «Interleukin-1beta induces death in chondrocyte-like ATDC5 cells through mitochondrial dysfunction and energy depletion in a reactive nitrogen and oxygen species-dependent manner». *Biochem J.* vol. 389, no Pt 2, p. 315-323. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15784009>.
- Yoshihara, T., T. Hamamoto, R. Munakata, R. Tajiri, M. Ohsumi et S. Yokota. 2001. «Localization of cytosolic NADP-dependent isocitrate dehydrogenase in the peroxisomes of rat liver cells: biochemical and immunocytochemical studies». *J Histochem Cytochem*. vol. 49, no 9, p. 1123-1131. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11511681.

- Yu, B. P. 1996. «Aging and oxidative stress: modulation by dietary restriction». *Free Radic Biol Med.* vol. 21, no 5, p. 651-668. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=8891668>.
- Zamzami, N., P. Marchetti, M. Castedo, C. Zanin, J. L. Vayssiere, P. X. Petit et G. Kroemer. 1995. «Reduction in mitochondrial potential constitutes an early irreversible step of programmed lymphocyte death in vivo». *J Exp Med.* vol. 181, no 5, p. 1661-1672. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7722446>.
- Zimniak, P., M. A. Eckles, M. Saxena et Y. C. Awasthi. 1992. «A subgroup of class alpha glutathione S-transferases. Cloning of cDNA for mouse lung glutathione S-transferase GST 5.7». *FEBS Lett.* vol. 313, no 2, p. 173-176. En ligne. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=1426286>.
- Zimniak, P., S. S. Singhal, S. K. Srivastava, S. Awasthi, R. Sharma, J. B. Hayden et Y. C. Awasthi. 1994. «Estimation of genomic complexity, heterologous expression, and enzymatic characterization of mouse glutathione S-transferase mGSTA4-4 (GST 5.7)». *J Biol Chem.* vol. 269, no 2, p. 992-1000. En ligne.

 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7904605>.