

Молекулярный анализ патологических изменений гиалинового хряща при остеоартрите и современные подходы к его диагностике

А.Л. Торгомян, Д.Н. Худавердян

*Кафедра физиологии ЕГМУ им. М. Гераци
0025, Ереван, ул. Корюна, 2*

Ключевые слова: остеоартрит, гиалиновый хрящ, хондроцит, коллаген

Остеоартрит является ведущей причиной инвалидности населения в возрасте 60 лет и выше. Предполагается, что у 80% населения к возрасту 65 лет обнаруживаются радиографические признаки остеоартрита, в то время как лишь у 60% имеются симптомы данной патологии [22, 25].

Остеоартрит (дегенеративный артрит) – ряд заболеваний сопровождающихся дегенерацией суставов, поражением суставного хряща и субхондральной костной ткани. Клиническими проявлениями остеоартрита являются суставные боли, нарушения подвижности, деформация суставов. При этом в основе данного патогенеза могут быть такие факторы, как наследственность, метаболические и механические нарушения, приводящие к поражению суставного хряща.

Как известно, суставные поверхности костей покрыты слоем гиалинового хряща, который обеспечивает нормальное функционирование суставов. Гиалиновая хрящевая ткань находится также в местах прикрепления ребер к грудины, в воздухоносных путях (гортань, трахея, бронхи) [6].

Хрящевые ткани состоят из клеток и межклеточного вещества. Клетки хрящевой ткани – хондробласты и хондроциты. В цитоплазме этих клеток хорошо развита гранулярная эндоплазматическая сеть. Эти клетки синтезируют межклеточное вещество хрящевой ткани, которое не содержит кровеносных сосудов. По периферии хряща находятся хондробласты, молодые уплощенные хрящевые клетки, способные к пролиферации и синтезу межклеточного вещества хряща. В процессе развития хряща они превращаются в хондроциты. Хондроциты имеют, в основном, овальную форму и располагаются изогенными группами в полостях матрикса. Межклеточное вещество является на вид гомогенным, но на самом деле оно состоит из коллагеновых волокон и основного аморфного вещества. Кол-

лагеновые волокна, образованные коллагеном II типа, не видны, потому что показатель их преломления в данном случае такой же, как у основного аморфного вещества. В межклеточном веществе нет кровеносных сосудов, питание происходит диффузно из сосудов волокнистого слоя надхрящницы. Матрикс содержит много воды, но она находится в связанном состоянии, т.е. структурирована, а также богат протеогликанами, в частности агреканом.

Повреждение хрящевой ткани при остеоартрите приводит к обнажению субхондральной кости и компенсаторному росту костной ткани [47]. При этом пациенты страдают от сильных болей при нагрузке на больной сустав. Ограничение движения в пораженном суставе приводит к атрофии региональных мышц и ослаблению связок [9]. При этом медленное прогрессирование заболевания и продолжительный бессимптомный период создают определенные сложности, связанные с ранней диагностикой остеоартрита. Так как единственным диагностическим методом в настоящее время является рентгенография, выявляющая уже глубокие поражения хрящевой ткани, то для быстрой и эффективной ранней диагностики остеоартрита возникает необходимость идентификации специфических биомаркеров, что значительно повысило бы эффективность консервативного фармакологического лечения данной патологии [31].

До недавнего прошлого было принято считать, что гиалиновый хрящ не способен восстанавливать межклеточный матрикс, следовательно, дегенерация матрикса развивалась пассивно с течением времени как результат снижения процесса диффузии питательных веществ из надхрящницы [45]. Еще недавно остеоартрит рассматривался как неизбежное следствие старения хряща. Однако исследования последних лет, проведенные Floman et al. [15] с использованием радиопомеченного (радиоактивного) пролина на животной модели, а также Lippiello et al. [33], обнаружили, что при остеоартрите человеческий хрящ активно синтезирует коллаген. Ainger et al. продемонстрировали, что у людей, даже в момент тотальной резекции хряща, клетки в пораженном остеоартритом участке активно старались восстановить поврежденный матрикс [2]. Почти в тот же промежуток времени были обнаружены ферменты, которые могли разрушить коллаген и агрекан. Так, одними из первых были описаны матриксные металлопротеиназы (MMPs), MMP-13 – фермент, изначально разрушающий II тип коллагена [38]. Агрекан может быть поврежден MMPs [32], однако в последнее время принято считать, что выделяются специальные агреканразрушающие ферменты ADAMTS-4 и ADAMTS-5, которые ответственны за начальные стадии деградации агрекана [1, 3]. В частности у мышей, не вырабатывающих ADAMTS-5, после травмы дегенерация хряща не развивается [21,29].

Вышеописанные исследования отмечают активную роль хондроцитов в процессах дегенерации и, соответственно, было высказано предпо-

ложение, что остеоартрит развивается в результате механической (травма) или генетической (мутация матриксной молекулы) стимуляции хондробластов, вследствие чего клетки стараются удалить поврежденный матрикс [17]. При этом зачастую выделяющиеся в результате дегенерации хряща фрагменты молекул фибронектина [24] или связывающих белков [10] стимулируют клетки, что приводит к развитию патологического кольца, с преобладанием катаболических процессов над анаболическими и быстрой дегенерации хрящевой ткани [44, 45].

Несмотря на многочисленные исследования механизмы развития патологических процессов при остеоартрите пока до конца не выяснены. Так, Xu et al. [52] выдвигают гипотезу, что стимуляция специфического коллагенразрушающего фермента MMP-13 самим коллагеном осуществляется через DDR-2 рецептор и может являться начальным этапом определения порога развития необратимых дегенеративных процессов при остеоартрите мышей и человека. В предыдущих исследованиях та же группа ученых [26] показала, что количество MMP-13 и DDR-2 повышается у генетически моделированных мышей. Так, раннее начало остеоартрита наблюдалось у Col9a1^{-/-} мышей с недостаточностью $\alpha 1$ звена коллагена IX и мышей семейства Col11a1^{cho/+} с недостаточностью $\alpha 1$ звена коллагена XI, животные второй группы были предрасположены также к хондродисплазии (cho/+). В дополнение к вышесказанному они указывают, что активация DDR-2 рецепторов через интактный коллаген приводит к повышенной экспрессии MMP-13 в хондроцитах *in vitro* [53]. То же наблюдается и при развитии остеоартрита у человека [52]. Таким образом, было высказано предположение, что дегенерация коллагена начинается стимуляцией DDR-2 рецепторов, приводящей к фатальному смещению метаболизма хондроцитов в сторону катаболизма.

Так почему же коллаген активирует DDR при остеоартрите, чего не происходит в здоровом хряще? Объяснить данное явление можно строением нормального хряща. В здоровом гиалиновом хряще DDR рецептор хондроцитов не обнаруживает коллагеновые фибриллы, поскольку клетки окружены протеогликанами. При остеоартрите, согласно теории Xu et al., удаление протеогликанов обнажает коллагеновые волокна, которые связываются с DDR-2 рецепторами, что приводит к увеличению экспрессии как самих DDR-2 рецепторов, так и MMP-13. В исследованиях генетически моделированных мышей [26, 53] было выявлено, что истощение протеогликанов было вызвано повышением количества DDR и MMP-13. В дальнейших исследованиях индуцированного хирургическим путем остеоартрита, было выявлено, что на 4-й неделе после операции, когда разрушение протеогликанов было очевидным, количество DDR и MMP-13 было значительно повышенным. Данная гипотеза подтверждается клиническими исследованиями, выявившими, что разрушение протеогликанов предшествует деградации II типа коллагена в суставном хряще [13,

35]. Согласно другим исследованиям, агрекан предотвращает разрушение коллагена, блокируя доступ цитокинов и протеаз из синовиальной жидкости [43]. Таким образом, потеря агрекана может явиться иницирующим фактором развития остеоартрита [44, 45].

В ранней стадии остеоартрита рентгенографические данные выявляют нормальное строение суставов, патология проявляется только повышением уровня продуктов распада хряща или маркеров воспаления. При этом в качестве биохимического маркера заболевания может быть использовано вещество, дающее информацию о начале дегенеративных процессов и позволяющее определить стадию заболевания. Идеальные биомаркеры должны быть специфичны для суставов и выявляться в бессимптомный период заболевания.

Таким образом, основной целью исследования биомаркеров является диагностика ранней стадии остеоартрита и предупреждение развития дегенеративных изменений в конечной стадии заболевания. С данной целью в настоящее время используется несколько биомаркеров, однако они имеют различный коэффициент эффективности. Для акселерации развития исследований биомаркеров со стороны Международной Ассоциации Исследования Остеоартрита (OARSI – Osteoarthritis Research Society International) была разработана классификация биомаркеров, представленная в таблице [30, 31].

Таблица

Список биомаркеров, образующихся из хрящевой, костной тканей и синовиальной мембраны, и степень эффективности их применения с целью диагностики остеоартрита

Биохимический маркер	Источник	Ткань	Использование с целью диагностики
PIINP, PIIANP, NPII	синтез коллагена II типа	хрящевая	+
PIICP (CPII)	синтез коллагена II типа	хрящевая	+
CTX-II	разрушение коллагена II типа	хрящевая, костная	++++
THINE, Col 2-1, Col 2-1NO ₂	разрушение коллагена II типа	хрящевая	+
ARGS	разрушение агрекана	хрящевая	++
AGG1 (G1-1H11), AGG2 (6D6-G2), CS846	разрушение агрекана	хрящевая	+

Кератан сульфат	разрушение агрекана	хрящевая	++
COMP	разрушение COMP	хрящевая, мениски, синовиальная мембрана	+
NTX-1, CTX-1, PINP	резорбция костной ткани	костная	++
Остеокальцин	синтез костной ткани	костная	++
HA, Glc-Gal-PYD	повреждение синовиальной мембраны	синовиальная мембрана	++
MMP-3, MMP-13	повреждение сустава	хрящевая, синовиальная мембрана	+++

Биомаркеры, образующиеся в результате метаболизма коллагена II типа

Коллаген II типа (Col II) преобладает в межклеточном веществе гиалинового хряща. Col II синтезируется в форме проколлагена с аминсодержащей (N)-терминальной группой (PIINP, PIANP) и карбоксильной (C)-терминальной группой (PIICP или CPII), которые в дальнейшем отщепляются при образовании фибриллярной формы коллагена. Следовательно, является целесообразным использование иммуноферментного анализа с целью определения синтетической активности коллагена II типа, как признака патологического метаболизма хряща. Так, изменения в содержании PIINP в синовиальной жидкости соответствовали радиографическим признакам остеоартрита коленного сустава [44, 49]. Использование иммуногистохимического метода для выявления пептидов, образованных из Col II N-пропептида, демонстрирует повышение уровня пропептида в моче и плазме крови пациентов, страдающих остеоартритом [40]. Однако вышеупомянутые маркеры не нашли применения с диагностической целью.

В настоящее время более широкое применение нашли маркеры, выявляющие разрушение Col II. Среди них C-терминальная группа телопептида Col II (CTX-II), которая определяется иммуноферментным анализом в моче пациентов, страдающих остеоартритом, и является наиболее специфичным и многообещающим биомаркером для мониторинга остеоартрита [7, 8]. Данный маркер нашел применение при диагностике остеоартрита и ревматоидного артрита, так как является высокочувствительным детектором структурных изменений хряща, увеличение содержания которого сочетается с синовитом и снижением минерализации

костной ткани, что характерно для воспалительных артритов [16]. Однако в ряде случаев у пациентов, страдающих остеоартритом и ревматоидным артритом, выявлялось нормальное содержание СТХ-II, более того в ряде случаев СТХ-II обнаруживался в кальцифицированном участке кости, под суставным хрящем [4], что подразумевает образование СТХ-II не только в хрящевом матриксе и ставит под вопрос сам источник его образования. В практике изменения в составе СТХ-II могут быть использованы для диагностики остеоартрита в сочетании с другими биомаркерами, в частности сочетание маркеров синтеза (PIIANP) и распада (СТХ-II) коллагена II типа. Так, в работах Garnero et al. было показано, что у пациентов, страдающих остеоартритом колена и имеющих наиболее высокий уровень СТХ-II (деградация коллагена) и низкий уровень PIIANP (синтез коллагена), выявлялась наиболее быстрая прогрессия процессов дегенерации сустава [18]. Следовательно, можно предположить, что использование комбинации двух данных биомаркеров позволит выявить пациентов с высоким риском быстрой прогрессии заболевания. СТХ-II был также использован в исследованиях пациентов, получавших кальцитонин [34], при этом было также определено количество металлопротеиназ (MMP-3, MMP-13), ферментов разрушающих коллаген. Было выявлено значительное снижение металлопротеиназ при лечении пациентов кальцитонином.

Кроме вышеназванных биомаркеров, были также исследованы изменения в содержании других продуктов распада коллагена: TIINE, Coll 2-1 и Coll 2-1NO₂ в моче и плазме пациентов, с применением иммуноферментного анализа [11, 12, 39]. Эти, сравнительно более новые биомаркеры, не нашли широкого применения для мониторинга остеоартрита.

Биомаркеры, образованные из агрекана

Учитывая тот факт, что деградация протеогликанов является признаком раннего остеоартрита у животных моделей, продукты разрушения агрекана могут быть информативными для ранней диагностики остеоартрита. В частности, в результате разрушения агрекана агреканазой выделяется ARGS неопитоп [46], который возможно выявить иммуноферментным анализом с использованием BC3-C2 антител в плазме крови, синовиальной жидкости и моче пациентов, страдающих остеоартритом [50]. При этом продукты распада агрекана AGG1 (G1-1H11) и AGG2 (6D6- G2) были использованы в комбинации с СТХ-II как индикатор дегенеративных изменений хряща при остеоартрите коленного сустава [14]. Также было выявлено соответствие изменений AGG1 и AGG2 с содержанием адипонектина в синовиальной жидкости у пациенток с остеоартритом, хотя связь с активностью СТХ-II при этом отсутствовала [23]. Изменения количества CS846 (производное хондроитин сульфата,

бокового звена агрекана) в плазме крови свидетельствуют о синтезе и метаболизме агрекана. Данный маркер ассоциировался с сужением суставной полости, хотя фармакологического применения он не нашел [37]. Однако значительное снижение количества кератан сульфата (бокового звена агрекана) в плазме крови пациентов с остеоартритом коленного сустава, получивших лечение хондроитин сульфатом, предполагает использование кератан сульфата при мониторинге остеоартрита и положительное воздействие хондроитин сульфата при лечении коленного остеоартрита [49, 51].

Биомаркеры из костной ткани и синовиальной мембраны

Биомаркеры, образующиеся из костной ткани, не нашли широкого применения в качестве селективных индикаторов остеоартрита, а изменения в их составе отмечаются и при других патологиях костной ткани (остеопороз, остеонекроз) [19, 36]. Однако костные маркеры могут быть эффективно использованы в комбинации с маркерами метаболизма хряща для определения остеоартрита и с целью выявления степени эффективности его лечения. Так, маркер разрушения кости N-телопептид I типа коллагена (NTX-1) в комбинации с uCTX-II был использован у пациентов с первичным остеоартритом колена для определения эффективности лечения ризедронатом. При этом было выявлено значительное снижение количества uCTX-II и uNTX-I [5, 48]. Большинство исследователей использовали комбинации биомаркеров, что дало возможность дифференцировать различные стадии остеоартрита. Так, исследование связи уровня биомаркеров с ранним выявлением признаков остеоартрита, интенсивности боли и воспаления сустава, показало, что соотношение uCTX-II (в моче)/ CRP (в плазме) и уровень синовиального маркера гиалуроновой кислоты (HA) повышались с началом остеоартрита [27].

Определение гликозилированного аналога пиридинолина (Glc-Gal-PYD) в моче, отражает дегенерацию синовиальной ткани [20, 21]. Несколько биомаркеров, выделенных из синовиальной жидкости, IL-1, IL-6, IL-8, IL-11, LIF (leukemia inhibitory factor), COMP (cartilage oligomeric matrix protein), остеокальцин и OP-1 (osteogenic protein-1), были выявлены у пациентов, страдающих остеоартритом и ревматоидным артритом. Было показано, что повышение уровня IL-11, LIF и OP-1 указывает на более целесообразное их использование с целью мониторинга остеоартрита, в то время как IL-1, IL-6, IL-8, LIF и OP-1 активация свидетельствует о ревматоидном артрите [28].

Естественными индикаторами течения заболевания являются ферменты, разрушающие коллаген II типа и агрекан. Так, фибриллярный коллаген II типа вначале подвергается комбинированному воздействию ряда металлопротеиназ (MMP-1, -8, -13 и -14) затем разрушается MMP-2,

-3 и -9. Таким образом, выявление данных ферментов иммуноферментным анализом, может быть целесообразным для мониторинга остеоартрита [34], а снижение их количества при медикаментозном лечении свидетельствует об эффективности лечения. Вышеназванные биомаркеры были признаны индикаторами остеоартрита коленного сустава, однако в некоторых случаях они были также выявлены при остеоартрите тазового сустава. Тем не менее данные биомаркеры должны быть тщательно исследованы для однозначного утверждения их применения в качестве универсальных маркеров остеоартрита [40-42].

Таким образом, несмотря на значительный ряд исследований, посвященных изучению биомаркеров, обнаруживаемых при остеоартрите, до сих пор не был предложен стандарт для диагностики стадий, мониторинга течения и прогноза патологических изменений при данном заболевании. Анализируя вышеприведенные исследования, можно предположить, что прогрессия остеоартрита зависит от метаболических изменений хондроцитов и последующие исследования могут быть направлены на выявление генетических механизмов развития остеоартрита.

Поступила 11.05.12

Օստեոարթրիտի ժամանակ առաջացած հիալինային աճառի ախտաբանական փոփոխությունների մոլեկուլային քննությունը և տվյալ պաթոլոգիայի ժամանակակից ախտորոշիչ մեթոդները

Ա.Լ. Թորգոմյան, Դ.Ն. Խուդավերդյան

Օստեոարթրիտը արթրիտի ամենատարածված տեսակն է, և երկարատև հաշմանդամության հիմնական պատճառն է հանդիսանում: Հայտնաբերված է, որ բնակչության 80%-ը 65 տարեկան հասակում կունենա օստեոարթրիտի ռենտգենագրաֆիկ նշաններ, սակայն նրանցից միայն 60%-ի մոտ ի հայտ կգան կլինիկական ախտանիշները:

Օստեոարթրիտի վաղաժամ ախտորոշումը ռենտգենի միջոցով բավականին դժվար է, ինչը նպատակահարմար է դարձնում սպեցիֆիկ բիոմարկերների հայտնաբերումը և նրանց կիրառումը օստեոարթրիտի արագ և արդյունավետ ախտորոշման նպատակով, որպեսզի հիվանդության դեղորայքային բուժումը լինի ժամանակին: Տվյալ աշխատանքում վերլուծվում են օստեոարթրիտին բնորոշ բիոմարկերների հայտնաբերմանը նվիրված վերջին տարիներին տպագրված աշխատանքները:

Molecular analysis of hyaline cartilage pathological changes at osteoarthritis and its current diagnostic methods

A.L. Torgomyan, D.N. Khudaverdyan

Osteoarthritis (OA) is the most common form of arthritis and the leading cause of chronic disability. It is estimated that 80% of the population will have radiographic evidence of OA by age 65, although only 60% of those will show symptoms.

The difficulties associated with early OA diagnosis by exclusively radiographic techniques have propelled a need to identify specific biomarkers for rapid and effective early OA diagnosis, better patient prognosis, and for monitoring the efficacy of pharmacological interventions to the disease process. This review highlights some of the biochemical biomarkers in current use in OA, their applications and limitations.

Литература

1. Abbaszade I., Liu R.Q., Yang F., Rosenfeld S.A. et al. Cloning and characterization of ADAMTS11, an aggrecanase from the ADAMTS family. *J. Biol. Chem.*, 1999;274: 23443–50.
2. Aigner T., Dietz U., Stoss H., von der Mark K. Differential expression of collagen types I, II, III, and X in human osteophytes. *Lab. Invest.*, 1995;73:236–43.
3. Arner E.C., Pratta M.A., Trzaskos J.M., Decicco C.P., Tortorella M.D. Generation and characterization of aggrecanase: a soluble, cartilage-derived aggrecan-degrading activity. *J. Biol. Chem.*, 1999;274: 6594–601.
4. Bay-Jensen A.C., Andersen T.L., Charni-Ben Tabassi N. et al. Biochemical markers of type II collagen breakdown and synthesis are positioned at specific sites in human osteoarthritic knee cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*, 2008;16(5):615–623.
5. Bingham C.O. III, Buckland-Wright J.C., Garnero P. et al. Risedronate decreases biochemical markers of cartilage degradation but does not decrease symptoms or slow radiographic progression in patients with medial compartment osteoarthritis of the knee: results of the two-year multinational knee osteoarthritis structural arthritis study. *Arthritis Rheum.*, 2006;54(11):3494–3507.
6. Brand T., Kenneth D., Dieppe P., Radin E. Etiopathogenesis of Osteoarthritis, *Med. Clin. N. Am.*, 2008, 93: 1–24.
7. Christgau S., Garnero P., Fledelius C. et al. Collagen type II C-telopeptide fragments as an index of cartilage degradation. *Bone*, 2001;29(3):209–215.
8. Christgau S., Henrotin Y., Tanko' L.B. et al. Osteoarthritic patients with high cartilage turnover show increased responsiveness to the cartilage protecting effects of glucosamine sulphate. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 2004;22(1):36–42.
9. Conaghan, P. [Osteoarthritis. National clinical guideline for care and management in adults](http://www.nice.org.uk/nicemedia/pdf/CG059FullGuideline.pdf). <http://www.nice.org.uk/nicemedia/pdf/CG059FullGuideline.pdf>. Retrieved on 2008-04-29.
10. Dean M.F., Lee Y.W., Dastjerdi A.M., Lees P. The effect of link peptide on proteoglycan synthesis in equine articular cartilage. *Biochim. Biophys. Acta*, 2003;1622:161–8. 13.

11. *Deberg M., Labasse A., Christgau S. et al.* New serum biochemical markers (Coll 2–1 and Coll 2–1 NO2) for studying oxidative-related type II collagen network degradation in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 2005;13(3):258–265.
12. *Deberg M.A., Labasse A.H., Collette J., Seidel L., Reginster J.Y., Henrotin Y.E.* One-year increase of Coll 2–1, a new marker of type II collagen degradation, in urine is highly predictive of radiological OA progression. *Osteoarthritis Cartilage*, 2005;13(12):1059–1065.
13. *Dijkgraaf L.C., de Bont L.G., Boering G., Liem R.S.* The structure, biochemistry, and metabolism of osteoarthritic cartilage: a review of the literature. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 1995;53:1182–92.
14. *Duan Y., Hao D., Li M. et al.* Increased synovial fluid visfatin is positively linked to cartilage degradation biomarkers in osteoarthritis. *Rheumatol. Int.*, 2011; January 19 (Epub ahead of print).
15. *Floman Y., Eyre D.R., Glimcher M.J.* Induction of osteoarthrosis in the rabbit knee joint: biochemical studies on the articular cartilage. *Clin. Orthop. Relat. Res.*, 1980;147:278–86.
16. *Freeston J.E., Garnero P., Wakefield R.J., Hensor E.M., Conaghan P.G., Emery P.* Urinary type II collagen terminal peptide is associated with synovitis and predicts structural bone loss in very early inflammatory arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2011;70(2):331–333.
17. *Fukui N., Purple C., Sandell L.* Cell biology of osteoarthritis: the chondrocyte's response to injury. *Curr. Rheumatol. Rep.*, 2001;3: 496–505.
18. *Garnero P., Ayral X., Rousseau J.C. et al.* Uncoupling of type II collagen synthesis and degradation predicts progression of joint damage in patients with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum.*, 2002;46(10):2613–2624.
19. *Garnero P., Delmas P.D.* Noninvasive techniques for assessing skeletal changes in inflammatory arthritis: bone biomarkers. *Curr. Opin. Rheumatol.*, 2004;16(4):428–434
20. *Gineyts E., Garnero P., Delmas P.D.* Urinary excretion of glucosyl-galactosyl pyridinoline: a specific biochemical marker of synovium degradation. *Rheumatology (Oxford)*, 2001;40(3):315–323
21. *Glasson S.S., Askew R., Sheppard B., Carito B., Blanchet T., Ma H.L. et al.* Deletion of active ADAMTS5 prevents cartilage degradation in a murine model of osteoarthritis. *Nature*, 2005;434:644–8.
22. [Green G.A. Understanding NSAIDs: from aspirin to COX-2. Clin. Cornerstone, 2001, 3 \(5\): 50–60.](#)
23. *Hao D., Li M, Wu Z., Duan Y., Li D., Qiu G.* Synovial fluid level of adiponectin correlated with levels of aggrecan degradation markers in osteoarthritis. *Rheumatol. Int.*, 2010; May 13 (Epub ahead of print).
24. *Homandberg G.A.* Potential regulation of cartilage metabolism in osteoarthritis by fibronectin fragments. *Front. Biosci.*, 1999; 4: D713–30.
25. [Hospitalizations for Osteoarthritis Rising Sharply](#), Newswise, Retrieved on September 4, 2008.
26. *Hu K., Xu L., Cao L., Flahiff C.M., Brussiau J., Ho K. et al.* Pathogenesis of osteoarthritis-like changes in the joints of mice deficient in type IX collagen. *Arthritis Rheum.*, 2006;54:2891–900.
27. *Ishijima M., Watari T., Naito K. et al.* Relationships between biomarkers of cartilage, bone, synovial metabolism and knee pain provide insights into the origins of pain in early knee osteoarthritis. *Arthritis Res. Ther.*, 2011; 13(1):R22
28. *Kokebie R., Aggarwal R., Lidder S. et al.* The role of synovial fluid markers of catabolism and anabolism in osteoarthritis, rheumatoid arthritis and asymptomatic organ donors. *Arthritis Res. Ther.*, 2011;13(2):R501.
29. *Kraus V.B., Burnett B., Coindreau J. et al.* OARSI FDA Osteoarthritis Biomarkers Working Group. Application of biomarkers in the development of drugs intended for the treatment of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 2011; 19(5):515–542

30. Kraus V.B., Nevitt M., Sandell L.J. Summary of the OA biomarkers workshop 2009—biochemical biomarkers: biology, validation, and clinical studies. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010;18(6):742–745
31. Kraus V.B. Waiting for action on the osteoarthritis front. *Curr. Drug Targets*, 2010;11(5):518–520
32. Lee E.R., Lamplugh L., Leblond C.P., Mordier S., Magny M.C., Mort J.S. Immunolocalization of the cleavage of the aggrecan core protein at the Asn341-Phe342 bond, as an indicator of the location of the metalloproteinases active in the lysis of the rat growth plate. *Anat. Rec.*, 1998;252:117–32.
33. Lippiello L., Kaye C., Neumata T., Mankin H.J. In vitro metabolic response of articular cartilage segments to low levels of hydrostatic pressure. *Connect. Tissue Res.*, 1985;13:99–107.
34. Manicourt D.H., Azria M., Mindeholm L., Thonar E.J., Devogelaer J.P. Oral salmon calcitonin reduces Lequesne's algofunctional index scores and decreases urinary and serum levels of biomarkers of joint metabolism in knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum.*, 2006;54(10):3205–3211.
35. Mankin H.J., Brandt K.D. Biochemistry and metabolism of articular cartilage in osteoarthritis. In: Moskowitz R.W., Howell D.S., Goldberg V.M., Mankin H.J., editors. *Osteoarthritis: diagnosis and medical/surgical management*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1992, p. 109–54.
36. Marx R.E., Cillo J.E. Jr., Ulloa J.J. Oral bisphosphonate-induced osteonecrosis: risk factors, prediction of risk using serum CTX testing, prevention, and treatment. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 2007;65(12):2397–2410.
37. Mazucca S.A., Poole A.R., Brandt K.D., Katz B.P., Lane K.A., Lobanok T. Associations between joint space narrowing and molecular markers of collagen and proteoglycan turnover in patients with knee osteoarthritis. *J. Rheumatol.*, 2006;33(6): 1147–1151.
38. Mitchell P.G., Magna H.A., Reeves L.M., Lopresti-Morrow L.L., Yocum S.A., Rosner P.J. et al. Cloning, expression, and type II collagenolytic activity of matrix metalloproteinase-13 from human osteoarthritic cartilage. *J. Clin. Invest.*, 1996;97:761–8.
39. Nemirovskiy O.V., Dufield D.R., Sunyer T., Aggarwal P., Welsch D.J., Mathews W.R. Discovery and development of a type II collagen neopeptide (TIINE) biomarker for matrix metalloproteinase activity: from in vitro to in vivo. *Anal. Biochem.*, 2007;361(1):93–101.
40. Nemirovskiy O.V., Sunyer T., Aggarwal P., Abrams M., Hellio Le Graverand M.P., Mathews W.R. Discovery and development of the N-terminal procollagen type II (NP1I) biomarker: a tool for measuring collagen type II synthesis. *Osteoarthritis Cartilage*, 2008;16(12):1494–1500.
41. Pathogenesis of osteoarthritis-like changes in the joints of mice deficient in type IX collagen. *Arthritis Rheum.*, 2006;54:2891–900.
42. Patra D. & Sandell L. Evolving biomarkers in osteoarthritis. *J. Knee Surg.*, 2011; 24: 241-250.
43. Pratta M.A., Yao W., Decicco C., Tortorella M.D., Liu R.Q., Copeland R.A. et al. Aggrecan protects cartilage collagen from proteolytic cleavage. *J. Biol. Chem.*, 2003;278:45539–45.
44. Sandell L.J., Morris N., Robbins J.R., Goldring M.B. Alternatively spliced type II procollagen mRNAs define distinct populations of cells during vertebral development: differential expression of the amino-propeptide. *J. Cell. Biol.*, 1991;114(6): 1307–1319.
45. Sandell L.J. Modern molecular analysis of a traditional disease: progression in osteoarthritis. *Arthritis & Rheumatism*, 2007, Vol. 56, No. 8; 2474-2477.
46. Sandy J.D., Flannery C.R., Neame P.J., Lohmander L.S. The structure of aggrecan fragments in human synovial fluid. Evidence for the involvement in osteoarthritis of a novel proteinase which cleaves the Glu 373-Ala 374 bond of the interglobular domain. *J. Clin. Invest.*, 1992;89(5):1512–1516.
47. Siddiqui F. [Osteoarthritis](http://emedicine.medscape.com/article/1270114-overview). *Emedicine*. 2008-09-12 <http://emedicine.medscape.com/article/1270114-overview>. Retrieved on 2009-01-27.

48. *Spector T.D., Conaghan P.G., Buckland-Wright J.C. et al.* Effect of risedronate on joint structure and symptoms of knee osteoarthritis: results of the BRISK randomized, controlled trial [ISRCTN01928173]. *Arthritis Res. Ther.*, 2005;7(3): R625–R633.
49. *Sugiyama S., Itokazu M., Suzuki Y., Shimizu K.* Procollagen II C propeptide level in the synovial fluid as a predictor of radiographic progression in early knee osteoarthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2003;62(1):27–32
50. *Swearingen C.A., Carpenter J.W., Siegel R. et al.* Development of a novel clinical biomarker assay to detect and quantify aggrecanase-generated aggrecan fragments in human synovial fluid, serum and urine. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010;18(9):1150–1158.
51. *Uebelhart D., Thonar E.J., Delmas P.D., Chantaine A., Vignon E.* Effects of oral chondroitin sulfate on the progression of knee osteoarthritis: a pilot study. *Osteoarthritis Cartilage*, 1998;6(Suppl A):39–46.
52. *Xu L., Peng H., Glasson S., Lee P.L., Hu K., Ijiri K. et al.* Increased expression of the collagen receptor discoidin domain receptor 2 in articular cartilage as a key event in the pathogenesis of osteoarthritis. *Arthritis Rheum.*, 2007;56:2663–73.
53. *Xu L., Peng H., Wu D., Hu K., Goldring M.B., Olsen B.R. et al.* Activation of the discoidin domain receptor 2 induces expression of matrix metalloproteinase 13 associated with osteoarthritis in mice. *J. Biol. Chem.*, 2005;280:548–55.