

## ULOGA BIOMARKERA U OSTEOARTRITISU

### THE ROLE OF BIOMARKERS IN OSTEOARTHRITIS

Mislav Radić, Dušanka Martinović Kaliterna

Zavod za reumatologiju i kliničku imunologiju, Klinika za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu, KBC Split, Split

Adresa za dopisivanje:

**doc. dr. sc. Mislav Radić**

Zavod za reumatologiju i kliničku imunologiju

Klinika za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu

KBC Split, Spinčićeva 1, 21000 Split

e-mail: mislavradić@gmail.com

Zaprimljeno: 16. rujna 2015.

Prihvaćeno: 20. rujna 2015.

#### Sažetak

Tijekom sljedećih nekoliko desetljeća postat ćemo svjedoci starenja populacije i porasta učestalosti mišićnokoštanih bolesti koje će utjecati na troškove društva. Većinu tih bolesti, među kojima je i osteoartritis, dijagnosticiramo radiološki, ali tada su već nastale uznapredovale promjene koje je teže liječiti. Uobičajene pretrage ne pružaju dovoljno informacija o izvoru boli i obično ne koreliraju s bolesnikovim simptomima ili funkcionalnim mogućnostima. Personalizirana medicina rastuće je polje medicine koje uključuje planiranje liječenja prema bolesnikovom genomu. Važnost

razvoja bioloških markera (biomarkera) jest evidentna. Za osteoartritis biomarkeri mogu omogućiti ranu neinvazivnu procjenu mjesta i težine oštećenja tkiva i postojanje upale. S pomoću biomarkera lakše će se oblikovati terapijski ciljevi i planirati liječenje prema supkategorizaciji bolesnika, stupnju bolesti i njegovim individualnim potrebama. Članak je pregled kroz trenutno stanje u razvoju i mogućoj upotrebi biomarkera u bolesnika s osteoartritisom.

**Ključne riječi:** osteoartritis, biomarkeri, dijagnoza, prognoza

#### Abstract

In the next few decades we will witness an aging population with an increase in degenerative musculoskeletal conditions affecting the costs to society. The majority of conditions such as osteoarthritis are primarily diagnosed radiographically, by which time the disease process has often advanced and is difficult to treat. The commonly available studies provide inadequate information as to the exact pain generator, and findings often do not correlate with the patients' symptoms or functional capacity. Personalized medicine is an emerging field that involves formulating treatments based on a patient's own biology. The

importance of developing biological markers (biomarkers) is evident. In osteoarthritis, biomarkers could provide an early non-invasive method of assessing the location and severity of tissue damage and the presence of inflammation. With the help of biomarkers treatment targets could be identified and treatments created according to specific subgroups, stages, and individual needs of each patient. The present article is a review of the development of biomarker candidates in osteoarthritis.

**Keywords:** osteoarthritis, biomarkers, diagnosis, prognosis

#### Uvod

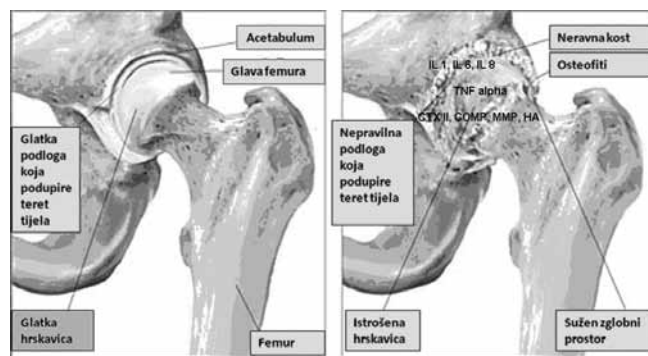
Osteoartritis (OA) kronična je bolest čitavog zgloba karakterizirana razaranjem i gubitkom zglobne hrskavice uz druge promjene zglobnih struktura, poput hipertrofije kosti (stvaranje osteofita) (1). Osnovno obilježje kliničke slike OA jest progresivna bolnost koju kretanje pogoršava ili izaziva, zatim ukočenost koja se povlači za manje od trideset minuta nakon aktivnosti te oteklina zahvaćenih zglobova. Dijagnoza se potvrđuje prije svega radiološki. Sve je više podataka da je OA upalna reumatska bolest, uz prisutnost brojnih proupalnih medijatora u osteoartritičnom zglobu kao što su interleukini (IL) i čimbenik tumorske nekroze  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Infiltracija limfocita B u sinovijalnu ovojnicu i aktivacija limfocita T potvrđene su u osteoartritisu (2, 3). Povišene razine upalnih citokina potvrđene su i u ranom i u uznapredovalom osteoartritisu, koji se proizvode u sinovijalnoj ovojnici iz aktiviranih hondrocita i osteoblasta

(4, 5). IL 1 i TNF- $\alpha$  povećavaju razine kataboličkih enzima, prostaglandina i dušikova oksida u osteoartritisu zgloba (6); nedavno objavljeno kliničko istraživanje upućuje na važnost aktiviranja sinovijalnih makrofaga u osteoartritisu (7). Upala u osteoartritičnom zglobu je barem djelomično posljedica cikličke interakcije između oštećenja hrskavice i upalnih promjena sinovijalne ovojnice. Razgradne produkte hrskavice fagocitiraju stanice sinovije, što ima za posljedicu upalu sinovije, koja zatim proizvodi niz proupalnih medijatora. Navedene promjene uzrokuju daljnje oslobađanje proteolitičkih enzima koji dovode do propadanja hrskavice (5). Dijagnoza OA trenutno se postavlja na temelju kliničke slike uz tipične radiološke promjene. Međutim, s ovim dijagnostičkim postupnikom nemoguće je utvrditi rane metaboličke promjene koje se događaju prije vidljivih strukturnih promjena vezivnog tkiva. Slijedom navedenog

nameće se potreba za utvrđivanjem molekularnih biomarkera OA. Otkriće proteinskih biomarkera koji odražavaju stanje organizma je od vitalne važnosti za praćenje bolesti. Serum, mokraća i sinovijalna tekućina idealan su izvor biomarkera koji omogućuju brz pristup dijagnozi, prognozi i predviđanju tijeka bolesti. Prema tome, proučavanje ljudskog proteoma povećalo se u posljednjih deset godina, o čemu su objavljene mnoge studije. U ovom je članku iznesen pregled proteinskih biomarkera koji su se u dosadašnjim kliničkim studijama pokazali kao potencijalni biomarkeri za osteoartritis. Na *PubMedu* su pretraženi članci za ispitivanu temu koji su objavljeni u posljednjih deset godina. Ključne riječi koje su upotrijebljene u pretraživanju bile su: osteoartritis, biomarkeri, dijagnoza i prognoza. Analizirani su originalni članci, kao i mali broj preglednih članaka, uključujući prednosti i nedostatke kliničkih studija, te su prikazane spoznaje o biomarkerima koji su se pokazali potencijalno korisnima. Jedan od najvećih izazova bio je taj što su biomarkeri često povezani s više bolesti i nisu specifični za određenu bolest.

Najobjektivnija i trenutačno najdostupnija metoda objektivne procjene OA su slikovne metode kao, primjerice, klasičan radiogram ili magnetska rezonancija (8). Nažalost, većina slikovnih pretraga koje su dostupne kliničarima imaju nedovoljnu osjetljivost u procjeni rane faze bolesti, ne daju jasnu informaciju o mjestu koje je izvor boli i često loše koreliraju s težinom kliničke slike i funkcionalnim statusom samog bolesnika (9). Specijalizirane metode kao artroskopija ili selektivne blokade živaca omogućuju puno preciznije informacije o aktivnosti bolesti. Međutim, riječ je o skupim, invazivnim metodama čija je primjena na velikom broju bolesnika nepraktična. Ova jasna ograničenja uobičajenih pretraga upozorila su na potrebu razvoja novih tehnika koje bi uzele u obzir kvantitativne i dinamične varijacije u OA.

Određivanje biomarkera za pojedinog bolesnika koncept je personalizirane medicine koji se sve više upotrebljava u liječenju zloćudnih i srčanožilnih bolesti. Izolacija biomarkera iz krvi, urina ili sinovijalne tekućine koji bi pomogli u dijagnostici i liječenju OA rastuće je područje medicine. Biološki je pokazatelj (biomarker) obilježje koje je, objektivno mjereno, pokazatelj normalnoga biološkog ili patološkog procesa i farmakološkog odgovora na terapijsku intervenciju (10). Biomarkeri koji bi se mogli koristiti u OA ubrajaju se u više različitih kategorija, od onih koji uzrokuju oštećenje tkiva, koji su rezultat oštećenja tkiva, preko kombinacije tih dviju kategorija do onih koji su povezani s boli. Idealni kandidati za biomarkere u OA su oni čija je vrijednost dokazana, reproducibilni su za sve bolesnike i imaju prediktivnu vrijednost. Nužno je potpuno istražiti mehanizme kako je njihova prisutnost ili povišena koncentracija povezana s degenerativnim/upalnim procesom u tkivima ili zglobovima. Bilo bi dobro da biomarker može dati uvid u mogući mehanizam nastanka bolesti za potrebe razvoja ciljane terapije. Biomarkeri bi trebali biti i pokazatelji određenih simptoma kao što su bol ili ukočenost. U konačnici, ti su simptomi ključni za slabiji funkcionalni status bolesnika i kvalitetu njegova života, pa bi biomarkeri mogli imati i prognostički potencijal. Iako područje istraživanja biomarkera neprekidno napreduje, trenutačno ne postoji određeni biomarker koji je validiran za svakidašnju kliničku primjenu u OA. Razvoj panela biomarkera koji predstavlja različita tkiva u različitim fazama degenerativnog/upalnog procesa je od velike važnosti. Identifikacija biomarkera iz sinovijalne tekućine je specifičnija



Slika 1. Usporedni prikaz normalnog kuka i osteoartrisa kuka uz moguće dijagnostičke biomarkere u osteoartritisu.

Figure 1 Comparison of the normal hip and hip osteoarthritis with possible diagnostic biomarkers of osteoarthritis.

za koštanomišićne bolesti kao što je OA, ali tehnički i metodološki je složenija. Slijedom navedenog biomarkeri iz seruma i mokraće puno su zanimljiviji za svakidašnju kliničku praksu. Međutim, nužno je naglasiti da na biomarkere iz seruma i mokraće mogu utjecati bolesnikove sustavne bolesti ili dugi čimbenici, što u konačnici znatno umanjuje specifičnost. Daljnji problem, odnosno izazov, pronalaženje je specifičnog biomarkera za pojedini zglob u OA, u bolesti koja zahvaća više zglobova. Dijagnostički biomarkeri trebaju potvrditi postojanje bolesti. Postavljanje dijagnoze OA prije nego što postane radiološki vidljiva je od višestruke koristi za bolesnike. U trenutku radiološke potvrde OA nastala oštećenja su već uznapredovala, što u konačnici umanjuje terapijske mogućnosti. Idealni dijagnostički biomarker treba dati uvid u stadij bolesti za pojedinog bolesnika. Takav biomarker omogućuje stratifikaciju bolesnika u podgrupe, ovisno o stadiju bolesti, te odabir najučinkovitijeg načina liječenja (Slika 1).

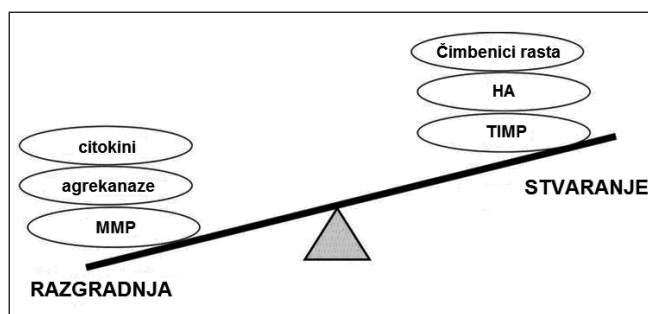
### Biomarkeri povezani s tkivima

Biomarkeri povezani s određenim tkivima imaju takav dijagnostički potencijal. Takvi se biomarkeri oslobađaju nakon oštećenja tkiva. Na primjer, ima različite tipove kolagena, proteoglikana (keratin sulfat, hijaluron, hondroitin sulfat) i integralnih proteina COMP (eng. *cartilage oligomer matrix protein*). Dijelovi navedenih spojeva oslobađaju se tijekom degenerativnih/upalnih procesa i mogu se određivati u tjelesnim tekućinama kao što su serum i mokraća. Kolagen tipa II primarno je prisutan u zglobnoj hrskavici i potencijalni je biomarker za procjenu oštećenja tkiva. U prosječnoj studiji na 67 bolesnika s OA koljena mjerene su koncentracije deset biomarkera koji se povezuju s bolestima hrskavice i sinovije te su uspoređivane njihove vrijednosti s njihovim vrijednostima u kontrolnoj skupini zdravih bez simptoma OA (11). Produkt raspadanja kolagena tipa II uCTX-II (eng. *urinary C-terminal telopeptide II*) s anaboličkim peptidom kolagena tipa III PIINP (eng. serum N-propeptide III) i indeksom izmjene sinovijalnih stanica uGly-Gal-PYD (eng. *urinary Glucosyl-Galactosyl Pyridinoline*) povišeni su u OA bolesnika. U sličnoj je studiji analiziran na temelju radioloških metoda (klasični radiogram i magnetska rezonancija) veći broj biomarkera i njihova povezanost s OA (12). Raspadni produkti kolagena tipa II, neoepitop kolagena tipa II razgrađen kolagenazom (C2C) i uCTX-II povezani su s preradiografskim promjenama u OA (potvrđeno magnetskom rezonancijom), ali ne i s radiografskim (promjene na klasičnom radiogramu).

Ovo je istraživanje potvrdilo mogućnost da se s pomoću omjera određenih biomarkera koji su povezani s degenerativnim/upalnim procesom mogu odrediti stupnjevi OA. Oligomerični protein hrskavice (COMP) strukturni je glikoprotein koji povezuje i stabilizira niti kolagena tipa II. Povišene vrijednosti ovog biomarkera povezane su s OA. Metaanaliza je pokazala da su u bolesnika s radiografskim znakovima OA serumske koncentracije COMP znatno povišene u odnosu na kontrolnu skupinu (13). Nadalje, povišene vrijednosti COMP-a bile su povezane s težim radiografskim promjenama u odnosu na kontrolnu skupinu. Slična je studija potvrdila da je u bolesnika sa simptomima OA kuka ili koljena (bol i ukočenost), ali bez radiografskih promjena, znatno povišen serumski COMP (14). Povišene vrijednosti COMP-a su povezane sa stupnjem simptoma kuka (bol i ukočenost) i kliničkom slikom (izljev, krepitacije, bolna osjetljivost mekog tkiva), što nije bio slučaj s radiografskim nalazom. Molekule proteoglikana imaju integralnu ulogu u izvanstaničnom matriksu hrskavice i pridonose njezinoj kompresibilnosti. Agrekan je tip molekule proteoglikana visoke mase koji ima valjkasti oblik s pričvršćenim hondroitin sulfatnim i keratin sulfatnim lancima. Tijekom degenerativnog/upalnog procesa koji zahvaća hrskavicu oslobađaju se proteoglikani i njihove sastavnice u zglob. Razina agrekana je moguće povezana s protutijelima na epitop 846 koji se nalazi na površini hondroitin sulfatnih lanaca. Vrijednosti epitopa 846 u sinovijalnoj tekućini povišeni su u bolesnika s destrukcijom hrskavice u ranom stadiju OA koljena (Rizikalla et al., 1992). Studije su pokazale da serumski KS može biti biomarker destrukcije hrskavice u ranom stadiju OA koljena, i to prije pojave tipičnih promjena vidljivih klasičnim radiogramom (15, 16). Metaboliti sinovijalnog tkiva su također intenzivno istraživani. Hialuronsku kiselinu proizvodi sinovija (kao i hrskavica) i važna je oblažuća komponenta hrskavice za koju se vežu monomeri agrekana. OA bolesnici imaju povišenu razinu serumske HA (17). Molekula uGly-Gal-PYD jest molekula koja je pokazatelj sinovijalne razgradnje. Izlučivanje ove molekule mokraćom je povišeno u OA bolesnika (11). Ovo istraživanje je pokazalo da je Glu-Gal PYD u mokraći (indeks izmjene sinovijalnih stanica) znatan pretkazatelj boli i funkcionalne sposobnosti procijenjene WOMAC skalom (eng. *Western Ontario and McMaster Universities Arthritis Index*). Unutar mišićnokoštanog tkiva postoji ravnoteža između anaboličkih i kataboličkih procesa (Slika 2). Hrskavično tkivo se razgrađuje s pomoću proteolitičkih enzima kao što su metaloproteinaze matriksa (MMP) i agrekanaze ADAMTS (eng. *a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs*). MMP su regulirane s pomoću TIMP-ova (eng. *tissue inhibitor of metalloproteinase*), posebno TIMP-1 i TIMP-2. Razina i aktivnost MMP-a u OA je znatno povišena uz snižene TIMP-ove. To sugerira da postoji neravnoteža koncentracije proteaza i inhibitora u korist razgradnje koja potencira oštećenje tkiva.

### Biomarkeri povezani s upalom

Poznato je da je upala glavni pokretač zglobnih i sustavnih promjena u OA. Posrednici upale, prostaglandini i citokini potenciraju oštećenje mišićnokoštanih tkiva i hrskavice te pojačavaju remodeliranje tkiva mobilizirajući imunostanice u bolesnom zglobu ili tkivu. Postoji niz putova/kaskada koji se aktiviraju u OA kao što su dušikov oksid (NO), TNF $\alpha$  i IL-1 $\beta$ . Razine ovih upalnih posrednika su povišene u ranoj fazi OA. Sinteza IL-1 $\beta$  povezana je s



Slika 2. Ravnoteža između sinteze i razgradnje u osteoartritičnom zglobu.  
Figure 2 Balance between synthesis and degradation in osteoarthritic joints.

bolnošću koljena i suženjem zglobne pukotine u žena koje su imale viši stupanj OA koljena, a niži OA šaka (18). Nedavna je studija pokazala povišene vrijednosti cirkulirajućeg TNF- $\alpha$  i IL-6 u 172 OA bolesnika praćenih na početku i nakon tri godine (19). Početne vrijednosti IL-6 i TNF- $\alpha$  povezane su s većom učestalošću suženja tibio-femoralne zglobne pukotine, a IL-6 s gubitkom tibijalne hrskavice nakon tri godine praćenja.

Nedavna istraživanja nagovještavaju da sustav komplementa ima važnu ulogu u razvoju OA i da proteini tog sustava mogu biti važni biomarkeri u ovoj bolesti. Sustav komplementa sastoji se od proteina koji sudjeluju u uništavanju mikroorganizama i preveniraju odlaganje imunih kompleksa u zdravo tkivo. Glavni proteini (C5b, C6, C7, C8 i C9) spajaju se u membrane *attack complex* (MAC). Proteomska analiza je pokazala da bolesnici s OA imaju povišenu ekspresiju i aktivaciju komplementa (20). Ista grupa istraživača pokazala je s pomoću studija na *knock-out* miševima s genetskim nedostatkom C5, C6 ili regulatornog proteina CD59a da je MAC komponenta komplementa važna za razvoj OA. Ovo istraživanje na animalnom modelu pokazalo je da kulture hondrocita ovih miševa imaju manju sintezu upalnih i matriks metaloproteinaza u odnosu na kontrolnu skupinu.

Pretilost je važan rizični čimbenik bolesti zglobova u OA, a povezana je i s upalom. Vrlo je proširena kriva pretpostavka da je zglobna hrskavica u pretelih isključivo oštećena zbog opterećenja težinom na zglobove. Epidemiološke su studije pokazale da je rizik razvoja OA malih zglobova šake, koje ne opterećuje povećana tjelesna težina, dva puta veći u pretelih nego u onih s normalnim indeksom tjelesne mase (21). Potencijalno objašnjene navedene činjenice jest sljedeće: pretilost je kronično upalno stanje zbog povećane proizvodnje adipokina u bolesnika koji su morbidno preteli (22). Adipokini kao leptin, adiponektin i visfarin proupalni su citokini koje sintetizira bijelo masno tkivo i ekspimirani su u osteoblastima, sinoviocitima i hondrocitima (23). Navedeni adipokini su opisani kao važan dio upalnog procesa i razgradnje matriksa. *In vitro* studije pokazale su da povećanje ekspresije MMP-a potiče oslobađanje kolagena iz hrskavice djelujući sinergistički s ostalim prokataboličkim citokinima kao što je IL-1 (24). Visoke vrijednosti adiponektina i leptina su izmjerene u sinovijalnoj membrani OA bolesnika i one koreliraju s težinom same bolesti (25).

### Biomarkeri u prognozi razvoja bolesti

Razina biomarkera, koja bi govorila o aktivnosti i težini bolesti, određuje opseg patoloških promjena u pojedinom stadiju bolesti. Validacija prognostičkih biomarkera

zahtijeva njihovu povezanost s tijekom bolesti dokumentiranog radiološkim postupcima. Takav prognostički biomarker je uCTX-II. uCTX-II produkt je razgradnje hrskavice i sastavni dio kolagena tipa II te je znatno povezana s prisutnošću osteofita u većini zglobova u OA i visoko je osjetljiva u radiološkom praćenju težine bolesti (26). Povišene vrijednosti uCTX-II povezane su s progresijom OA. Velika nizozemska studija koja je uključila 1235 muškaraca i žena s OA pokazala je da bolesnici s uCTX-II vrijednostima u gornjoj kvartili imaju šest puta veći rizik radiografske progresije OA koljena i osam puta veći rizik razvoja OA kuka, neovisno o ostalim demografskim faktorima (27). U drugim studijama povišene razine uCTX-II predviđaju gubitak hrskavice mjerene magnetskom rezonancijom (28). Istovjetne su rezultate pokazale studije u kojima je određivana razina hijaluronske kiseline u serumu. Klinička studija provedena prije više godina pokazala je da serumske vrijednosti hijaluronske kiseline pozitivno koreliraju s razvojem i težinom OA koljena (29). U studiji s osam stotina ispitanika visoke vrijednosti serumskog COMP-a i HA imaju prediktivnu vrijednost za razvoj OA koljena i simptoma kao što su bol i ukočenost tijekom šest godina praćenja koliko je trajala studija (17). Važan podatak iz ovih studija je da povezanost biomarkera s gubitkom hrskavice nije linearna, već eksponencijalna i da su biomarkeri nužni u mogućoj supkategorizaciji OA bolesnika u različite skupine ovisno o stupnju progresije bolesti. Iako većina studija uzima u obzir početne vrijednosti biomarkera za procjenu ishoda, postoji mogućnost stvaranja biomarkerskog omjera između kataboličkih i anaboličkih biomarkera radi postizanja točnije procjene stanja bolesti i predviđanja daljnjeg napredovanja. Bay-Jensen i suradnici su proučavali preradiološki OA te su pronašli da razina kolagena tipa II sa specifičnim neoepitopom kolagena tipa II specifičnim epitopom (C2M) i C2C ima prediktivnu vrijednost za gubitak hrskavice pogotovo ako se u obzir uzme njihov omjer (30). Navedeno istraživanje potvrđuje potrebu za stvaranjem biomarkerskih panela umjesto evaluacije jednog biomarkera.

Upalni citokini i adipokini kao IL-6, adiponektin i leptin također imaju određeni potencijal u mogućem predviđanju konačnog ishoda bolesti (19, 24, 31). Glavni problem upotrebe ovih biomarkera u prognostičke svrhe je da se njihova koncentracija, odnosno razina povisuje u nizu sustavnih oboljenja, što znatno smanjuje specifičnost.

### **Biomarkeri u procjeni učinka lijekova, suplemenata i rehabilitacijskog liječenja**

Moguća uloga biomarkera u procjeni i određivanju načina i vrste liječenja je znatna. Naime, za razliku od klasičnih radiograma kojima treba i nekoliko godina da pokažu strukturne promjene, promjene koncentracija određenih biomarkera pokazuju dinamične promjene u mišićnokoštanom tkivu unutar nekoliko mjeseci od počinjanja terapije. Nadalje, biomarkeri mogu predvidjeti dugoročnu dobrobit liječenja. Neoperativno liječenje OA ponajprije uključuje nadzor boli farmakoterapijom i fizikalnom terapijom radi poboljšanja biomehaničkih odnosa te u konačnici smanjenje boli i ukočenosti. Biomarkeri se koriste kako bi se procijenila učinkovitost terapijskih opcija. Najčešća grupa lijekova protiv boli koja se upotrebljava u liječenju OA su nesteroidni protuupalni lijekovi. Smanjujući upalu, ovi lijekovi umanjuju bol i ograničenu funkcionalnu sposobnost. Bolesnici s OA koljena koji su uzimali *nesteroidne* protuupalne lijekove u

trajanju od četiri do šest tjedana imali su znatno snižene vrijednosti uCTX-II u usporedbi s grupom koja je primala placebo (32). Dvogodišnje kliničko istraživanje III. faze uspoređivalo je ishod liječenja OA likofelonom (5-lipooksigenaza i ciklooksigenaza (COX) inhibitor) i naproksenom (COX I i II inhibitor) mjereno promjenom koncentracije biomarkera u mokraći u korelaciji s gubitkom volumena hrskavice i simptomima bolesti (33). Pronašli su da više početne vrijednosti IL-6, C- reaktivnog proteina i COMP-a imaju prediktivnu vrijednost za veći rizik gubitka hrskavice u OA. U ovoj je studiji potvrđeno da su vrijednosti MMP-1 i MMP-3 u mokraći znatno snižene u bolesnika koji su uzimali likofelon i da to korelira sa smanjenim gubitkom hrskavičnog volumena.

Najčešće uzimani suplementi u liječenju OA su hondroitin sulfat i glukozamin. Pretpostavlja se da pomažu u olakšavanju simptoma OA prilagođujući zglobne strukture (34). Međutim, studije u kojima se pokušavao pokazati njihov učinak na profil biomarkera u OA bile su različitog uspjeha. Zaključak studija na 307 OA bolesnika koji su uzimali hondroitin sulfat tijekom šest mjeseci jest da njegovo uzimanje nema većeg utjecaja na C terminalni kolageni telopeptid II (CTX-II) ili HA (35). Suprotno prethodnoj studiji, u animalnom modelu OA koji je postignut transekcijom krucijalnog ligamenta inicijalno povišenje vrijednosti CTX suprimirano je uzimanjem glukozamina s posljedičnim poboljšanjem histološke slike što je izostalo u kontrolnoj skupini (36). Prosintetski marker C propeptid sintetaze kolagena tipa II (CPII) bio je povišen u liječenoj skupini, što je vjerojatno pozitivan učinak glukozamina.

HA u obliku injekcija ima pozitivan učinak na zglobnu hrskavicu. Dosadašnje su studije pokazale da HA mijenja profil upalnih medijatora te mijenja ravnotežu razgradnje staničnog matriksa prema njezinom stvaranju (37-39). Primjerice, Yasui i suradnici su pokazali *in vitro* da je HA smanjila MMP-3/TIMP omjer u korist TIMP-a u staničnoj kulturi govedih hondrocita (39). U kliničkoj studiji u kojoj je sudjelovao 51 bolesnik s jednostranim OA koljena nakon injekcije HA u zglob dolazi do znatnog sniženja vrijednosti CTX-II 90 dana nakon injekcije, što ujedno korelira sa smanjenjem bolova pri hodanju (37). U ovoj studiji nije bilo promjene razine biomarkera koji sudjeluju u sintezi, ali su upalni medijatori kao NO bili sniženi u bolesnika s uznapredovalim OA u odnosu na početak studije. Ovi rezultati potvrđuju da se s pomoću biomarkera može procijeniti aktivnost, težina i konačan klinički ishod u OA bolesnika.

Neoperativno liječenje OA uključuje i fizikalnu terapiju, odnosno rehabilitaciju. Iako se fizikalnom terapijom smanjuje bolnost, poboljšava pokretljivost zglobova i podiže kvaliteta života, učinkovitost je često varijabilna. Postoje mišljenja da nakon određene razine intenziteta vježbanja može nastupiti pogoršanje simptoma i oštećenje hrskavice, ali to ovisi od slučaja do slučaja. Biomarkeri potencijalno mogu imati ulogu u evaluaciju odgovora na fizikalnu terapiju omogućujući liječniku da individualno kreira rehabilitacijski program prema bolesnikovom funkcionalnom stanju u određenom trenutku. Nedavno provedena klinička studija proučavala je definirani postupnik fizikalne terapije (snaga/brzina naspram fleksibilnosti) za OA koljena, te je pronađeno da su vrijednosti MMP-9 i IL-8 (proupalni citokin) u mokraći bili povišeni u odnosu na kontrolnu skupinu bez OA (40). Visoke vrijednosti ovih cirkulirajućih biomarkera povezane su sa slabijim funkcionalnim statusom i ograničenom ekstenzijom u koljenu

Tablica 1. Smjernice za buduća istraživanja biomarkera u osteoartritisu (modificirano prema referenci br. 41)

Table 1 Guidelines for future research of biomarkers in osteoarthritis (modified according to reference number 41)

Patofiziologija bolesti /razvoj novih biomarkera
· Istraživanje temeljnih patofizioloških mehanizama bolesti u cilju potvrde postojećih biomarkera i utvrđivanje mogućih novih biomarkera
· Istraživanje biomarkera metodologijom suvremene genomike i proteomike
· Utvrđivanje razlika u važnosti biomarkera među zglobova (koljeno, kuk, šaka, kralježnica) te istražiti postoje li specifični biomarkeri za određene zglobove
Testovi i tehnološki postupnici
· Poboljšanje testova/ tehnoloških postupnika
· Standardizacija / kalibracija biomarkera
· Razvoj ukupnih zbrojeva aktivnosti kombinirajući panel poznatih (potvrđenih) biomarkera (sa ili bez slikovnog biljega) u pojedinačne dijagnostičke testove
Prognoza i rizik (vjerojatnost) nastanka bolesti
· Poboljšanje definiciji ranog osteoartritisa
· Identifikacija biomarkera u ranim fazama osteoartritisa (prije nastanka radioloških promjena)
· Daljnja istraživanja o povezanosti između promjena u razini biomarkera i napredovanja bolesti
· Povezanost određenih biomarkera i ugradnje parcijalne/totalne endoproteze zgloba
· Uloga biomarkera u vjerojatnosti nastanka osteoartritisa

kao i s izraženijim simptomima OA. Malo je studija koje su istraživale korelaciju između promjena u vrijednostima biomarkera u smislu odgovora na fizikalnu terapiju, kao i njihovu moguću povezanost s kliničkim kriterijima. Primjerice, malo je podataka o povezanosti koncentracije biomarkera i promjene opterećenja koljena pri hodanju u OA bolesnika. Takvi bi podaci pomogli u kreiranju personaliziranoga rehabilitacijskog programa. U konačnici, koštanomišićni biomarkeri mogli bi jasno definirati razinu fizičke aktivnosti nakon koje dotad zdravi pojedinci počinju vježbom uništavati zglob.

### Zaključak

Razvoj panela biomarkera u OA omogućio bi ranije postavljanje dijagnoze, shvaćanje mehanizama nastanka bolesti i kreiranje učinkovitoga individualiziranog liječenja. Bolje identifikacije generatora boli s pomoću specifičnih biomarkera mogla bi ubrzati razvoj ciljane terapije u ovih bolesnika. Identifikacija upalnih biljega i markera razgradnje kao što su MMP omogućuje predviđanje pojave kliničkih simptoma i smanjenja funkcionalnog statusa. Postoji niz ograničenja u ovom području koji utječu na točnost koncentracije određenog biomarkera, uključujući i druge čimbenike sustavnih bolesti bolesnika. Daljnja ograničenja povezana su s vrstom testa koji se koristi, vremenom prikupljanja uzoraka, nedostatnom specifičnošću s obzirom

na različite zglobove ili vrstu tkiva te nepostojanjem standardiziranih graničnih vrijednosti. Velika heterogenost vrijednosti biomarkera u bolesnika može se prebroditi sa studijama koje uključuju i genomsku analizu za pojedinog bolesnika. Kreiranje panela biomarkera koji uključuju fiziološke procese poput koštane pregradnje, sinteze, remodeliranja i upale u više tkiva i evaluacija njihovih omjera u konačnici će biti najsvrsishodnije i najkorisnije za svaki-dašnju kliničku praksu. Smjernice za buduća istraživanja biomarkera u osteoartritisu prikazana su u Tablici 1 (41). Vrijednosti biomarkerskih panela nužno je kombinirati s drugim parametrima, prije svega radiološkima, kao što je, primjerice, kvantitativna magnetska rezonancija. Takve bi združene vrijednosti omogućile stvaranje jasnih kriterija aktivnosti i težine kliničke slike u OA bolesnika. Velike nade polažu se u razvoj proteomskih tehnika koje će sigurno dovesti do otkrića novih potencijalnih biomarkera. Primjena panela biomarkera je prvi korak u smjeru personalizirane medicine jer se s pomoću njih povećava specifičnost za pojedine bolesti. Iako je postignut znatan napredak u proteomici, to nije rezultiralo napretkom u kliničkoj praksi zbog velikih troškova i nepostojanja velikih skupova podataka. Kako bi se potencijalni biomarkeri uveli u kliničku praksu, potrebne su intenzivne validacije uz sudjelovanje farmaceutske industrije ili velike kolaborativne studije.

**Izjava o sukobu interesa:** autori izjavljuju da u vezi s ovim radom nemaju nikakav sukob interesa.

### Literatura

1. Yelin E, Murphy L, Cisternas MG, Foreman AJ, Pasta DJ, Helmick CG. Medical care expenditures and earnings losses among persons with arthritis and other rheumatic conditions in 2003, and comparisons with 1997. *Arthritis Rheum.* 2007;56:1397-407.
2. Da RR, Qin Y, Baeten D, Zhang Y. B cell clonal expansion and somatic hypermutation of Ig variable heavy chain genes in the synovial membrane of patients with osteoarthritis. *J Immunol.* 2007;178:557-65.
3. Sakkas LI, Platsoucas CD. The role of T cells in the pathogenesis of osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2007;56:409-24.
4. Bonnet CS, Walsh DA. Osteoarthritis, angiogenesis and inflammation. *Rheumatology (Oxford).* 2005;44:7-16.
5. Sellam J, Berenbaum F. The role of synovitis in pathophysiology and clinical symptoms of osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol.* 2010;6:625-35.
6. Goldring MB. Anticytokine therapy for osteoarthritis. *Expert Opin Biol Ther.* 2001;1:817-29.
7. Bondeson J, Blom AB, Wainwright S, Hughes C, Caterson B, van den Berg WB. The role of synovial macrophages and macrophage-produced mediators in driving inflammatory and destructive responses in osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2010;62:647-57.

8. Creamer P. Osteoarthritis pain and its treatment. *Curr Opin Rheumatol.* 2000;12:450-5.
9. Guermazi A, Roemer FW, Burstein D, Hayashi D. Why radiography should no longer be considered a surrogate outcome measure for longitudinal assessment of cartilage in knee osteoarthritis. *Arthritis Res Ther.* 2011;13:247.
10. Atkinson AJ Jr, Colburn WA, Degruittola VG i sur. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 2001;69:89-95.
11. Garnero P, Piperno M, Gineyts E, Christgau S, Delmas PD, Vignon E. Cross sectional evaluation of biochemical markers of bone, cartilage, and synovial tissue metabolism in patients with knee osteoarthritis: Relations with disease activity and joint damage. *Ann Rheum Dis.* 2001;60:619-26.
12. Cibere J, Zhang H, Garnero P i sur. Association of biomarkers with pre-radiographically defined and radiographically defined knee osteoarthritis in a population-based study. *Arthritis Rheum.* 2009;60:1372-80.
13. Hoch JM, Mattacola CG, Medina Mckeeon JM, Howard JS, Lattermann C. Serum cartilage oligomeric matrix protein (sCOMP) is elevated in patients with knee osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2011;19:1396-404.
14. Dragomir AD, Kraus VB, Renner JB i sur. Serum cartilage oligomeric matrix protein and clinical signs and symptoms of potential pre-radiographic hip and knee pathology. *Osteoarthritis Cartilage.* 2002;10:687-91.
15. Kong SY, Stabler TV, Criscione LG, Elliott AL, Jordan JM, Kraus VB. Diurnal variation of serum and urine biomarkers in patients with radiographic knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2006;54:2496-504.
16. Wakitani S, Okabe T, Kawaguchi A, Nawata M, Hashimoto Y. Highly sensitive ELISA for determining serum keratan sulphate levels in the diagnosis of OA. *Rheumatology (Oxford).* 2010;49:57-62.
17. Elliott AL, Kraus VB, Luta G i sur. Serum hyaluronan levels and radiographic knee and hip osteoarthritis in African Americans and caucasians in the Johnston County Osteoarthritis Project. *Arthritis Rheum.* 2005;52:105-11.
18. Fraenkel L, Roubenoff R, Lavalley M i sur. The association of peripheral monocyte derived interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-1 receptor antagonist, and tumor necrosis factor- $\alpha$  with osteoarthritis in the elderly. *J Rheumatol.* 1998;25:1820-6.
19. Stannus O, Jones G, Cicuttini F i sur. Circulating levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  are associated with knee radiographic osteoarthritis and knee cartilage loss in older adults. *Osteoarthritis Cartilage.* 2010;18:1441-7.
20. Wang Q, Rozelle AL, Lepus CM i sur. Identification of a central role for complement in osteoarthritis. *Nat Med.* 2011;17:1674-9.
21. Grotle M, Hagen KB, Natvig B, Dahl FA, Kvien TK. Obesity and osteoarthritis in knee, hip and/or hand: An epidemiological study in the general population with 10 years follow-up. *BMC Musculoskelet Disord.* 2008;9:132.
22. Yusuf E, Ioan-Facsinay A, Bijsterbosch J i sur. Association between leptin, adiponectin and resistin and long-term progression of hand osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2011;70:1282-4.
23. Lago R, Gomez R, Otero M i sur. A new player in cartilage homeostasis: adiponectin induces nitric oxide synthase type II and pro-inflammatory cytokines in chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage.* 2008;16:1101-9.
24. McNulty AL, Miller MR, O'Connor SK, Guilak F. The effects of adipokines on cartilage and meniscus catabolism. *Connect Tissue Res.* 2011;52:523-33.
25. Staikos C, Ververidis A, Drosos G, Manolopoulos VG, Verettas DA, Tavidou A. The association of adipokine levels in plasma and synovial fluid with the severity of knee osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2013;52:1077-83.
26. Meulenbelt I, Kloppenburg M, Kroon HM i sur. Urinary CTX-II levels are associated with radiographic subtypes of osteoarthritis in hip, knee, hand, and facet joints in subject with familial osteoarthritis at multiple sites: The GARP study. *Ann Rheum Dis.* 2006;65:360-5.
27. Reijman M, Hazes JMW, Bierma-Zeinstra SMA i sur. A new marker for osteoarthritis: Cross-sectional and longitudinal approach. *Arthritis Rheum.* 2004;50:2471-8.
28. Dam EB, Byrjalsen I, Karsdal MA, Qvist P, Christiansen C. Increased urinary excretion of C-telopeptides of type II collagen (CTX-II) predicts cartilage loss over 21 months by MRI. *Osteoarthritis Cartilage.* 2009;17:384-9.
29. Golightly YM, Marshall SW, Kraus VB i sur. Biomarkers of incident radiographic knee osteoarthritis: Do they vary by chronic knee symptoms? *Arthritis Rheum.* 2011;63:2276-83.
30. Bay-Jensen AC, Liu Q, Byrjalsen I i sur. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISAs) for metalloproteinase derived type II collagen neoepitope, CIIM-Increased serum CIIM in subjects with severe radiographic osteoarthritis. *Clin Biochem.* 2011;44:423-9.
31. Pelletier JP, Raynald JP, Caron J i sur. Decrease in serum level of matrix metalloproteinases is predictive of the disease-modifying effect of osteoarthritis drugs assessed by quantitative MRI in patients with knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:2095-101.
32. Gineyts E, Mo JA, Ko A i sur. Effects of ibuprofen on molecular markers of cartilage and synovium turnover in patients with knee osteoarthritis synovium turnover in patients with osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2004;63:857-61.
33. Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, Reboul P, Pelletier JP. Therapeutic role of dual inhibitors of 5-LOX and COX, selective and non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Ann Rheum Dis.* 2003;62:501-9.
34. Reginster JY, Neuprez A, Lecart MP, Sarlet N, Bruyere O. Role of glucosamine in the treatment for osteoarthritis. *Rheumatol Int.* 2012;32:2959-67.
35. Mazières B, Hucher M, Zaïm M, Garnero P. Effect of chondroitin sulphate in symptomatic knee osteoarthritis: A multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Ann Rheum Dis.* 2007;66:639-45.
36. Naito K, Watari T, Furuhashi A i sur. Evaluation of the effect of glucosamine on an experimental rat osteoarthritis model. *Life Sci.* 2010;86:538-43.
37. Conrozier T, Balblanc JC, Richette P i sur. Early effect of hyaluronic acid intra-articular injections on serum and urine biomarkers in patients with knee osteoarthritis: An open-label observational prospective study. *J Orthop Res.* 2012;30:679-85.
38. Xu HT, Chen Y, Chen LK, Li JY, Zhang W, Wu B. Effect of various intervention factors on MMP-3 and TIMP-1 level in synovial fluid in knee joints with osteoarthritis. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2008;33:47-52.
39. Yasui T, Akatsuka M, Tobetto K i sur. Effects of hyaluronan on the production of stromelysin and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in bovine articular chondrocytes. *Biomed Res.* 1992;13:343-8.
40. Jayabalan P, Stoker AM, Sayers SP, Cook JL. The Development of A Biomarker Panel for the Rehabilitation of Osteoarthritis. *Am J Phys Med Rehab.* 2013;92:283.
41. Lotz M, Martel-Pelletier J, Christiansen C i sur. Value of biomarkers in osteoarthritis: current status and perspectives. *Ann Rheum Dis.* 2013;72:1756-63.