

ULOGA BIOMARKERA U OSTEOARTRITISU KOLJENA: GDJE SMO DANAS?

**Doc. dr. sc. Andrea Tešija Kuna, dr. med.,
specijalist medicinske biokemije, voditelj Odjela za specijalnu
medicinsku biokemiju Kliničkog zavoda za kemiju**

KBC Sestre milosrdnice, Zagreb

Uvod

Osteoarthritis (OA) najčešća je degenerativna bolest zglobova karakterizirana progresivnim oštećenjem zglobne hrskavice, suženjem zglobnog prostora, remodeliranjem subhondralne kosti, stvaranjem osteofita i sinovitisom, a najčešće su zahvaćeni veliki nosivi zglobovi poput koljena i kukova te mali zglobovi šaka (1). Heterogenost bolesti, koja se manifestira višestrukim kliničkim fenotipovima i molekularnim endotipovima te nesrazmjerom između stupnja strukturnog oštećenja i simptoma, predstavlja izazov u dijagnostici, praćenju progresije bolesti te razvoju ciljane terapije. Po svojoj definiciji, biomarkeri su mjerljivi indikatori normalnih bioloških procesa, patoloških procesa ili odgovora na izlaganje određenoj intervenciji, uključujući terapijsku intervenciju. U kontekstu OA, trenutno se u kliničkoj praksi koriste samo radiološki biomarkeri, koji s nedovoljnom osjetljivošću detektiraju rane promjene u zglobnim strukturama. Stoga su brojna istraživanja usmjerena na identifikaciju topljivih, molekularnih biomarkera koji se izlučuju u tjelesne tekućine (krv, mokraća ili sinovijalna tekućina) tijekom patofizioloških procesa u zglobnoj hrskavici, sinovijalnom tkivu i subhondralnoj kosti koji su povezani s nastankom i progresijom bolesti. Dodatni etiološki čimbenici OA uključuju kroničnu nisku razinu upale i metabolički disbalans, što proširuje spektar potencijalnih biomarkera na one koji odražavaju imunološke i metaboličke procese (2). Identifikacija lako mjerljivih molekularnih biomarkera OA ima višestruku važnost - od pomoći u razumijevanju patogeneze bolesti do kliničke primjene u ranoj dijagnostici, predviđanju progresije bolesti te stratifikaciji pacijenata u kliničkim ispitivanjima ciljane terapije (3).

Biomarkeri metabolizma zglobne hrskavice

Najopsežnije su istraživani upravo biomarkeri koji odražavaju sintezu i razgradnju izvanstaničnog matriksa hrskavice. Najveći potencijal pokazali su biomarkeri razgradnje hrskavice:

- **CTX-II** (C-terminalni telopeptid kolagena tipa II) - produkt razgradnje kolagena tipa II koji se pokazao korisnim u ranoj detekciji razgradnje zglobne hrskavice (prije radiografskih promjena), ali s varijabilnom osjetljivošću i specifičnošću između kohorti. Neke studije pokazale su da CTX-II odražava stupanj oštećenja hrskavice, a visoka početna vrijednost povećava rizik od progresije bolesti.

- **COMP** (hrskavični oligomerni matriksni protein) - glavni nekolagenski protein u izvanstaničnom matriksu hrskavice, značajno je povišen u OA koljena u odnosu na zdrave osobe i korelira s težinom bolesti, ali nije specifičan s obzirom na to da je povišen i u reumatoidnom artritisu.

- **MMP** (matriksne metaloproteinaze) - enzimi koji razgrađuju izvanstanični matriks. U patogenezi OA, MMP-13 se pokazao ključnim, što ga čini potencijalnom ciljnom molekulom u razvoju lijekova za OA.

Od biomarkera sinteze izvanstaničnog matriksa hrskavice ističu se PIIANP, prokolagenski propeptidi tipa II koji odražavaju sintezu kolagena, a često su u studijama analizirani u kombinaciji s biomarkerima razgradnje hrskavice radi procjene poremećaja ravnoteže u remodeliranju hrskavice (1, 2, 4).

Biomarkeri upale

Jedan od etioloških čimbenika OA je lokalna kronična upala s produkcijom proupalnih citokina, primarno interleukina 1 β i 6 (IL-1 β , IL-6) te čimbenika tumorske nekroze- α (TNF- α). Ovi citokini sinergističkim djelovanjem, posredstvom brojnih signalnih medijatora, potiču kataboličke mehanizme u hondrocitima i sinoviocitima indukcijom ekspresije MMP-a, uz istovremeno potiskivanje anaboličkih mehanizama supresijom sinteze kolagena II i proteoglikana u hondrocitima. Rezultati više studija pokazali su da su IL-1 β , IL-6 i TNF- α viši u ranoj fazi OA koljena u odnosu na kasnu fazu, dok je korelacija s boli kontroverzna. (1, 2, 5).

Metabolički biomarkeri

OA povezan s metaboličkim sindromom (engl. *Metabolic Syndrome*, MetS-OA) predstavlja poseban entitet u kojem metabolički poremećaji udruženi s niskim stupnjem upale imaju važnu ulogu u narušavanju homeostaze zglobnih tkiva. Stoga su brojni metabolički biomarkeri predmet istraživanja u OA, poput adiponektina, leptina, visfatina, oxLDL-a i brojnih drugih. Opisana je povišena razina adiponektina, čije se protuupalno djelovanje u patofiziološkim procesima u OA očituje kroz inhibiciju MMPa i diferencijacije makrofaga u proupalni fenotip. Povišena razina leptina povezuje se s povišenom razinom boli, radiografskom progresijom OA, biomarkerima izgradnje kosti i gubitkom volumena hrskavice (5).

Biomarkeri koštane pregradnje

Najčešće su istraživani biomarkeri koštane razgradnje, C-terminalni telopeptid kolagena tipa I (CTX-I) i N-terminalni telopeptid kolagena tipa I (NTX-I), koji se povezuju s bržom radiografskom progresijom bolesti. Biomarker koštane izgradnje, N-terminalni propeptid kolagena tipa I, pokazao se pak kao potencijalni marker progresivne osteofitoze (6).

Unatoč velikom broju studija u kojima su istraživani navedeni biomarkeri, niti jedan nije zaživio u kliničkoj praksi zbog nestandardiziranosti metoda, nekonzistentnih rezultata koji vjerojatno odražavaju heterogenost bolesti, nedovoljne specifičnosti ili izostanka validacije na velikim prospektivnim kohortama.

Novi trendovi u istraživanju biomarkera OA

Napredak metoda molekularne biologije, biotehnologije i bioinformatike doveo je do razvoja tzv. „omika“ (grč. potpun ili sav) kao što su genomika, transkriptomika, proteomika i metabolomika, koje se sve više primjenjuju i u istraživanju biomarkera OA. Prema rezultatima najnovijih istraživanja, studije proteoma i transkriptoma identificirale su molekule s obećavajućim potencijalom za biomarkere OA.

Proteomika se bavi sveobuhvatnim proučavanjem cjelokupnog skupa proteina (proteom) koje stanica ili tkivo izražava u određenom fiziološkom ili patološkom stanju. Primjenom nedavno razvijenih proteomskih platformi (SomaScan i Olink) moguća je istovremena identifikacija i kvantifikacija tisuće proteina iz minijaturnog volumena kompleksnog uzorka kao što je serum/plazma. Nedavne velike populacijske studije uz pomoć SomaScan (184 plazmatska proteina, 3517 ispitanika) i Olink platformi (4792 plazmatska proteina, 37 278 ispitanika) identificirale su cirkulirajući hrskavični kiseli protein 1 (engl. *Circulating cartilage acidic protein 1, CRTAC1*), protein izvanstaničnog matriksa u dubokom sloju hrskavice, kao najsnažniji biomarker za OA koljena. Obje studije pokazale su snažnu povezanost CRTAC1 s dijagnozom OA, težinom osteoartritis koljena te prediktivnu vrijednost za razvoj OA u budućnosti, radiografsku progresiju i potrebu za totalnom artroplastikom. Budući da nije povezan s ostalim upalnim bolestima zglobova, to ga čini specifičnim biomarkerom za OA. Dobiveni rezultati za CRTAC1 replicirani su primjenom druge metode, ali i u neovisnoj kohorti (1462 plazmatska proteina, 54, 265 ispitanika), što je jedan od ključnih preduvjeta za primjenu biomarkera u kliničkoj praksi). Time je CRTAC1 postao vodeći kandidat kao prognostički biomarker i potencijalni alat u kliničkim ispitivanjima koja uključuju ispitanike s povećanim rizikom od progresije (engl. *risk-enrichment clinical studies*) (8, 9, 10).

Transkriptomika analizira cjelokupan skup RNA molekula (posebno mRNA, ali i drugih tipova RNA) koje se u određenom trenutku sintetiziraju u jednoj stanici, tkivu ili organizmu. Nekodirajuće RNA molekule, među kojima mikro RNA (miRNA), duge nekodirajuće RNA (engl. *long non-coding RNA*, lncRNA) i cirkularne RNA (circRNA) najviše su istraživane u kontekstu OA. Nekodirajuće RNA sudjeluju u regulaciji homeostaze izvanstaničnog matriksa, upale i metabolizma hrskavice, što sugerira da su potencijalni čimbenici u patogenezi OA. Cirkulirajuće miRNA, lncRNA i circRNA predstavljaju obećavajuće biomarkere za:

dijagnozu OA koljena (npr. miR-584-5p, FER1L4, circRUNX2), uz visoke pokazatelje dijagnostičke točnosti, AUC (engl. *area under the curve*) 0,89, 0,92 i 0,82, ali potrebna je validacija na većem uzorku ispitanika

prognozu progresije bolesti (7mi-RNA predviđaju progresiju bolesti tijekom 2 - 5 god.), dok članovi obitelji *miR-320* razlikuju brze od sporih progresora OA koljena, s visokom točnošću predviđanje ishoda boli nakon totalne artroplastike koljena (lncRNA). (1, 11)

Zaključak

Značajan napredak postignut je u identifikaciji kandidata za molekularne biomarkere u osteoartritisu koljena, od klasičnih biokemijskih markera razgradnje hrskavice do ncRNA i omičkih potpisa. Ipak, prijenos u rutinsku kliničku primjenu zahtijeva validaciju na velikim prospektivnim nezavisnim kohortama, standardizaciju metoda i jasno dokaznu povezanost između biomarkera i klinički relevantnih ishoda (bol, funkcija, radiografska ili MR-progresija). Višeslojni pristupi koji integriraju tzv. multi-omics tehnologiju sa slikovnim i kliničkim podacima, koristeći strojno učenje za stvaranje robusnih prediktivnih modela fenotipa OA, čine najrealniji put prema personaliziranoj dijagnostici i tretmanu OA koljena.

Literatura

1. Deng M, Tang C, Yin L, Jiang Y, Huang Y, Feng Y, Chen C. Clinical and omics biomarkers in osteoarthritis diagnosis and treatment. *J Orthop Translat.* 2025 Jan 22;50:295-305. doi: 10.1016/j.jot.2024.12.007. PMID: 39911590; PMCID: PMC11795539.
2. Mobasheri A, Thudium CS, Bay-Jensen AC, Maleitzke T, Geissler S, Duda GN, Winkler T. Biomarkers for osteoarthritis: Current status and future prospects. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2023 Jun;37(2):101852. doi: 10.1016/j.berh.2023.101852. Epub 2023 Aug 22. PMID: 37620236.
3. Liu M, Haque N, Huang J, Zhai G. Osteoarthritis year in review 2023: metabolite and protein biomarkers. *Osteoarthritis Cartilage.* 2023 Nov;31(11):1437-1453. doi: 10.1016/j.joca.2023.08.005. Epub 2023 Aug 21. PMID: 37611797

4. Kraus VB, Karsdal MA. Osteoarthritis: Current Molecular Biomarkers and the Way Forward. *Calcif Tissue Int.* 2021 Sep;109(3):329-338. doi: 10.1007/s00223-020-00701-7. Epub 2020 May 4. PMID: 32367210.
5. Li L, Li Z, Li Y, Hu X, Zhang Y, Fan P. Profiling of inflammatory mediators in the synovial fluid related to pain in knee osteoarthritis. *BMC Musculoskelet Disord.* 2020 Feb 14;21(1):99. doi: 10.1186/s12891-020-3120-0. PMID: 32059658; PMCID: PMC7023718.
6. Lynskey SJ, Macaluso MJ, Gill SD, McGee SL, Page RS. Biomarkers of Osteoarthritis-A Narrative Review on Causal Links with Metabolic Syndrome. *Life (Basel).* 2023 Mar 8;13(3):730. doi: 10.3390/life13030730. PMID: 36983885; PMCID: PMC10051744.
7. Nguyen, L.T.; Sharma, A.R.; Chakraborty, C.; Saibaba, B.; Ahn, M.-E.; Lee, S.-S. Review of Prospects of Biological Fluid Biomarkers in Osteoarthritis. *Int. J. Mol. Sci.* 2017, 18, 601. <https://doi.org/10.3390/ijms18030601>
8. Styrkarsdottir U, Lund SH, Saevarsdottir S, Magnusson MI, Gunnarsdottir K, Norddahl GL, Frigge ML, Ivarsdottir EV, Bjornsdottir G, Holm H, Thorgeirsson G, Rafnar T, Jonsdottir I, Ingvarsson T, Jonsson H, Sulem P, Thorsteinsdottir U, Gudbjartsson D, Stefansson K. The CRTAC1 Protein in Plasma Is Associated With Osteoarthritis and Predicts Progression to Joint Replacement: A Large-Scale Proteomics Scan in Iceland. *Arthritis Rheumatol.* 2021 Nov;73(11):2025-2034. doi: 10.1002/art.41793. Epub 2021 Sep 28. PMID: 33982893; PMCID: PMC8596997.
9. Styrkarsdottir U, Lund SH, Thorleifsson G, Saevarsdottir S, Gudbjartsson DF, Thorsteinsdottir U, Stefansson K. Cartilage Acidic Protein 1 in Plasma Associates With Prevalent Osteoarthritis and Predicts Future Risk as Well as Progression to Joint Replacements: Results From the UK Biobank Resource. *Arthritis Rheumatol.* 2023 Apr;75(4):544-552. doi: 10.1002/art.42376. Epub 2022 Dec 28. PMID: 36239377.
10. Szilagyi IA, Vallerga CL, Boer CG, Schiphof D, Ikram MA, Bierma-Zeinstra SMA, van Meurs JBJ. Plasma proteomics identifies CRTAC1 as a biomarker for osteoarthritis severity and progression. *Rheumatology (Oxford).* 2023 Mar 1;62(3):1286-1295. doi: 10.1093/rheumatology/keac415. PMID: 35924962; PMCID: PMC9977119.
11. Rocha FAC, Ali SA. Soluble biomarkers in osteoarthritis in 2022: year in review. *Osteoarthritis Cartilage.* 2023 Feb;31(2):167-176. doi: 10.1016/j.joca.2022.09.005. Epub 2022 Sep 27. PMID: 36179981.