

# Osteoartritte Moleküler Belirleyiciler

## MOLECULAR MARKERS IN OSTEOARTHRITIS

Ayşe Dicle TURHANOĞLU\*, Ferda ERDOĞAN\*\*

\* Yrd.Doç.Dr., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon AD,

\*\* Prof.Dr., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon AD, DİYARBAKIR

### Özet

Osteoartrit (OA), eklemleri etkileyerek sakatlık ve engelliliğe yol açan ve sık görülen bir romatolojik hastalıktır. Yakın zamana kadar OA yaşlanma ve travma sonucu gelişen bir aşınma ve yırtılma olarak düşünülmekteyken, günümüzde metabolik olarak aktif ve onarıcı potansiyeli olan dinamik bir süreç olarak düşünülmektedir. OA'te eklem dokularında meydana gelen metabolik değişiklikler, eklem sıvısı, kan ve idrara salınan fragmanlar şeklinde ortaya çıkabilen matriks moleküllerinin yıkım ve yapımındaki değişiklikleri kapsar. Eklem metabolizmasının biyokimyasal belirleyicileri eklem dokularındaki bu dinamik değişiklikleri yansıtır ve eklemden oluşan patoloji üzerinde bir pencere açabilirler. Belirleyiciler en sık prognozunu belirlemesi ve tedaviye yanıtın izlenmesi için yıkım mekanizmasının aydınlatılmasında kullanılırlar.

**Anahtar Kelimeler:** Osteoartrit, Moleküler belirleyici

T Klin FTR 2001, 1:183-188

### Summary

Osteoarthritis is the most common rheumatological disease that caused disability and handicap with effecting the joints. Previously considered a boring wear and tear, degenerative disease that must be accepted as the inevitable consequence of trauma and ageing, osteoarthritis is increasingly viewed as a dynamic, essentially reparative process with potential. The metabolic alterations in joint tissues associated with osteoarthritis involves changes in both the degradation and synthesis of matrix molecules, which are then often released as fragments to joint fluid, blood and urine where they may be detected. Biochemical markers of joint metabolism reflect these dynamic changes in the joint tissues and may serve as a window on pathological processes in the joint with osteoarthritis. The markers are most likely to be useful to elucidate degradation mechanism, to predict prognosis and to monitor response to treatment.

**Key Words:** Osteoarthritis, Molecular marker

T Klin J PM & R 2001, 1:183-188

Osteoartrit (OA) eklem kıkırdağının biyomekanik ve fonksiyonel özelliklerini sağlayan makromoleküllerin yıkım ve yapımı arasındaki dengenin bozulmasıyla birlikte olan bir hastalıktır. Bu süreç eklem kıkırdağının yıkımıyla birlikte subkondral kemik, sinovyum ve diğer eklem dokularının fonksiyonel ve yapısal değişikliğiyle eklem fonksiyonunda bozulmaya yol açar. Bu değişiklikler sıklıkla uzun bir süre geçtikten sonra hastalarda ağrı, özrürlülük ve engelliliğe yol açar.

**Geliş Tarihi:** 24.07.2000

**Yazışma Adresi:** Dr. Ayşe Dicle TURHANOĞLU  
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon AD,  
DİYARBAKIR

OA olarak isimlendirilen hastalık, bu uzun sürecin son aşamasıdır (1). OA genellikle 3 evreye ayrılarak incelenir. İlk evre kıkırdak matriksin proteolitik yıkımını içerir. İkinci evre kıkırdak yüzeyin fibrilasyon ve erozyonuyla birlikte yıkım ürünlerinin sinoviyal sıvıya salınmasından oluşur. Üçüncü evrede ise sinovyal enflamasyon başlar. Sinoviyal hücreler yıkım ürünlerini fagosite eder, proteaz ve pro-inflamatuar sitokin üretirler (2).

OA'li hastanın izleminde; eklem ağrısı ve özrürlülüğün değerlendirildiği ölçümlere örnek olarak WOMAC OA indeksi (3), tutulan eklemde yapısal değişikliklerin ölçülmesine örnek olarak, radyografiler, magnetik rezonans görüntüleme (MRG), artroskopisi veya ultrasonografi sayılabilir (4-8).

OA'te eklemdeki metabolik değişiklikler kırık-dak matriks moleküllerinin yıkım ve yapımını kapsar. Bu moleküllerin serbestleşen fragmanları eklem sıvısı, kan ve idrarda saptanabilir. Böylece vücut sıvı kompartmanlarında bulunan matriks moleküllerinin sentez veya yıkım ürünleri OA'li eklem dokularındaki dinamik değişimleri yansıtarak, eklemdeki patolojik sürecin belirlenmesine yardım edebilirler. Bu moleküler belirleyicilerin kemik sintigrafisi ve MRG ile birlikte kullanılabilmesi OA'te hastalık sürecinin takibinde ve tedaviye cevaplı izlemede yarar sağlayacaktır (8-11).

### Eklemdeki Yapım ve Yıkımın Belirlenmesi

Eklem kırıkdağı hücreler ve matriksten oluşur. Eklem kırıkdağında bulunan kondrositler tip II kollajeni, proteoglikanları, spesifik non-kollajen proteinleri ve matriks degradasyonundan sorumlu enzimleri üretirler. Kondrositler matriks moleküllerinin parçalanmasına yanıt verir ve yıkılan moleküllerin yerine yenilerinin sentezini yaparlar. Eklem kırıkdağının matriksini su ve makromoleküller oluşturur. Bu makromoleküller, kollajenler, proteoglikanlar ve non-kollajenöz proteinleri içerir. Eklem kırıkdağındaki kollajenin %90-95'i Tip-II kollajendir. Eklem kırıkdağında agrekan ve dermatan sülfat olmak üzere iki ana proteoglikan molekülü bulunur. Kırıkdağ matriksindeki agrekanlar hyalüronik asit ve bağlantı proteinleriyle bağlanarak proteoglikan agregatlarını oluştururlar. Kırıkdağda çok sayıda bulunan non-kollajenaz proteinlerin çok az bir bölümü incelenebilmiştir. Bu moleküllerden kırıkdağ oligomerik matriks proteini (COMP) kırıkdağ döngüsü ve dejenerasyonunun saptanmasında önem taşıyan bir belirleyicidir. Kondrositler yaşam boyunca matriks moleküllerini yıkar ve yaparlar (1). Bu kırıkdağ döngüsü sonucu ortaya çıkan moleküler belirleyiciler OA ve romatoid artrit gibi hastalıkların takibinde, prognoz belirlemede ve moleküler düzeyde hastalık mekanizmasını tanımlamada kullanılabilir (9,11-13). Eklem sıvısındaki kırıkdağ matriks yıkım ürününün konsantrasyonu sadece matriks yıkım oranı ile değil, aynı zamanda moleküler fragmanın eliminasyon hızı, klirensi ve eklemde kalan kırıkdağ matriks miktarı gibi faktörlere bağlı olarak değişebilir (14). Enflamasyon eklem sıvı kompartmanından klirensi arttırdığından, enflame eklem ile sağlıklı eklem

sıvısındaki moleküler belirleyici arasındaki fark olduğundan daha az sanılabilir. Bu nedenle artrit sadece eklem sıvısındaki matriks molekülü fragmanlarının konsantrasyonuna bakılırsa metabolik hız olduğundan daha düşük bulunabilir (15,16). Buna rağmen genellikle eklem sıvısındaki moleküler belirleyici konsantrasyonu eklem kırıkdağ matriks moleküllerinin metabolik hızıyla ilişkilidir (9). Moleküler fragmanın artmış serbestleşme hızı yıkımdaki net artışın veya yıkım sonucu oluşan yeni sentezin bir sonucu olarak görülebilir. Hatta istirahat durumundaki dokuda bulunan molekül konsantrasyonuna da bağlı olabilir. Bu nedenle matriks sentezi için kollajen II C-propeptid ve yıkımı için agrekan fragmanları gibi biyokimyasal belirleyicilerin süreçteki spesifikliğine gereksinim duyulur. Biyokimyasal belirleyicilerin metabolik süreç ve doku özgüllüğü Tablo 1'de özetlenmiştir. Fonksiyonel matriks içinde yeni sentezlenen henüz birleşmemiş veya matür matriksin fonksiyonel bölümünü içeren durağan matriks molekülü de yıkımdan kaynaklanan bir moleküler belirleyici sanılabilir. İnvitro deneysel çalışmalarda kırıkdağ matriks kompartmanlarının metabolik hızlarının belirgin farklılıklar gösterdiği öne sürülmekle birlikte kan, idrar ve eklem sıvısındaki moleküler belirleyicilerin spesifik kaynağının kırıkdağ matriks kompartmanlarından hangisi olduğu da çözülemeyen bir problemdir. Normal olarak kırıkdağda bulunan matriks moleküllerinin eklem sıvısında ortaya çıkan fragmanlarının kırıkdağ matriks metabolizmasının ürünü olduğu ileri sürülür. Ancak bu tahmin, kırıkdağda diğer eklem dokularından daha fazla bulunan veya kırıkdağdaki metabolik hızı diğer eklem dokularındaki hızından çok daha fazla olan moleküller için güvenilir olabilir (17).

**Tablo 1.** Eklem kırıkdağ metabolizmasının izleminde moleküler belirleyiciler

Doku	Yıkım	Yapım
Tip II kollajen	Piridinolin	C-propeptid
Agrekan	Keratan sülfat	3B3, 846 CS epitop
Matriks protein	COMP	
Proteaz	Stromelisin/kollajenaz	TIMP
Sitokin	IL-1, TNF- $\alpha$	TGF- $\beta$

COMP : Kırıkdağ oligomerik matriks metalloproteaz

TIMP : Doku inhibitör metalloproteaz

IL 1 : İnterlökin 1

TNF- $\alpha$ : Tümör nekrozis faktör- $\alpha$

TGF- $\beta$ : Transfer edici faktör- $\beta$

Serum ve idrarda saptanan kırıkdağ metabolizması belirleyicilerinin kaynağı her zaman kolayca belirlenemez. Eklem kırıkdağı vücuttaki hyalen kırıkdağın %10'undan daha azını oluşturmaktadır. Bu nedenle moleküler belirleyicilerin kaynağının eklem kırıkdağından başka dokular da olabileceği gözönüne alınmalıdır. Monoartiküler bir hastalıkta bile etkilenen tek bir eklemden salınan moleküler belirleyici normal eklemlerden salınan moleküler belirleyici ile karıştırılabilir. Poliartiküler veya sistemik bir hastalıkta serum veya idrarda kırıkdağ metabolizması belirleyicilerinin saptanması daha yararlı olabilir. Serum veya idrardaki kırıkdağ metabolizması belirleyicilerinin klirensini etkileyen ekstra-artiküler faktörler de gözönüne alınmalıdır. Kırıkdağ ve diğer konnektif dokulardan salınan moleküler fragmanların büyük bir kısmının eliminasyonundan lenf düğümleri ve karaciğer sorumludur. Bu organ fonksiyonlarındaki herhangi bir bozulma serumdaki kırıkdağ belirleyicilerinin klirensini etkileyecektir. Örneğin karaciğer fonksiyonu hyalüronik asitin serum konsantrasyonunu büyük oranda etkilemektedir (18). Fiziksel aktivite de serum ve sinoviyal dokudaki belirleyicilerin konsantrasyonunu değiştirebilir (19).

### Moleküler Belirleyiciler

Moleküler belirleyiciler, OA'li ve sağlıklı bireyler arasındaki farkı saptayabilen tanısal test, hastalığın ilerleme hızını saptayabilen prognostik

test ve hastada zaman içerisindeki değişimi saptayabilen değerlendirme testi olarak kullanılabilir. Ayrıca proteaz inhibitörü veya spesifik kollajenaz inhibitörü gibi bir tedaviye yanıtın izlenmesinde de moleküler belirleyicilerin yararlı olabileceği düşünülmelidir (20).

OA'li hastaların serum ve sinovyal sıvısındaki moleküler belirleyici düzeylerindeki değişimler Tablo 2'de sunulmuştur. Kırıkdağdaki proteoglikanların büyük bir bölümünü oluşturan agrekan, bir protein çekirdeğe kovalan bağlarla bağlanmış olan kondroitin-6 sülfat, kondroitin-4 sülfat ve keratan sülfat moleküllerini içerir (9). Serum keratan sülfat (KS) konsantrasyonunun generalize OA için tanısal bir test olduğu öne sürülmektedir (21). Agrekan yıkımının belirleyicisi olan KS düzeyindeki artış kondrositlerin metabolik aktivitelerinin arttığına bir göstergesidir (22). Klinik olarak saptanabilen OA başlamadan önce serum KS düzeyi artış gösterir. Hayvan modellerinde posttravmatik OA'te agrekan yıkım belirleyicileri ve sinovyal proliferasyon belirleyicilerinin 1-2 hafta içinde yükseldiği ve bu yüksek düzeyin en az 13 hafta süreyle devam ettiği bildirilmiştir (23). Sinovyal sıvıda KS düzeyi psödogut ve akut Reiter hastalığında OA'teki artışına göre çok daha fazla artış göstermektedir (24). Böylece sinovyal sıvıda proteoglikan fragmanlarındaki artışın akut enflamatuvar durumlarda ortaya çıktığı görülmektedir. Büyük olasılıkla bu artış hızlanmış yıkımı yansıtmaktadır.

**Tablo 2.** Osteoartritte moleküler belirleyiciler

Doku	Belirleyici	Süreç	Serum	Sinovyal sıvı
Sinovyum	Hyalüronan	Sinovit, IL-I ve TNF- $\alpha$ stimülasyonu ile HA sentezi	□	?
Kırıkdağ	Tip-II-kollajen C propeptid	Kırıkdağın tip II kollajen sentezi	□	□
	Tip II kollajen $\alpha$ zincir fragmanları			
	Kırıkdağ oligomerik protein	Sentez ve/veya yıkım	?	□
	Kırıkdağ matriks protein	Sentez ve/veya yıkım	?	?
		Sadece eklem dışı kırıkdağda bulunur		
Proteoglikan agreganlar	Keratan sülfat	Agrekan yıkım/sentez	□	□
	Çekirdek protein	Yıkım	-	□
	Kondroitin sülfat epitoplari (846, 3B3)	Sentez	□	-
Kemik	Kemik siyaloprotein	Sentez/yıkım	?	?
	Osteokalsin	Sentez	□	□
	3-Hidroksipridinium (piridinolon deokspiridinolin)	Yıkım		
	çapraz bağlar		sadece	idrarda

Sinovyal sıvıda KS düzeyi serumdakininin 10 katıdır ve radyolojik olarak saptanan kıkırdak kitlesiyle ters orantılıdır (25). Serum KS düzeyinin hipertrofik osteoartritli hastalarda sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksek olduğu gösterilmiştir (22,26). Biyokimyasal belirleyicilerin serum konsantrasyonları yaş ve cinsiyetle etkilenir (27). 20-25 yaşlarında serum KS düzeyi normal sınırlardadır. Bir sonraki dekada %6-10 artış gösterir (28). OA'te serum KS düzeyinin tutulan eklem sayısı ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmektedir (22).

Son yıllarda yapılan çalışmalar OA'teki kıkırdak yıkımında dokuda yüksek oranda bulunan matriks metalloproteazlarının önemli rol oynadığını göstermiştir. OA'te eklemdeki düzeyi yükselen matriks metalloproteazlar kollajenaz, stromelisin ve jelatinazdır. Kollajenaz sağlam kollajenin, stromelisin proteoglikanların ve jelatinaz denature kollajenin yıkımından sorumludur (29). Kıkırdak için yıkıcı olan bu enzimlerin dengelenmesini sağlayan en azından iki inhibitörün varlığı gösterilmiştir. Bunlar doku inhibitör metalloproteinaz (TIMP) ve plazminojen aktivatör inhibitör-1 olarak tanımlanır (30-32). Özellikle OA'te artan stromelisin-1 kondrosit ve sinovyal hücreler tarafından üretilir (33). Ancak bu hücrelerin sayısı sinovyal dokuda kıkırdaktakinden daha fazladır. Dolayısıyla eklem sıvısındaki stromelisin-1'in esas üretim kaynağı sinovyumdur. Sinovyal sıvıda stromelisin, kollajenaz, jelatinaz ve doku inhibitör metalloproteinaz (TIMP) mevcut olmakla birlikte ölçümleri zordur. OA'te sinovyal sıvıda stromelisin ve TIMP'ın yükseldiği, kollajenaz-TIMP kompleks düzeyinin genellikle immunassay ile saptanabilen düzeyin aşağısında kaldığı gösterilmiştir (34-36). Lohmander (37) travmatik bir hasarlanmadan sonra diz eklemde stromelisin ve TIMP düzeylerinin uzun bir süre yüksek kaldığını göstermiştir.

Değişik çalışmalarda agrekan fragmanlarının, COMP fragmanlarının, matriks metalloproteazlarının ve inhibitörlerinin romatoid artrit, osteoartrit, reaktif artrit ve sağlıklı bireylerin diz eklemdeki konsantrasyonları arasında farklılık olduğu gösterilmiştir (34,38-40). Serum COMP düzeyi ile diz OA'nin progresyonu arasında pozitif ilişki olduğu gösterilmiştir (41).

Moleküler belirleyiciler hastalık varlığı veya yokluğunun yanısıra hastalık şiddetini ve derecesi-

ni değerlendirmek için de yararlı olurlar. Günümüzde OA'te hastalık şiddeti klinik olarak hastaların ağrı derecesi ve fonksiyonel bozukluğuyla, radyolojik olarak Kellgren Lawrens derecesiyle ve artroskopik olarak kıkırdak kaybının miktarıyla ölçülmektedir. Eklem hastalığının hangi basamakta olduğunu saptamada kıkırdak metabolizması ürünlerinin de tamamlayıcı bir rolü olduğunu bildiren çalışmalar yapılmıştır (14,42). Örneğin diz OA'li hastalarda serum hyalüronan düzeyinin OA progresyonunu gösteren bir belirleyici olabileceği bildirilmektedir (43). Hyalüronik asit (HA) sinovyal proliferasyonu gösteren bir belirleyicidir. Generalize osteoartritte serum HA düzeyi artar (23). Serum IL-6 ve TNF-a düzeyleri ile güçlü korelasyon gösteren ve OA'in geç evrelerinde belirginleşen HA, sinovyal hücre hiperaktivitesinin ölçütüdür. Tibio-femoral OA'te radyolojik progresyonun belirlenmesinde hastalık başlangıcındaki serum HA düzeyinin kullanılabilirliği önerilmektedir (44). Başka bir çalışmada da erken dönem diz OA'nde serum C-Reaktif Protein düzeyinde hafif bir artış olduğu ve bu proteinin de diz OA'ndeki progresyonu gösterebileceği bildirilmiştir (45). Olasılıkla bu artış eklemdeki doku hasarını yansıtmaktadır ve progresyonu göstermede serum hyalüronan düzeyindeki artış daha değerlidir (43). Bunun yanısıra diz OA'li hastalarda serum COMP 'deki artışın radyografik progresyonla paralel olduğu bildirilmektedir (41). COMP matür eklem kıkırdağında bulunmaz. İleri evre OA'li hastalarda sinovyal sıvıdaki COMP konsantrasyonunun romatoid artritli hastalarınkine kıyasla daha yüksek olduğu gösterilmiştir (46). Plazma metalloproteinaz-1 (MMP-1, kollajenaz), metalloproteinaz-3 (MMP-3, stromelisin) düzeylerinin romatoid artritteki kadar belirgin olmasa da OA'li hastalarda da artış gösterdiği bildirilmektedir (47).

Kollajen tip II sentezinin belirleyicisi olan karboksi-terminal tip II kollajenin eklem sıvısındaki düzeyi OA'li hastalarda sağlıklı bireylere kıyasla daha yüksektir ve hastalık progresyonuyla artış göstermektedir. Travmatik artritde artroskopi ile saptanan kıkırdak lezyonunun şiddeti ile sinovyal sıvıdaki karboksi-terminal tip II kollajen düzeyi arasında korelasyon olduğu saptanmıştır (48). OA'li eklem sıvısında tip II kollajenin C terminal propeptidi fibrilogenezde ayrılmaz ve diğer ma-

triks elemanları ile etkileşime girmez. Bu nedenle bu molekül onarım sürecini tanımlamak için potansiyel bir moleküldür (1). İdrarda kıkırdak ve kemik kaynaklı kollajen çapraz (piridinolin ve deoksipiridinolin) bağlarının ölçümü doku yıkımını ölçmede oldukça duyarlıdır (49). Piridinolin ve deoksipiridinolin sadece matür kollajende bulunmaktadır. Böylece bunların rölatif artışları kemik ve kıkırdak yıkımını içeren artropatinin farklı aşamalarını gösterebilir. İmmunassay kullanılarak yapılan son çalışmalarda OA'li hastaların serum örneklerinde kollajen çapraz bağlarının artış gösterdiği bildirilmektedir (50,51).

Moleküler belirleyiciler OA'te tedaviye cevabı izlemede, özellikle hastalık modifiye edici ilaçların klinik çalışmalarında duyarlı bir sonuç ölçümü olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu alandaki ileri araştırmalar OA mekanizmasının daha iyi anlaşılmasına yol açacak ve bu sürecin regülasyonu OA'in tedavi edilebilir hastalıklar grubuna girmesini sağlayabilecektir.

#### KAYNAKLAR

- Doherty M, Jones A, Cawston TE. Osteoarthritis. In: Maddison PJ, Isenberg DA, Woo P, Glass DN, eds. Oxford Textbook of Rheumatology. New York: Oxford University Press. 1998: 1515-155.
- Pelletier JP, Mertel-Pelletier J, Howell DS. Etiopathogenesis of osteoarthritis. In: Koopman WJ, ed. Arthritis and Allied Conditions. Baltimore: Williams and Wilkins. 1997:1969-984
- Bellamy N, Buchanan WW, Goldsmith CH, Cambell J, Stitt LW. Valididation study of WOMAC: a health status instrument for measuring clinically important patient relevant outcomes to antirheumatic drug therapy in patients with osteoarthritis of the hip or knee. J Rheumatol 1988;15:1833-40.
- Hodgson RJ, Barry MA, Carpenter TA, Hall L, Hazleman BL, Tyler JA. Magnetic resonance imaging protocol optimization for evaluaion of hyalin cartilage in the distal interphalangeal joint of fingers. Invest radiol 1995;30:522-31.
- Buckland-Wright JC. Quantitation of radiographic changes. In: Brandt KD, Doherty M, Lohmander LS (eds) Osteoarthritis. Oxford: Oxford University Press, 1998:459-72.
- Ayral X, Altman RD. Arthroscopic evaluation of knee articular cartilage. In: Brandt KD, Doherty M, Lohmander LS (eds) Osteoarthritis. Oxford: Oxford University Press, 1998:494-505.
- Myers S. Ultrasonography. In: Brandt KD, Doherty M, Lohmander LS (eds) Osteoarthritis. Oxford University Press, Oxford.1998:512-8.
- Schauwecker DS. Bone scintigraphy In: Brandt KD, Doherty M, Lohmander LS (eds) Osteoarthritis. Oxford University Press, Oxford.1998:506-11.
- Lohmander LS. Articular cartilage and osteoarthritis- The role of molecular markers to monitor breakdown, repair and disease. J Anat.1994;184:477-92.
- Peterfy CG. Magnetic resonance imaging. In: Brandt KD, Doherty M, Lohmander LS (eds) Osteoarthritis. Oxford University Press, Oxford.1998:473-94.
- Lohmander LS, Felson DT. Defining and validating the clinical role of molecular markers in osteoarthritis In: Brandt KD, Doherty M, Lohmander LS (eds) Osteoarthritis. Oxford University Press, Oxford.1998:519-30.
- Lohmander LS. Markers of cartilage metabolism in arthritis. A review. Acta Orthop Scand. 1991; 62:623-632.
- Poole AR. Immunochemical markers of joint inflammation, skeletal damage and repair; where are we now? Ann Rheum Dis 1994;53:3-5.
- DahkbergL, Ryd L, Heinegard D, Lohmander LS. Proteoglycan fragmnets in joint fluid-influence of arthrosis and inflammation. Acta Orthop Scand 1992;63:417-23.
- Wallis WJ, Simkin PA, Nelp WB. Protein traffic in human synovial effusions. Arthritis Reum 1987;30:57-63.
- Myers SL, O'Connor BL, Brandt KD. Accelerated clirence of albumin from the osteoarthritic knee: implications for interpretation of concentrations of cartilage markers in synovial fluid. J Rheumatol 1996;23:1744-48.
- Mok SS,Masuda K, Hauselmann HJ, Aydelotte MB, Thonar EJ-MA. Aggrecan synthesized by mature bovine chondrocytes suspended in alginate. Identification of two distinct metabolic matrix pools. J Biol Chem. 1994;269:33021-27.
- Laurent TC, Fraser RE. Hyalüronan. FASEB Journal 1992;6:2397-404.
- Roos H, Dahlberg L, Hoerrner LA, Lark MW, Thonar EJ-MA, Shinmei M, Lindquist U, Lohmander LS. Markers of cartilage matrix metabolism in human joint fluid and serum- the effect of exercise. Osteoarthritis Cartilage. 1995;3:7-14.
- Lohmander LS. What is the current status of biochemical markers in the diagnosis, prognosis and monitoring of osteoarthritis? Bailliere's Clin Rheum. 1997;11 (4):711-726.
- Thonar EJ, Lenz ME, Klintworth GK, Catterson B, Pachman LM, Glickman P, Katz R, Huff J, Kuettner KE. Quantification of keratan sulfate in blood as a marker of cartilage catabolism. Arthritis Rheum 1985;28:1367-76.
- Sweet MBE, Coelho A, Schnitzler CM, Schitzner T, Lenz ME, Jakin L, Kuettner KE, Thonar EJMA. Serum keratan sulphate levels in osteoarthritis patients. Arthritis Rheum. 1988;31:648-52.
- Thonar EJ, Masuda K, Lenz ME, Hauselmann HJ, Kuettner KE, Manicourt DH. Serum markers of systemic disease processes in osteoarthritis. J Rheumatol 1995;43:68-70.
- Ratcliffe A, Doherty M, Maimi RN, Hardingham TE. Increased levels of proteoglycans components in the synovial fluids of paients with acut but not chronic joint disease. Ann Rheum Dis 1988; 47: 826-32.

25. Campion GV, McCrae F, Schnitzer TJ, Lenz ME, Dieppe PA, Thonar EJMA. Levels of keratan sulfate in the serum and synovial fluid of patients with osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum* 1991;34:1254-9.
26. Thonar EJ, Schitzner T, Kuettner KE. Quantification of keratan sulphate in blood as a marker of cartilage catabolism. *J Rheumatol*.1987;14(suppl14):23-4.
27. Lohmander LS, Thonar EJ. Serum keratan sulfate concentrations are different in primary and posttraumatic osteoarthritis of the knee. *Trans Orthop Res Soc* 1994;19:459-63.
28. Thonar EJ, Shinmei M, Lohmander LS. Body fluid markers of cartilage changes in osteoarthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 1993;19:635-57.
29. Sandy JD, Flannery CR, Neame PJ, Lohmander LS. 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 interglobular domain. *J Clin Invest* 1992;89:1512-16.
30. Melamud CJ. The role of growth factors in cartilage metabolism. *Rheum Dis Clin North Am*. 1993;19:569-80.
31. Hardingham TE, Bayliss MT, Rayan V. Effect of growth factors and cytokines on proteoglycan turnover in articular cartilage. *Br J Rheumatol* 1992;31(suppl-1):1-6.
32. Morales T. Transforming growth factor-beta and insulin like growth factor-I restore proteoglycan metabolism of bovine articular cartilage after deletion retinoic acid. *Arch Biochem Biophys* 1994;315:190-8.
33. Wolfe GC, MacNaul KL, Buechel FF, McDonnell J, Hoerrner LA, Lark MW, Moore VL, Hutchinson NI. Differential in vivo expression of collagenase messenger RNA in synovium and cartilage. Quantitative comparison with stromelysin messenger RNA levels in human rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients and in two animal models of acute inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum*.1993;36:1540-7.
34. Lohmander LS, Hoerrner LA, Lark MV. Metalloproteinases, tissue inhibitor and proteoglycan fragments in knee synovial fluid in human osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1993;36:181-9.
35. Clark IM, Powell LK, Ramsey S, Hazleman BL, Cawston TE. The measurement of collagenase, tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP), and collagenase-TIMP complex in synovial fluids from patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1993;36:372-9.
36. Shinmei M, Inamori Y, Yoshihara Y, Kikuchi T, Hayakawa T. The potential of cartilage markers in joint fluid for drug evaluation. In: *Articular cartilage and osteoarthritis* ed K Kuettner Raven Pres, New York 1992:183-95.
37. Lohmander LS, Roos H, Dahlberg L, Hoerrner LA and Lark MW. Temporal patterns of stromelysin-1, tissue inhibitor, and proteoglycans fragments in human knee joint fluid after injury to the cruciate ligament or meniscus. *Journal of orthopaedic Research*. 1994;12:21-8.
38. Lohmander LS, Saxne T, Heinegard D. Release of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) into joint fluid after injury and osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 1994;53:8-13.
39. Petersson IF, Sanquist L, Svensson B, Saxne T. Cartilage markers in synovial fluid in symptomatic knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 1997;56:64-7.
40. Saxne T, Heinegard D, Wollheim FA. Cartilage proteoglycans in synovial fluid and serum in patients with inflammatory joint disease. *Arthritis Rheum* 1987;30:972-9.
41. Sharif M, Saxne T, Shepstone L, Kirwan JR, Elson CR, Heinegard D, Dieppe PA. Relationship between serum cartilage oligomeric matrix protein levels and disease progression in osteoarthritis of the knee joint. *Br J Rheumatol*. 1995; 34: 306-10.
42. Saxne T, Heinegard D. Synovial fluid analysis of two groups of proteoglycan epitopes distinguishes early and late cartilage lesions. *Arthritis Rheum* 1992;35:385-99.
43. Sharif M, George E, Shepstone L, Knudson W, Thonar EJ, Cushnagan J, Dieppe P. Serum hyaluronic acid level as a predictor of disease progression in osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum* 1995;38:760-7.
44. Sharma L, Hurwitz DE, Thonar EJ, Sum JA, Lenz, ME, Dunlop DD, Schnitzer TJ, Kirwan MG, Andriacchi TP. Knee adduction moment, serum hyaluronan level and disease severity in medial tibiofemoral osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1998;41(7):1233-40.
45. Spector TD, Hart DJ, Nandra D, Doyle DV, Mackillop N, Gallimore JR, Repys MB. Low-level increase in serum C-reactive protein are present in early osteoarthritis of the knee and predict progressive disease. *Arthritis Rheum* 1997;40:723-7.
46. Saxne T, Heinegard D. Cartilage oligomeric matrix protein. A novel marker of cartilage turnover detectable in synovial fluid and blood. *Br J Rheum* 1992;31:583-91.
47. Keyszer G, Iambiri I, Nagel R, Keyszer C, Keyszer M, Gromnica Ihle E, Franz J, Burmester GR, Jung K. Circulating levels of matrix metalloproteinases MMP-3 and MMP-1, tissue inhibitor of metalloproteinases 1 (TIMP-1), and MMP-1/TIMP-1 complex in rheumatoid disease. Correlation with clinical activity of rheumatoid arthritis versus other surrogate markers. *J Rheumatol* 1999;2:251-8.
48. Shinmei M, Kobayashi T, Yoshihara Y, Atsuyoshi S. Significance of the levels of carboxy terminal type II procollagen peptide, chondroitin sulfate isomers, tissue inhibitor of metalloproteinases and metalloproteinases in osteoarthritis joint fluid. *J Rheumatol* 1995; 22(suppl43):78-81.
49. Siebel MJ, Duncan A, Robins SP. Urinary hydroxypyridinium cross-links of collagen reflect cartilage and bone involvement rheumatic joint disease. *J Rheumatol* 1989;16:964-70.
50. Risteli J, Glorian I, Nierin S, Naramo A, Risteli L. Radioimmunoassay for the pyridinoline cross-linked C-terminal telopeptide of type I collagen. A new serum marker of bone collagen degradation. *Clinical Chemistry* 1993;39:635-40.
51. Robins SP, Woitge H, Hesley R, Ju J, Seyedin S, Siebel MJ. Direct enzyme-linked immunassay for urinary deoxypyridinoline as a specific marker for measuring bone resorption. *J Bone Miner Res* 1994;9:1643-9.

