

Przydatność oznaczania COMP i C2C w surowicy w późnym stadium choroby zwyrodnieniowej stawów

Usefulness of measurement of serum COMP and C2C level in end-stage osteoarthritis

Kinga Lis

Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, kierownik Katedry i Zakładu prof. dr hab. med. Grażyna Odrowąż-Sypniewska

Słowa kluczowe: COMP, C2C, chrząstka stawowa, choroba zwyrodnieniowa stawów.

Key words: COMP, C2C, articular cartilage, osteoarthritis.

Streszczenie

Celem pracy była ocena przydatności oznaczania stężenia oligomerycznego białka macierzy chrząstki (COMP) i produktów degradacji łańcucha kolagenu typu II (C2C) w diagnostyce choroby zwyrodnieniowej stawów.

Materiał i metody: Grupę badaną stanowiło 17 osób z chorobą zwyrodnieniową stawów w późnym stadium choroby. Grupę kontrolną stanowiło 10 zdrowych kobiet. W surowicy krwi żyłnej, pobranej w warunkach standardowych, oznaczono stężenie COMP i C2C. Badania laboratoryjne wykonano metodą immunoenzymatyczną ELISA.

Wyniki: Stężenie COMP w surowicy osób w zaawansowanym stadium choroby zwyrodnieniowej stawów było zamiennie niższe niż w surowicy osób zdrowych. Stężenie C2C w surowicy osób w zaawansowanym stadium choroby zwyrodnieniowej stawów było niezmiernie niższe niż w surowicy osób zdrowych. Stężenie COMP i C2C w surowicy było niezależne od wieku zarówno u osób chorych, jak i zdrowych. Analiza krzywej ROC dla COMP wskazuje na średnie własności różnicujące tego białka w przypadku późnego stadium choroby zwyrodnieniowej stawów. Analiza krzywej ROC dla C2C wskazuje na słabe własności różnicujące tego wskaźnika w przypadku późnego stadium choroby zwyrodnieniowej stawów.

Wnioski: Małe stężenia COMP i C2C w surowicy osób chorych sugerują znaczny ubytek chrząstki stawowej w zaawansowanym stadium choroby zwyrodnieniowej stawów. Wydaje się, że zastosowanie biochemicznych wskaźników choroby zwyrodnieniowej stawów, pochodzących z macierzy chrząstki stawowej, ma niewielką przydatność diagnostyczną w przypadku późnych zmian zwyrodnieniowych.

Summary

Background: The aim of the study was to evaluate the level of COMP and C2C in serum end-stage osteoarthritis patients.

Material and methods: 17 end-stage osteoarthritis patients and 10 healthy persons were included in the study. Serum level COMP and C2C were measured by ELISA technique.

Results: COMP concentration in the serum end-stage osteoarthritis patients was statistically significantly lower than in the controls. C2C concentration in the serum end-stage osteoarthritis patients was not significantly lower than in the controls. Serum COMP and C2C level were not independent of age of osteoarthritis patients and healthy persons. The ROC curve for COMP suggests that serum concentration of this protein has medium usefulness for diagnosis of end-stage osteoarthritis. The ROC curve for C2C suggests that serum concentration of this biochemical marker has weak usefulness for diagnosis of end-stage osteoarthritis.

Conclusions: Low concentration of COMP and C2C in serum of osteoarthritis patients may suggest significant degradation of articular cartilage in end-stage osteoarthritis. Serum COMP and C2C levels seem not to be useful biochemical markers for laboratory diagnostics and assessment of progression in end-stage osteoarthritis.

Adres do korespondencji:

dr med. Kinga Lis, Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, ul. M. Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz, tel. +48 52 585 40 46, faks +48 52 585 36 03, e-mail: kzlis@gazeta.pl

Praca wpłynęła: 21.11.2008 r.

Wstęp

Chrzątka stawowa jest istotnym elementem budowy układu kostno-stawowego. Jej prawidłowa struktura i funkcja mają podstawowe znaczenie dla normalnego funkcjonowania narządu ruchu człowieka. Uszkodzenia chrząstki stawowej w wyniku działania czynników fizycznych, zaburzeń w równowadze pomiędzy syntezą a degradacją chrząstki czy przewlekłych reakcji zapalnych prowadzą do upośledzenia czynności układu kostno-stawowego oraz mogą być przyczyną trwałego kalectwa [1].

Choroba zwyrodnieniowa stawów jest najczęściej występującą chorobą związaną z wiekiem oraz główną przyczyną kalectwa u ludzi powyżej 65. roku życia [2]. W schorzeniu tym dochodzi do nieprawidłowości procesów syntezy i degradacji chrząstki stawowej oraz warstwy podchrzęstnej kości [3]. Chorobę zwyrodnieniową stawów można podzielić na idiopatyczną, o nieznanym przyczynie, i wtórną, która powstaje w związku ze znaną przyczyną lub zaburzeniami zwiększającymi prawdopodobieństwo jej rozwoju [4].

Powszechność występowania choroby zwyrodnieniowej oraz wysokie koszty leczenia powodują, że jest ona coraz częściej uznawana za chorobę cywilizacyjną [5]. Prowadzone są liczne badania nad wskaźnikami biochemicznymi, użytecznymi w diagnostyce choroby zwyrodnieniowej stawów [6, 7]. Spośród grupy branych pod uwagę markerów szczególną uwagę zwraca się na wskaźniki powstające na skutek degradacji chrząstki stawowej. Pod uwagę brane są zarówno specyficzne białka uwalniane z jej macierzy (np. oligomeryczne białko macierzy chrząstki COMP), jak i produkty degradacji, typowego dla chrząstki, kolagenu typu II (np. CTx II i C2C) [6, 7].

Oznaczanie czułych i specyficznych wskaźników biochemicznych w surowicy może ułatwić diagnostykę choroby zwyrodnieniowej stawów, prowadząc do wcześniejszego jej rozpoznania. Może być również przydatne w różnicowaniu wczesnych i późnych zmian zwyrodnieniowych oraz monitorowaniu skuteczności leczenia i oceny postępu choroby.

Celem pracy była ocena przydatności oznaczania stężenia oligomerycznego białka macierzy chrząstki (COMP) i produktów degradacji łańcucha kolagenu typu II (C2C) w diagnostyce choroby zwyrodnieniowej stawów.

Materiał i metody

Grupę badaną stanowiło 17 osób z chorobą zwyrodnieniową stawów biodrowych lub kolanowych, w wieku 66 ± 7 lat, w tym 12 kobiet i 5 mężczyzn. Osoby te były zakwalifikowane do wszczęcia całkowitej

endoprotezy stawu z powodu zaawansowanych zmian zwyrodnieniowych.

Grupę kontrolną stanowiło 10 zdrowych kobiet, w wieku 61 ± 3 lata. W badaniu ankietywnym nie wykazano u tych kobiet żadnych dolegliwości ze strony układu kostno-stawowego oraz chorób o podłożu zapalnym.

Zbadano surowicę krwi żyłnej pobraną w sposób standardowy do suchych szklanych probówek zamkniętego systemu próżniowego Vacutainer (Becton Dickinson). Po pobraniu wykrzepioną krew odwirowano (10 minut, 3000 obrotów na minutę) w celu uzyskania surowicy. Próbkę surowicy przechowywano zamrożone w temperaturze -70°C do czasu wykonania oznaczeń.

W materiale badanym oznaczono stężenie oligomerycznego białka macierzy chrząstki (COMP) i produktów degradacji łańcucha kolagenu typu II (C2C). Badania wykonano w jednej serii, metodą immunoenzymatyczną ELISA z zastosowaniem gotowych zestawów testowych. Stężenie COMP zmierzono testem hCOMP Wielisa® Kit (WIESLAB). Do pomiaru stężenia C2C wykorzystano zestaw Collage Type II Cleavage (C2C) ELISA (IBEX). Pomiar absorbancji i przeliczenie stężeń wykonano za pomocą czytnika mikroplątek ELISA Lab Systems Muliscan RC z oprogramowaniem GENESIS.

Analizę statystyczną przeprowadzono nieparametrycznym testem U Manna-Whitneya. Zależności pomiędzy badanymi parametrami oceniono testem korelacji rang R Spearmana. W celu oceny przydatności diagnostycznej badanych wskaźników wykreślono krzywe ROC i obliczono pole pod krzywymi.

Wyniki

Wiek osób z grupy badanej i grupy kontrolnej był porównywalny (tab. I). U osób w zaawansowanym stadium choroby zwyrodnieniowej stawów zaobserwowano znacznie mniejsze stężenie białka COMP oraz znacznie mniejsze stężenie produktów degradacji kolagenu typu II (C2C) w surowicy niż u osób zdrowych (tab. I).

W żadnej z grup nie zaobserwowano istotnych korelacji badanych wskaźników biochemicznych z wiekiem (tab. II).

Stężenia białka COMP oraz fragmentów C2C w surowicy osób chorych oraz osób zdrowych nie korelowały ze sobą w sposób statystycznie istotny (tab. III).

Pole pod krzywą ROC, wykreśloną dla oligomerycznego białka macierzy chrząstki COMP (ryc. 1), wynosiło 0,77, co wskazuje na średnie własności różnicujące tego testu w późnym stadium choroby zwyrodnieniowej stawów.

Pole pod krzywą ROC, wykreśloną dla fragmentów degradacji łańcuchów kolagenu typu II C2C, wynosiło 0,62, co wskazuje na słabe własności różnicujące te-

Tabela I. Wiek oraz stężenie COMP i C2C w surowicy osób z grupy badanej i kontrolnej
Table I. Age and serum level of COMP and C2C osteoarthritis patients and control

	Grupa badana (n = 17)		Grupa kontrolna (n = 10)		p ≤
	średnia	±SD	średnia	±SD	
wiek [lata]	66	7	61	3	NS*
COMP [μg/ml]	1,27	0,58	1,8	0,36	0,02
C2C [ng/ml]	14,78	4,17	18,06	6,19	NS*

*NS – nieistotne statystycznie

go testu w późnym stadium choroby zwyrodnieniowej stawów (ryc. 2).

Dyskusja

Choroba zwyrodnieniowa stawów jest uważana za najczęstszą chorobę stawów u ludzi dorosłych [8]. Choroba rozpoczyna się wolno i niepostrzeżenie, stopniowo prowadząc do przedwczesnego zużycia i zwyrodnienia tkanek tworzących staw oraz upośledzenia funkcji układu ruchu [5]. Choroba zwyrodnieniowa jest procesem przebiegającym ze stopniową degeneracją i utratą macierzy chrząstki, któremu towarzyszy sklerotyzacja warstwy podchrzęstnej kości, tworzenie osteofitów oraz zapalenie błony maziowej [9].

Diagnostyka choroby zwyrodnieniowej stawów ogranicza się zazwyczaj do badania podmiotowego i przedmiotowego, ze szczególnym uwzględnieniem ruchomości czynnej i biernej w stawach, stanu mięśni i objawów neurologicznych, oraz wykonania zdjęć radiologicznych [10]. W zaawansowanym stadium choroby zwyrodnieniowej metody te mają znaczną przydatność diagnostyczną. Prowadzone są jednak badania

Tabela II. Korelacja stężenia COMP i C2C z wiekiem osób z grupy badanej i kontrolnej
Table II. Correlation between COMP and C2C concentration and age osteoarthritis patients and control

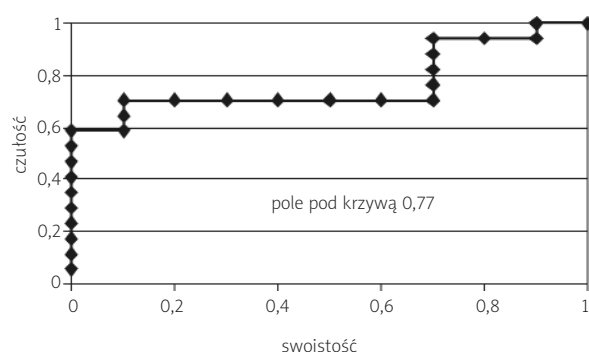
	Grupa badana		Grupa kontrolna	
	wiek			
COMP	R = 0,41	p NS*	R = 0,13	p NS*
C2C	R = 0,17	p NS*	R = -0,23	p NS*

*NS – nieistotne statystycznie

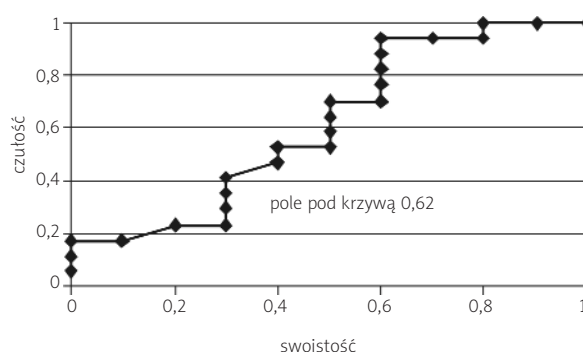
Tabela III. Korelacja pomiędzy stężeniami COMP i C2C w surowicy osób z grupy badanej i kontrolnej
Table III. Correlation between serum levels COMP and C2C osteoarthritis patients and control

	Grupa badana		Grupa kontrolna	
	C2C			
COMP	R = 0,04	p NS*	R = -0,41	p NS*

*NS – nieistotne statystycznie



Ryc. 1. Krzywa ROC dla stężenia COMP w późnym stadium choroby zwyrodnieniowej stawów.
Fig. 1. ROC curve for serum COMP level in end-stage of osteoarthritis.



Ryc. 2. Krzywa ROC dla stężenia C2C w późnym stadium choroby zwyrodnieniowej stawów.
Fig. 2. ROC curve for serum C2C level in end-stage of osteoarthritis.

nad biochemicznymi wskaźnikami choroby zwyrodnieniowej stawów, które pozwalałyby na wczesne wykrywanie zmian degeneracyjnych chrząstki stawowej oraz obserwowanie dynamiki postępu choroby [11, 12].

Z licznych badań wynika, iż białko COMP jest przydatnym i ważnym biochemicznym wskaźnikiem choroby zwyrodnieniowej stawów [11–20]. Podkreślono jednak, że nie powinien być on stosowany jako pojedynczy test, ale w połączeniu z innymi wskaźnikami [6, 7, 21, 22]. Wydaje się, że oznaczanie białka COMP w surowicy ma jednak istotne znaczenie jedynie we wczesnej fazie choroby [15, 23]. Późny etap choroby zwyrodnieniowej stawów charakteryzuje się bowiem znacznym lub nawet całkowitym ubytkiem chrząstki [24–26]. Stężenie białka COMP w surowicy we wczesnych etapach choroby zwyrodnieniowej prawdopodobnie się zwiększa, osiągając pewien stały poziom, na którym utrzymuje się przez jakiś czas. Gdy ubytek chrząstki jest znaczny, dochodzi do wyczerpania możliwości chrząstki do uwalniania białek macierzy. Obserwuje się wówczas postępujące obniżenie stężenia białka COMP w surowicy [27]. Taka dynamika zmian stężenia oligomerycznego białka chrząstki w surowicy pacjentów z chorobą zwyrodnieniową stawów tłumaczy mniejsze stężenie COMP w surowicy osób chorych w porównaniu ze zdrowymi, co zaobserwowano w niniejszej pracy.

Wcześniejsze badania autorki i wsp. [28] wykazały, iż oznaczanie białka COMP w surowicy w zaawansowanym stadium choroby nie ma istotnej wartości diagnostycznej. Przeprowadzona w niniejszej pracy analiza krzywej ROC dla białka COMP i powierzchnia pola pod krzywą pozwalają uznać ten test za mało przydatny do diagnostyki zmian zwyrodnieniowych w stawach w późnym stadium choroby zwyrodnieniowej.

W przebiegu choroby zwyrodnieniowej stawów do płynów ustrojowych uwalniane są produkty trawienia kolagenu typu II przez kolagenazy, w tym fragmenty C2C [29]. Badania prowadzone przez Conrozier i wsp. [30] oraz inne zespoły [31–33] wykazały silną korelację pomiędzy poziomem C2C a zwężeniem szpary stawowej u pacjentów z chorobą zwyrodnieniową stawów.

Wyniki niniejszej pracy sugerują jednak, że tak jak i w przypadku białka COMP, w późnej fazie choroby zwyrodnieniowej stawów prawdopodobnie dochodzi do zmniejszenia stężenia produktów degradacji kolagenu chrząstki, będącego skutkiem znacznego jej ubytku. W schyłkowej postaci choroby zwyrodnieniowej zaobserwowano bowiem mniejsze stężenie fragmentów C2C w surowicy osób chorych w porównaniu ze zdrowymi. Także wg Elsaid i wsp. [34] produkty degradacji kolagenu są dobrym wskaźnikiem biochemicznym postępu zmian degeneracyjnych jedynie we wczesnych etapach choroby zwyrodnieniowej. Zdaniem niektórych

autorów [35, 36] stężenie C2C nie koreluje z postępującym zwężaniem się szpary stawowej w przebiegu choroby zwyrodnieniowej, a więc jest nieprzydatne w prognozowaniu tempa degradacji stawów.

Niewielką przydatność diagnostyczną oznaczania stężenia C2C w surowicy w późnej fazie choroby zwyrodnieniowej stawów potwierdza także przeprowadzona w diskutowanej pracy analiza krzywej ROC i powierzchnia pola pod krzywą.

Późny etap choroby zwyrodnieniowej stawów jest związany ze znacznym stopniem degradacji chrząstki stawowej bądź całkowitym jej zanikiem. Według Garnera [27] znaczny ubytek chrząstki może powodować niskie stężenia oznaczanych substancji i stwarzać znaczne trudności w interpretacji wyników badań. Małe stężenie COMP oraz C2C w surowicy może być w tym przypadku mylnie uznane za dobry prognostycznie wskaźnik postępu choroby, sugerujący ograniczenie postępu zmian zwyrodnieniowych.

Wnioski

Późny etap choroby zwyrodnieniowej stawów, z jakim spotykamy się u osób zakwalifikowanych do operacji wszczepienia całkowitej endoprotezy stawu, wiąże się ze znacznym lub nawet całkowitym ubytkiem chrząstki stawowej, na co wskazują małe stężenia produktów jej degradacji w surowicy osób chorych w porównaniu z obserwowanymi u osób zdrowych.

Ocena krzywych ROC sugeruje, że zastosowanie biochemicznych wskaźników choroby zwyrodnieniowej stawów, pochodzących z macierzy chrząstki stawowej, ma prawdopodobnie niewielką przydatność diagnostyczną w przypadku późnych zmian zwyrodnieniowych.

Piśmiennictwo

1. Malejczyk J. Regulacja odtwarzania i niszczenia macierzy chrząstki stawowej. *Terapia* 1997; 5: 46-48.
2. Pazdur J. Zapalne i immunologiczne aspekty choroby zwyrodnieniowej stawów. *Terapia* 2003; 11: 24-25.
3. Klimiuk PA, Sierakowski S, Kita K i wsp. Leczenie choroby zwyrodnieniowej stawów. *Nowa Medycyna* 2002; 9: 37-43.
4. Samborski W. Patogeneza choroby zwyrodnieniowej stawów – nowe metody leczenia i miejsce fizjoterapii. *Balneologia Polska* 2001; 43: 9-16.
5. Szczęsny G. Patomechanizm powstawania zmian zwyrodnieniowych stawów. *Ortop Traum Reh* 2002; 4: 222-229.
6. Otterness IG, Swindell AC, Zimmerer RO, et al. An analysis of 14 molecular markers for monitoring osteoarthritis: segregation of the markers into clusters and distinguishing osteoarthritis at baseline. *Osteoarthritis Cartilage* 2000; 8: 180-185.
7. Young-Min SA, Cawston TE, Griffiths ID. Markers of joint destruction: principles, problems, and potential. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 545-548.

8. Targońska-Stepniak B. Otyłość a choroba zwyrodnieniowa stawów. *Reumatologia* 2003; 41: 366-370.
9. Pelletier JP, Martel-Pelletier J. Therapeutic targets in osteoarthritis: from today to tomorrow with new imaging technology. *Ann Rheum Dis* 2003; 62 Suppl 2: ii79-82.
10. Głuszko P. Osteoartroza – najczęstsza choroba stawów. *Gerontologia Polska* 2003; 11: 3-8.
11. Christgau S, Cloos P. Cartilage degradation products as markers for evaluation of patients with rheumatic disease. *Clin App Immunol Rev* 2004; 4: 277-294.
12. Clark AG, Jordan JM, Vilim V, et al. Serum cartilage oligomeric matrix protein reflects osteoarthritis presence and severity: the Johnston County Osteoarthritis Project. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 2356-2364.
13. Jordan JM, Luta G, Stabler T, et al. Ethnic and sex differences in serum levels of cartilage oligomeric matrix protein: the Johnston County Osteoarthritis Project. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 675-81.
14. Roughley PJ, El-Maadawy S. The use of biochemical markers of bone and cartilage metabolism to monitor osteoarthritis – dreams and reality. *J Rheumatol* 2003; 30: 910-913.
15. Vilim V, Olejárová M, Macháček S, et al. Serum levels of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) correlate with radiographic progression of knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2002; 10: 707-713.
16. Garnero P, Piperno M, Gineyts E, et al. 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: 619-626.
17. Bruyere O, Collette JH, Ethgen O, et al. Biochemical markers of bone and cartilage remodeling in prediction of longterm knee osteoarthritis. *J Rheumatol* 2003; 30: 1043-1050.
18. Wisłowska M, Jabłońska B. Serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in rheumatoid arthritis and knee osteoarthritis. *Clin Rheumatol* 2005; 24: 278-284.
19. Wisłowska M, Jabłońska B. Cartilage Oligomeric Matrix Protein (COMP) w chorobach narządu ruchu. *Reumatologia* 2004; 42: 573-579.
20. Vilim V, Vytásek R, Olejárová M, et al. Serum cartilage oligomeric matrix protein reflects the presence of clinically diagnosed synovitis in patients with knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2001; 9: 612-618.
21. Felson DT. An update on the pathogenesis and epidemiology of osteoarthritis. *Radiol Clin North Am* 2004; 42: 1-9.
22. Lohmander LS, Felson D. Can we identify a “high risk” patient profile to determine who will experience rapid progression of osteoarthritis? *Osteoarthritis Cartilage* 2004; 12 Suppl A: S49-S52.
23. Wollheim FA. Early stages of osteoarthritis: the search for sensitive predictors. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 1031-1032.
24. Buckwalter JA, Martin J. Choroba zwyrodnieniowa stawów. *Clinical Symposia* 1995; 47: 1-32.
25. Chitnavis J, Sinsheimer JS, Suchard MA, et al. End-stage coxarthrosis and gonarthrosis. Aetiology, clinical patterns and radiological features of idiopathic osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2000; 39: 612-619.
26. Imhof H, Czerny C, Gahleitner A, et al. Koxarthrose, Hüftgelenk. *Radiologie* 2002; 42: 416-431.
27. Garnero P. Osteoarthritis: biological markers for the future? *Joint Bone Spine* 2002; 69: 525-530.
28. Lis K, Odrowąż-Sypniewska G, Biliński P i wsp. Oligomeryczne białko macierzy chrząstki (COMP) i glikoproteina YKL-40 jako markery degradacji chrząstki i procesu zapalnego w chorobie zwyrodnieniowej stawu biodrowego. *Diagnostyka Laboratoryjna* 2003; 39: 133-141.
29. Poole AR, Ionescu M, Fitzcharles MA, Billingham RC. The assessment of cartilage degradation in vivo: development of an immunoassay for the measurement in body fluids of type II collagen cleaved by collagenases. *J Immunol Methods* 2004; 294: 145-153.
30. Conrozier T, Ferrand F, Vignon E, et al. Relationship between serum biomarkers of type II collagen (C2C, C1, 2C and CP II) and radiological patterns in patient with hip osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2005; 5: 38-41.
31. King KB, Lindsey CT, Dunn TC, et al. A study of the relationship between molecular biomarkers of joint degeneration and the magnetic resonance-measured characteristics of cartilage in 16 symptomatic knees. *Magn Reson Imaging* 2004; 22: 1117-1123.
32. Bijlsma JW, Lefeber FP. Radiographic joint damage in rheumatoid arthritis is associated with differences in cartilage turnover and can be predicted by serum biomarkers: an evaluation from 1 to 4 years after diagnosis. *Arthritis Res Ther* 2006; 8: R31-R32.
33. Haima P. Biochemical markers for the management of rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Clinical and Technical Monograph* 2002; dostępne na: http://www.teco-medical.ch/downloads/pdf/Cartilage_MONO_e.pdf
34. Elsaid KA, Chichester CO. Review: Collagen markers in early arthritic diseases. *Clin Chim Acta* 2006; 365: 68-77.
35. Mazza SA, Poole AR, Brandt KD, et al. Associations between joint space narrowing and molecular markers of collagen and proteoglycan turnover in patients with knee osteoarthritis. *J Rheumatol* 2006; 33: 1147-1151.
36. Cahue S, Sharma L, Dunlop D, et al. The ratio of type II collagen breakdown to synthesis and its relationship with the progression of knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2007; 15: 819-823.