

СТРУКТУРА ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВ СУСТАВНОГО ХРЯЩА У БОЛЬНЫХ ОСТЕОАРТРОЗОМ: ВЛИЯНИЕ ТОПОГРАФИИ КОЛЕННОГО СУСТАВА

Татьяна Васильевна РУСОВА, Владислав Сергеевич БАИТОВ

ФГБУ Новосибирский НИИ ортопедии и травматологии Минздрава России
630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17

Исследовали качественный и количественный состав гликозаминогликанов (ГАГ) хряща в разных топографических зонах коленного сустава больных остеоартрозом III стадии (11 человек в возрасте 65–75 лет). Общее количество ГАГ низкое в зоне дегенерированного хряща, высокое – в зонах интактного хряща и остеофитов. В дегенерированном хряще преобладает кератансульфат, гетерогенный по размеру цепей. Отношение содержания хондроитинсульфата и кератансульфата в хряще остеофитов высокое, свойственное новообразованному хрящу. В дегенерированном хряще очень низкое соотношение концентраций сульфатированных гликозаминогликанов и уроновых кислот, что предполагает нарушение сульфатирования цепей ГАГ. В топографически разных зонах дегенерированного хряща и хряща с низкой биомеханической нагрузкой накапливаются продукты гликирования белков. В коленном суставе пожилых пациентов с остеоартрозом в зонах дегенерированного и интактного хряща обмен и структура ГАГ существенно различаются, что можно объяснить изменением фенотипа хондроцитов. Биомеханическая нагрузка провоцирует развитие дегенеративного процесса.

Ключевые слова: гликозаминогликаны, хрящ, коленный сустав, остеоартроз.

Остеоартроз – дегенеративное заболевание коленного сустава с различной степенью тяжести, которое помимо разрушения и перерождения ткани включает формирование новых хрящей, покрывающих растущие по периферии сустава остеофиты.

Нормальный суставной хрящ обеспечивает гладкую опорную и амортизирующую поверхность для подвижных концов длинных трубчатых костей. Тканеспецифичность хряща определяют молекулы протеогликанов (ПГ) [1, 2], которые заключены в фибриллярную сеть коллагена. Макромолекулы ПГ состоят из полианионных цепей полисахаридов (гликозаминогликанов, ГАГ) – хондроитинсульфатов (ХС) и кератансульфата (КС), ковалентно связанных с центральной нитью белка (кором). Высокий отрицательный заряд ГАГ создает во внеклеточном матриксе большое электрическое поле, которое регулирует потоки интерстициальной жидкости, активность сигнальных веществ (цитокинов, факторов роста), связывая их во внеклеточном матриксе и определяя их взаимодействие с клеткой во времени и пространстве [1, 3, 4].

Известно, что при развитии остеоартроза уже на начальных стадиях снижается общее со-

держание ГАГ, впоследствии меняется соотношение разных видов ХС – увеличивается содержание ХС, содержащих сульфатную группу у 6-го углеродного атома кольца галактозы, в отличие от хондроитин-4-сульфата [2, 4]. Но пока структура хряща в разных локальных зонах коленного сустава в условиях прогрессирующих дегенеративных изменений исследована мало. Поэтому сравнение качественных и количественных изменений ГАГ в разных топографических зонах коленного сустава, испытывающих разную нагрузку, и с разными проявлениями выраженности дегенеративного процесса было целью данного исследования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследовали образцы хряща из разных топографических зон коленного сустава (рис. 1) больных идиопатическим остеоартрозом III степени с варусной деформацией (11 человек в возрасте от 65 до 75 лет), забранные во время операции эндопротезирования коленного сустава: зона 1 – задний край внутреннего мыщелка бедра; зона 2 – латеральный мыщелок большой берцовой кости; зона 3 – медиальный мыщелок большой берцовой кости; зона 4 – поверхность

Русова Т.В. – к.б.н., старший научный сотрудник лабораторно-экспериментального отдела,
e-mail: galarusova@gmail.ru

Байтов В.С. – старший научный сотрудник отделения эндопротезирования, e-mail: VBaitov@1.st.ru

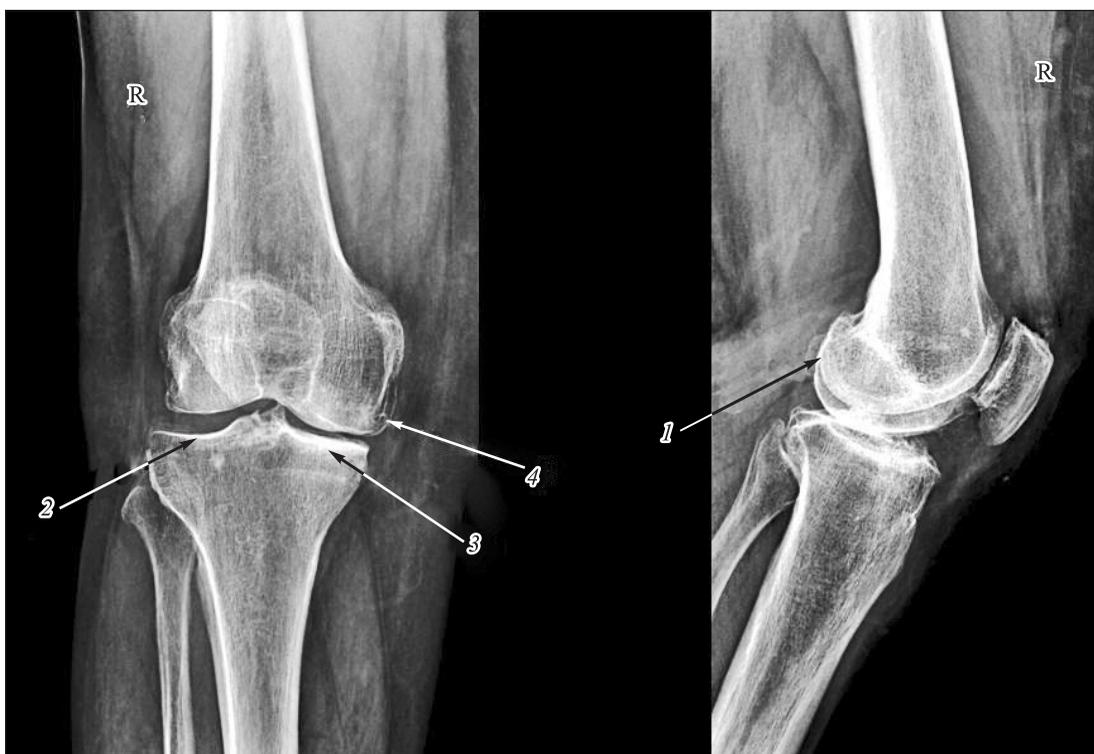


Рис. 1. Схематическое изображение топографических зон коленного сустава.

1 – задний край внутреннего мыщелка бедра (интактный хрящ); 2 – латеральный мыщелок большой берцовой кости (мало нагружаемый хрящ); 3 – медиальный мыщелок большой берцовой кости (дегенерированный хрящ); 4 – поверхность остеофитов

остеофитов. Результаты сравнивали с образцами хряща с мыщелков бедра без признаков остеоартроза, взятых посмертно (45, 50 лет).

Содержание воды в ткани хряща определяли высущиванием до постоянного веса и выражали в процентах от первоначального веса ткани. Гликозаминогликаны выделяли двумя методами.

1. После обработки хряща раствором папаина с добавлением 0,01 М ЭДТА и 0,005 М цистеина в буфере 0,2 М ацетата натрия, рН 5,8 (60 °С, 18 часов, 0,2 мг папаина на 1 г сырой ткани) выделяли общие ГАГ хряща с последующей очисткой ионообменной хроматографией на сефадексе ДЕАЕ А-25 [6].

2. Диссоциативным экстрагированием 4 М гуанидинхлоридом в 50 мМ ацетатном буфере рН 5,8 в присутствии ингибиторов выделяли протеогликаны. ГАГ отделяли от белкового ко́ра обработкой раствора протеогликанов боргидридом натрия (0,15 М NaBH_4 /10М NaOH в соотношении 10:1 при 60 °С 4 часа), очищали хроматографией на ионообменной смоле ДЕАЕ А-25.

Количество ГАГ определяли по содержанию химических структурных единиц: уоновых кислот (общепринятый метод с карбазолом),

сульфатных групп с 1,9-диметилметиленовым голубым (стандарт – ХС-С) и гексоз (антроновый метод, стандарт – галактоза). Содержание рассчитывали в микрограммах стандартного вещества на миллиграмм сухого веса ткани. Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего арифметического значения (m), и представляли в виде $M \pm m$. Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента, достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

Отдельные виды ГАГ идентифицировали с помощью горизонтального электрофореза в 1%-м геле агарозы толщиной 2 мм на пластине 5 × 10 см в 50 мМ буфере ацетата бария, рН 8,0 (4 °С, 1 час, 10 В/см) и после обработки специфическими ферментами. Для этого образцы ГАГ предварительно обрабатывали хондроитин-АС- и хондроитин-АВС-лиазами (20 мМ трис-буфер, рН 7,5), кератаназой (20 мМ трис-буфер, рН 7,4), гепаран-1-лиазой (50 мМ ацетат натрия, 50 мМ ацетат кальция, рН 7,0) при 37 °С в течение 18 часов. После окончания электрофореза гель окрашивали 0,1%-м раствором азура А в смеси 10 мМ формиата натрия и 10 мМ хлорис-

того магния. Избыток красителя отмывали 10 мМ раствором ацетата натрия, рН 5,8. В качестве маркеров использовали хондроитинсульфаты А, В, С, кератансульфат и гепарансульфат. Природу ГАГ определяли по исчезновению полосы или пятна в геле в зависимости от используемого фермента [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На примере одного коленного сустава провели сравнительное исследование содержания общего количества ГАГ в хряще, находящегося в разных состояниях – интактном, в стадии разрушения и новообразования и испытывающего разную биомеханическую нагрузку (см. рис. 1). В зонах 1 и 2 находится зрелый нефиброзированный бесцветный суставной хрящ, в зоне 3 – тонкая полоска истонченного хряща, расположенного в непосредственной близости от места полного разрушения хряща. Хрящ остеоцитов бледно-розовый, новообразованный, гиалиновый. В зоне 1 хрящ практически не подвергается биомеханической нагрузке, хрящ зоны 2 вследствие варусной деформации нагружается мало. Сохранившийся хрящ зоны 3 испытывает максимальную нагрузку. Учитывая разнообразие состава ГАГ в разных зонах, их тестировали несколькими аналитическими методами. Так, уроновые кислоты присутствуют в структуре хондроитинсульфатов (ХС-АС), гексозы (галактоза) – в структуре кератансульфата (КС) и нейтральных полисахаридов. Сульфатные группы присутствуют практически во всех видах ГАГ и позволяют определить их общее количество (сульфатированные ГАГ, Сгаг). Полученные данные количественного анализа разных химических составляющих ГАГ в ткани хряща представлены в табл. 1.

Содержание воды в разных зонах хряща варьирует. В остеоцитах оно не отличается от

нормальных значений, в зоне максимального разрушения хряща – низкое. В зонах 1 и 2 (интактный и мало нагружаемый хрящ) значения совпадающие, но ниже нормального уровня, что отражает влияние возраста и биомеханической нагрузки на хрящ. В зоне 2 высокое содержание воды сохраняется на фоне явной тенденции уменьшения концентрации ГАГ, что может быть связано с изменением структуры сети коллагена в зоне 2 под влиянием биомеханических нагрузок. В других зонах (1, 3, 4) уровень сохраняемой воды в ткани прямо пропорционален содержанию ГАГ.

Содержание Сгаг во всех зонах хряща снижено относительно контроля и различно в отдельных зонах. В нативном хряще (зона 1) и остеоцитах оно практически одинаково, в зоне 3 (дегенерированный хрящ) достоверно снижено (в 2,8 раза). В зоне 2 (мало нагружаемом хряще) существует тенденция к уменьшению относительно уровня нативного хряща (зона 1). Уроновых кислот (УК) в нативном хряще меньше, чем в остальных топографических зонах, их концентрация сравнима с уровнем в контрольной группе и остеоцитах. Известно, что высокое содержание ХС характерно для гиалинового хряща и молодых, растущих тканей [4, 5, 8]. В нашем исследовании даже у людей пожилого возраста с высокой стадией остеоартроза существуют участки ткани, соответствующие по структуре ГАГ нормальному гиалиновому хрящу, а хондроциты в отдельных зонах обладают синтетической активностью на достаточно высоком уровне для формирования хряща *de novo*.

Концентрация гексоз во всех топографических зонах (кроме остеоцитов) значительно выше, чем в контроле, особенно в мало нагружаемом (зона 2) и дегенерированном хряще (зона 3). При этом основное количество гексоз не связа-

Таблица 1

Содержание компонентов ГАГ, выделенных обработкой папаином, в хрящах разных топографических зон (мкг/мг сухой ткани) (n = 11)

Компонент ГАГ	Зона 1	Зона 2	Зона 3	Остеоцит	Контроль
Вода, %	70,6 ± 1,51	69,1 ± 3,87	58,8 ± 2,89*	77,0 ± 2,13	75,4 ± 3,06
Сгаг	55,2 ± 6,28	45,6 ± 5,21	19,4 ± 1,12*	58,5 ± 4,48	68,6 ± 8,14
УК	33,1 ± 3,06	22,4 ± 2,12*	23,4 ± 1,79*	28,2 ± 2,97	32,4 ± 5,05
Гексозы	65,4 ± 6,24	124,5 ± 17,6*	196,8 ± 10,2*	10,8 ± 0,98*	27,7 ± 7,84

Примечание. Здесь и в табл. 2 зона 1 – задний край внутреннего мышелка бедра (интактный хрящ); зона 2 – латеральный мышелок большой берцовой кости (мало нагружаемый хрящ); зона 3 – медиальный мышелок большой берцовой кости (дегенерированный хрящ); контроль – контрольный интактный хрящ; * – отличие от величины соответствующего показателя в контроле статистически значимо при $p < 0,05$.

Таблица 2

Содержание компонентов ГАГ, выделенных диссоциативным экстрагированием, в хрящах разных топографических зон (мкг/мг сухой ткани)

Компонент ГАГ	Зона 1	Зона 2	Зона 3	Остеофит	Контроль
Сгаг	42,1 ± 3,25*	26,5 ± 3,01*	4,4 ± 0,56*	33,0 ± 2,01	51,2 ± 4,53
УК	18,5 ± 2,11	9,8 ± 1,02*	6,2 ± 0,56*	15,1 ± 0,98	23,5 ± 2,55
Галактоза	12,3 ± 0,65	6,5 ± 0,33*	10,2 ± 1,75	5,7 ± 0,12*	11,5 ± 0,89
Отношение содержания уроновых кислот и галактозы	1,50	1,51	0,60	2,76	2,04

но с ГАГ, что подтверждается ионно-обменной хроматографией ГАГ – до 80 % гексоз элюируется водой. Эти гексозы могут накапливаться вследствие активации процессов гликирования белков, который может быть инициирован неадекватной биомеханической нагрузкой [9, 10]. Известно, что такие нагрузки в начале процесса дегенерации повреждают ткань матрикса хряща или непосредственно, или опосредовано, через обменные процессы в хондроцитах, стимулируя экспрессию в клетках металлопротеаз, активируя производство свободных радикалов и окиси азота, снижая биосинтез ПГ и коллагена [4, 9, 10]. В результате из-за потери ПГ и разрушения коллагена сети снижается жесткость хряща и сопротивление ткани к сжимающим нагрузкам [1, 10]. Потеря ГАГ стимулирует гибель клеток в результате некроза, что впоследствии ускоряет процесс апоптоза [1, 8, 9]. В хондроцитах происходит перестройка метаболизма с последующим снижением восприимчивости к факторам роста, подавлению функции митохондрий и способности репарации ДНК, т. е. к «старению» клеток. Изменение свойств внеклеточного матрикса приводит к снижению способности ткани противостоять биомеханическим нагрузкам и/или к ее восстановлению после небольших травм, что запускает цепную реакцию генерации повреждений и дальнейшее прогрессирование болезни [1, 4, 10].

Следовательно, неадекватная биомеханическая нагрузка провоцирует целую цепь биохимических реакций, стимулируя изменение структуры матрикса хряща. Вероятно, накопление гексоз является относительно ранним проявлением метаболических перестроек в ткани.

Структура внеклеточного матрикса определяется наличием разнообразных ПГ, несущих разные виды ГАГ, отличающиеся размерами и количеством сульфатных групп [3, 4]. Поэтому представляют интерес результаты анализа ГАГ, принадлежащих основному пулу ПГ, находящихся во внеклеточном матриксе и выделяемых диссоциативным экстрагированием (табл. 2).

Сравнивая результаты, представленные в таблицах 1 и 2, надо отметить одинаковую тенденцию изменений содержания общих ГАГ и ГАГ, выделенных из ПГ, из разных зон коленного сустава и относительно контроля. Разница в количестве структурных компонентов ГАГ в двух таблицах характеризует значимые физиологические процессы в ткани с участием ПГ/ГАГ. Если из нативного и хряща контрольной группы диссоциирующими растворами можно выделить почти 75 % Сгаг, из зоны мало нагружаемого хряща – около 60 %, то из дегенерированного хряща – только 25 % общего количества ГАГ. Следовательно, функционирование ткани в условиях больших нагрузок и дегенерации стимулирует не только потерю ГАГ, но и формирование жесткого коллагенового каркаса. Функциональная морфология хряща тесно связано с количеством ГАГ. Жесткая сеть коллагена ограничивает экспансивный рост ткани при условии повышения содержания ГАГ, изменяя их содержание в хряще в экспериментальных условиях, можно менять фенотип роста хряща [8, 10], добиваясь либо экспансивного, либо интенсивного роста ткани, что можно использовать в клинической практике для регуляции его восстановления [11].

Кроме того, в дегенерированном хряще (зона 3) существенно меняются свойства цепей ГАГ – в них содержится меньше сульфатных групп. Об этом можно судить по снижению соотношения Сгаг/УК (см. табл. 2): если в норме и других топографических зонах оно ≥ 2 , то в дегенерированном хряще < 1 . Этот факт может отражать нарушение одного из важных посттрансляционных процессов формирования ПГ в момент элонгации цепей ГАГ – снижения присоединения остатков сульфата к цепям ГАГ. Судя по сообщениям из других лабораторий, подобные нарушения затрагивают преимущественно цепи ХС-АС [4, 10]. Фундаментальные биологические функции сульфатированных ГАГ как структурных элементов ПГ, расположенных во внеклеточном матриксе и на поверхности

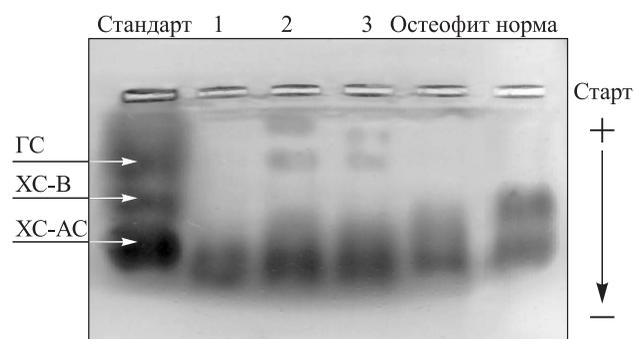


Рис. 2. Разделение ГАГ электрофорезом в геле 1%-й агарозы (50 мМ буфер ацетата бария, рН 8,0). Здесь и на рис. 3, 4 стандарт – смесь хондроитинсульфатов А, В, С и гепарансульфата (ГС). 1 – задний край внутреннего мыщелка бедра (интактный хрящ); 2 – латеральный мыщелок большой берцовой кости (мало нагружаемый хрящ); 3 – медиальный мыщелок большой берцовой кости (дегенерированный хрящ); остеофит; контрольный интактный хрящ

клеток, связаны с рецепторным аппаратом клеток и обеспечивают прохождение сигналов факторов роста и хемокинов [1, 8, 10]. Кроме того, такие ГАГ могут ингибировать активность протеолитических ферментов и других факторов, способствующих повреждению хрящевой ткани и смерти ХЦ. Снижение сульфатирования ГАГ изменяет структуру ПГ и их свойства, что приводит к нарушению нормальной физиологии ткани. Но сведения об этом процессе в хряще при дегенерации противоречивы: в некоторых исследованиях не обнаружили уменьшения сульфатирования ГАГ [12], в других, напротив, подтвердили их существование [13] и даже обосновано предполагают, что дефицит сульфатирования ГАГ является одной из причин развития остеоартроза у животных и человека, оказывая самое разнообразное влияние на обменные процессы в ткани.

Такая противоречивость связана с тем, что разные исследователи изучали метаболические процессы на разных этапах развития процесса дегенерации. На ранних этапах изменения хряща минимальны и отличаются от нормальных повышенной интенсивностью катаболизма и анаболизма. Но с развитием патологического процесса происходят глубокие изменения метаболизма в самих хондроцитах – меняется спектр синтезируемых ПГ/ГАГ и, в частности, снижается активность ферментов, сопряженных с посттрансляционным формированием сульфатированных ГАГ. Наши результаты указывают на такую возможность, демонстрируя разное качество ГАГ в разных топографических зонах.

Присутствие низкосульфатированных ГАГ, которые легко разрушаются в ткани, необходимо, поскольку такой хондроитин незаменим в морфогенезе и делении клеток, оказывая стимулирующее действие на митотический потенциал хондроцитов [14].

Содержание галактозы в ГАГ связано с уровнем КС, количество которого в хряще увеличивается с возрастом и в процессе дегенерации [2, 4, 5, 14]. Исходя из соотношения галактозы и УК, классического компонента ХС (см. табл. 2), можно предположить, что в хрящах разных топографических зон и контрольной группы преобладают ХС, тогда как в дегенерированном хряще может находиться значительное количество КС. В остеофитах гексозы присутствуют в следовых количествах, что характерно для молодого новообразованного хряща, в котором преобладают ХС.

Для точной идентификации типов ГАГ в хрящах разных топографических зон мы исследовали их качественный состав электрофорезом в геле агарозы до и после обработки специфическими ферментами (рис. 2), как указано ранее. ГАГ (ХС и ДС) хрящей топографических зон 1, 2 и 3 дальше уходят от старта и хуже разделяются, чем ГАГ контрольных образцов, остеофитов и стандартов (см. рис. 2). Это можно объяснить укорочением их цепей и снижением плотности заряда в этих цепях. Во всех хрящах содержатся ХС-АС и ДС в значительном количестве. В хрящах зон 2 и 3 хорошо видны полосы возле старта. Это ГАГ, имеющие либо более значительную длину цепей, чем ХС/ДС, либо иную величину заряда. Их природу можно определить только после обработки специфическими ферментами. Удаление ХС-АС (рис. 3) выявляет полосы ДС (ХС-В), которые в хрящах зон 2 и 3 дальше уходят от старта, чем ДС из

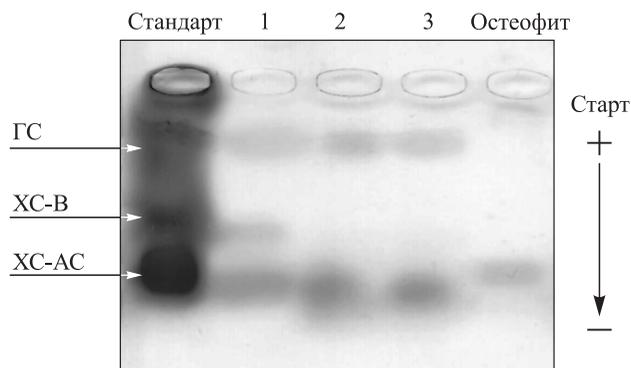


Рис. 3. Разделение ГАГ электрофорезом в геле 1%-й агарозы (50 мМ буфер ацетата бария, рН 8,0) после обработки хондроитиназой АС (20 мМ трис-буфер, рН 7,5)

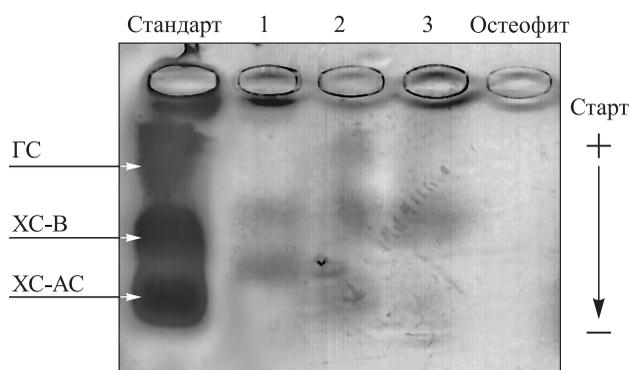


Рис. 4. Разделение ГАГ электрофорезом в геле 1%-й агарозы (50 мМ буфер ацетата бария, pH 8,0) после обработки хондроитиназой АВС (20 мМ трис-буфер, pH 7,5)

зоны 1 и остеофитов. Во всех зонах сохраняются «тяжелые» ГАГ – их полосы видны возле старта, а в нативном хряще хорошо видна полоса КС. В ГАГ из хряща остеофитов обнаружен только ДС.

Дальнейшее разрушение хондроитинсульфатов хондроитиназой АВС позволяет определить присутствие КС (рис. 4). В хряще остеофитов после такой обработки ГАГ не обнаружено каких-либо полос, это свидетельствует о наличии в хряще только ХС-АС и ДС, что типично для молодого суставного хряща. Неодинаковое распределение полос ГАГ в геле агарозы (зоны 1, 2, 3) допускает двоякое толкование: либо это цепи КС разного размера, либо возможно присутствие гепарансульфата. Последующая обработка смеси ГАГ гепариназой не изменило картину распределения ГАГ, показанную на рис. 4. А после обработки кератаназой мы не обнаружили видимых следов ГАГ. Таким образом, в тканях хряща интактного, мало нагружаемого и дегенерированного мы обнаружили присутствие цепей КС, отличающихся размерами. Такое разнообразие цепей КС может быть связано с их принадлежностью разным молекулам ПГ. В мало нагружаемом и дегенерированном хряще цепи КС более гетерогенны, чем в интактном (см. рис. 4). Появление «легких» цепей можно отнести за счет разрушения кератансульфатов, но появление «тяжелых» цепей можно объяснить лишь особенностью синтетических процессов в резидентных клетках, отличных от тех, что протекают в интактном хряще. Вполне возможно, что подобная синтетическая активность связана с изменением фенотипа клеток по мере развития дегенерации [1, 8, 14, 15].

Таким образом, в едином коленном суставе пожилых людей с остеоартрозом метаболические процессы, определяющие структуру

ГАГ, зависят от зоны расположения хряща и биомеханической нагрузки в данной области. При дегенеративных изменениях происходят количественные, качественные и структурные изменения ГАГ. Существенно снижается их общее количество. Нарушаются внутриклеточные процессы формирования ГАГ, выражающиеся в укорочении длины цепей и нарушении присоединения сульфатных групп, появляются гетерогенные по размерам цепи КС. В ткани значительно возрастает количество полимеров из нейтральных гексоз. Возможно, эти изменения отражают смену фенотипа резидентных хондроцитов. Следовательно, дегенерация ткани не является экстраполяцией процессов в интактном хряще, связанных с возрастом, но обусловлена глубокой перестройкой фенотипа резидентных клеток, которые формируют иной, отличный от интактного, тип ткани.

ВЫВОДЫ

1. В коленном суставе пожилых людей с III стадией остеоартроза в разных топографических зонах суставной хрящ имеет различную структуру, соответствующую интактному, новообразованному и дегенерированному хрящу, что отражается в характеристиках гликозаминогликанов.
2. Структура ГАГ, существующая в интактном и дегенеративно измененном хряще, свидетельствует о различии метаболических процессов в резидентных клетках, отражающих смену фенотипа клетками патологической зоны.
3. Биомеханическая нагрузка провоцирует возникновение дегенеративных изменений, проявляющихся в снижении количества ГАГ, модификации их свойств и появлении гетерогенных цепей кератансульфата.
4. Возникновение остеофитов, покрытых новообразованным хрящом, в котором преобладает хондроитинсульфат АВ, свидетельствует о большом синтетическом потенциале клеток суставного хряща у пожилых людей.
5. Процессы в хряще разных топографических зон коленного сустава могут служить моделью для исследования возрастных и патологических процессов в хрящевой ткани.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kurz B., Lemke A.K., Fay J. et al. Pathomechanisms of cartilage destruction by mechanical injury // *Ann. Anat.* 2005. 187. 473–485.
2. Katta J., Stapleton T., Ingham E. et al. The effect of glycosaminoglycan depletion on the friction and deformation of articular cartilage // *J. Engin. Med.* 2008. 2. 1–11.

3. Roughley P.J. The structure and function of cartilage proteoglycans // *Eur. Cells Mat.* 2006. 12. 92–101.
4. Glade M.J. Composition of articular cartilage and the biochemical and physiologic roles of *N*-acetyl-D-glucosamine and D-glucosamine // *Relief First Capsules Scientific White Paper.* 2006. 1. (1). 1–40.
5. Bayliss M.T., Osborne D., Woodhouse S., Davidson C. Sulfation of chondroitin sulfate in human articular cartilage. The effect of age, topographical position, and zone of cartilage on tissue composition // *J. Biol. Chem.* 1999. 274. 15892–15900.
6. Vogel K.G., Peters J.A. Isolation of proteoglycans from tendon // *Methods in Molecular Biology: Proteoglycan Protocols* / Ed. R.V. Iozzo. Totowa: Humana Press Inc., 2002. 171. 9–17.
7. Van de Lest Ch.H.A., Versteeg E.M.M., Veerkamp J.H., van Kuppevelt T.H. Quantification and characterization of glycosaminoglycans at the nanogram level by a combined Azure F – silver staining in agarose gels // *Anal. Biochem.* 1994. 221. 356–361.
8. Martel-Pelletier J., Kwan Tat S., Pelletier J.P. Effects of chondroitin sulfate in the pathophysiology of the osteoarthritic joint: a narrative review // *Osteoarthritis Cartilage.* 2010. 18. (Suppl. 1). 7–11.
9. Steenvoorden M.M., Huizinga T.W., Verzijl N. *et al.* Activation of receptor for advanced glycation end products in osteoarthritis leads to increased stimulation of chondrocytes and synoviocytes // *Arthritis Rheum.* 2006. 54. (1). 253–263.
10. Abramson S.B., Attur M. Developments in scientific understanding of osteoarthritis // *Arthritis Res. Ther.* 2009. 11. (3). 227–235.
11. Asanbaeva A., Masuda K., Thonar E.J. *et al.* Mechanisms of cartilage growth: modulation of balance between proteoglycan and collagen *in vitro* using chondroitinase ABC // *Arthritis Rheum.* 2007. 56. (1). 188–198.
12. Lammi M.J., Qu C.-J., Laasanen M.S. *et al.* Undersulfated chondroitin sulfate does not increase in osteoarthritic cartilage // *J. Rheumatol.* 2004. 31. (12). 2449–2453.
13. Qu C.-J. Articular cartilage proteoglycan biosynthesis and sulfation : Doctoral dissertation. Kuopio, 2007.
14. Settembre C., Arteaga-Solis E., McKee M.D. *et al.* Proteoglycan desulfation determines the efficiency of chondrocyte autophagy and the extent of FGF signaling during endochondral ossification // *Genes Dev.* 2008. 22. 2645–2650.
15. Aigner T., Söder S., Gebhard P.M. *et al.* Mechanisms of disease: role of chondrocytes in the pathogenesis of osteoarthritis-structure, chaos and senescence // *Nat. Clin. Pract. Rheumatol.* 2007. 7. 391–399.

THE STRUCTURE OF ARTICULAR CARTILAGE GLYCOSAMINOGLYCANS IN OSTEOARTHRITIS PATIENTS: INFLUENCE OF KNEE TOPOGRAPHY

Tatyana Vasil'evna RUSOVA, Vladislav Sergeevich BAITOV

*Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics
630091, Novosibirsk, Frunze str., 17*

Quantitative and qualitative variations in glycosaminoglycan (GAG) content were studied in the revealed zones of degenerated, intact, and osteophytic cartilage of a human knee in osteoarthrosis (OA) (11 patients aged 65–75 years with Grade III of OA). Total glycosaminoglycan content was reduced in degenerated zone, unchanged in intact one, and raised in osteophytic zone of the cartilage. In degenerated cartilage zone the content of keratan sulphate was high and content of chondroitin sulphate was low. The ratio of chondroitin sulphate to keratin sulphate in osteophytic cartilage was high and thus resembled immature cartilage. In degenerated cartilage the ratio of sulfated glycosaminoglycan to uronic acids was very low, which can be considered as damage in GAG chains. A large amount of neutral hexoses and keratan sulfate is accumulated in zones of cartilage with biomechanical load and degeneration. Structure and metabolism of GAG are significantly different in zones of intact and degenerated cartilage in old patients with OA knee, which may be explained by changes in the phenotype of chondrocytes. Biomechanical stress provokes the development of the degenerative process.

Key words: glycosaminoglycans, cartilage, osteoarthrosis.

*Rusova T.V. – candidate of biological sciences, senior researcher of laboratory experimental department,
e-mail: galarusova@gmail.ru*

Baitov V.S. – senior researcher of department for endoprosthesis replacement, e-mail: VBaitov@1:st.ru