

DOI: 10.26693/jmbs02.03.088

УДК 616.72-002.1:577.15

Маколінець К. В.<sup>1</sup>, Маколінець В. І.<sup>1</sup>, Морозенко Д. В.<sup>1</sup>, Глебова К. В.<sup>2</sup>

## АКТИВНІСТЬ МАРКЕРНИХ ФЕРМЕНТІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ТА ПОРУШЕННЯ МЕТАБОЛІЗМУ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ У ХВОРИХ НА РАННІХ СТАДІЯХ ГОНАРТРОЗУ

<sup>1</sup>ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України», Харків, Україна

<sup>2</sup>Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

d.moroz.vet@gmail.com

У статті розглянуто питання визначення активності маркерних ферментів (гіалуронідази, лужної фосфатази та її кісткового ізоферменту), концентрації фібронектину в сироватці крові та рівень екскреції оксипроліну і уронових кислот із сечею у пацієнтів на I–II стадіях гонартрозу. Концентрація фібронектину в сироватці крові у обстежених пацієнтів була збільшена на 34,1 %. Зростання концентрації фібронектину можна пояснити його безпосереднім вмістом у екстрацелюлярному матриксі суглобів, у яких за рахунок розвитку запально-деструктивних процесів відбувається дестабілізація зв'язку хондроцитів із матриксом. Фібронектин стабілізує зв'язки і структуру матриксу хрящової тканини, зв'язуючись із олігомерним білком хрящового матриксу і з декорином на поверхні колагенових фібрил. Деструкція протеогліканів у хрящовій тканині суглобів здійснюється лізосомальними ферментами – гіалуроноглюкозамінідазою та гіалуроно-глюкуронідазою, сумарну активність яких зазвичай називають гіалуронідазною активністю. Активність гіалуронідази була збільшена на 26,9 % порівняно із клінічно здоровими особами. Дослідження гіалуронідазної активності вказує на порушення рівноваги між біосинтетичними та деструктивними процесами у метаболізмі глікозаміногліканів при ушкодженні хряща, а також є маркером запально-деструктивних процесів у синовіальній рідині суглобів при остеоартрозі. Встановлене нами зростання активності гіалуронідази у сироватці крові частини пацієнтів на I–II стадіях гонартрозу вказує на участь ферменту у розвитку запально-деструктивного процесу. Цей процес супроводжується деполімеризацією макромолекул протеогліканів суглобового хряща, в тому числі гіалуронової кислоти – одного із компонентів синовіальної рідини. Також одним з найбільш інформативних маркерів остеобластичної активності кісткової тканини є активність кісткового ізоферменту лужної фосфатази. Збільшення активності лужної фосфатази та її кісткового ізоферменту на 94,5 % свідчить про пошкодження хрящової

тканини колінних суглобів на ранніх стадіях хвороби. Колаген хрящової тканини має особливу структуру і амінокислотний склад, тому його називають колагеном II типу, який містить амінокислоти пролін і оксипролін (гідроксипролін). Оксипроліну належить важлива роль у стабілізації вторинної структури колагену. Відносно високий вміст оксипроліну у колагені дозволяє використовувати визначення концентрації оксипроліну у тканинах у якості маркера загальної концентрації колагенових білків. Вміст оксипроліну в сечі використовується як маркер катаболізму колагену, а концентрація оксипроліну може служити показником інтенсивності даного процесу. Рівень екскреції оксипроліну як маркера катаболізму колагену збільшився у хворих на ранніх стадіях гонартрозу на 63,5 %, уронових кислот – на 27,3 % порівняно з клінічно здоровими особами. Очевидно, це пов'язано із розшаруванням колагенових волокон й вивільненням його основного метаболіту оксипроліну із сполучної тканини. Деградація хрящової тканини колінних суглобів на початкових стадіях розвитку захворювання на гонартроз супроводжується підвищенням екскреції уронових кислот, що зумовлено підвищенням катаболізму протеогліканів екстрацелюлярного матриксу сполучної тканини. Ці тести можуть бути інформативні для оцінки перебігу гонартрозу та контролю ефективності його лікування.

**Ключові слова:** гонартроз, гіалуронідаза, фібронектин, лужна фосфатаза, кістковий ізофермент лужної фосфатази, оксипролін, уронові кислоти.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дослідження проводилося в рамках науково-дослідної роботи «Вивчити вплив комплексного застосування низькоінтенсивного інфрачервоного лазерного випромінювання та медичних препаратів на перебіг остеоартрозу», № держ. реєстрації 0108U000391.

**Вступ.** Хрящова тканина суглобів містить також специфічні ізоформи великого мультидоменного

глікопротеїну – фібронектину. Фібронектин експресується хондробластами і хондроцитами, його властивості включають зв'язування хондроцитів з екстрацелюлярним матриксом, діючи у якості лігандів – інтегринів [1]. Вони надають додаткову стабільність матриксу за рахунок зв'язку із олігомерним білком хрящового матриксу (COMP) і з локалізованим на поверхні колагенових фібрил малим протеогліканом декорином. Фібронектинам належить й додаткова регулююча функція: вони взаємодіють з одним із білків, який зв'язує інсуліноподібний фактор росту і регулює його вплив на метаболізм хряща. Крім того, сучасна наука розглядає фібронектин як маркер ураження клітин та їх руйнування під час патологічних процесів, існують дані про його участь навіть у антиоксидантному захисті тканин організму [2]. В останні роки ведеться інтенсивний пошук можливих біологічних маркерів дегенерації і репарації хрящової тканини суглоба. На сьогодні відомо, що характерною лабораторною ознакою деструкції хряща при остеоартрозі є втрата матриксом глікозаміногліканів – ГАГ (хондроїтинсульфату, кератансульфатів, гіалуронової кислоти тощо) із підвищенням їх вмісту в сироватці крові [3]. Біохімічні маркери можна використовувати в клінічних дослідженнях для оцінки ефективності патогенетичної терапії, зокрема, після застосування лазерного випромінювання [4]. Згідно з результатами досліджень І.А. Боева [5], були встановлені кореляційні зв'язки між рівнями швидкості осідання еритроцитів, С-реактивного білка, інтерлейкіну-1 (IL-1), фактору некрозу пухлин- $\alpha$  (TFN- $\alpha$ ) і показниками болі в суглобах, тривалістю і виразністю ранкової скруті, ультразвуковими параметрами, що характеризують запальні зміни в суглобах. Це дозволяє розглядати зазначені лабораторні маркери як одні з критеріїв, що характеризують активність запального процесу в суглобах при остеоартрозі. Було також вивчено зміни показників електrolітного складу синовіальної рідини у хворих на гонартроз. Ці зміни виражалися в зниженні показника іонізованого кальцію і підвищенні відносини показника загального кальцію до неорганічного фосфату, що вказує на ураження мінеральної складової субхондральної зони при розвитку запалення суглобів [6]. За даними І.В. Гужевського з співавт. [7], для оцінки ефективності лікування остеоартрозу колінних суглобів були використані такі біохімічні маркери сироватки крові, як колагеназа, вільний та білково-зв'язаний оксипролін і загальні ГАГ. За допомогою даних тестів було виявлено інгібуючий ефект препарату, що містить хондроїтинсульфат і диметилсульфоксид, на катаболічну фазу метаболізму основних органічних компонентів хрящової тканини при гонартрозі незалежно від етіології захворювання.

**Мета дослідження** – визначення максимально чутливих біохімічних маркерів метаболізму сполучної тканини та активності маркерних ферментів, що може лягти в основу діагностичної оцінки стану хворих на ранніх стадіях гонартрозу.

**Матеріали і методи дослідження.** Дослідження проводились упродовж 2007–2017 років на базі консультативно-поліклінічного відділення, відділів консервативного лікування та реабілітації, лабораторної діагностики та імунології Державної установи «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І. Ситенка НАМН України». Було обстежено 80 хворих на гонартроз I та II стадій за класифікацією Kellgren і Lawrence. Серед цих хворих жінки склали 63,8 % (51 жінка) та чоловіки 36,2 % (29 осіб), віком від 19 до 67 років, середній вік –  $40,5 \pm 1,2$  років. Додатково була задіяна група волонтерів з 30 осіб. Волонтери склали контрольну групу практично здорових людей, віком від 25 до 63 років (середній вік –  $38,6 \pm 1,8$ ). Клінічне обстеження хворих складалося із збору анамнезу, клінічного огляду, оцінки виразності больового синдрому за шкалою ВАШ (Візуальна аналогова шкала). Біохімічне дослідження сироватки крові проводилося за вмістом фібронектину, активності гіалуронідази, лужної фосфатази та її кісткового ізоферменту [8]. У сечі хворих визначали вміст оксипроліну та урнових кислот [9].

Від кожної людини отримано письмову згоду на проведення дослідження, згідно з рекомендаціями етичних комітетів з питань біомедичних досліджень, законодавства України про охорону здоров'я та Гельсінської декларації 2000 р., директиви Європейського товариства 86/609 стосовно участі людей у медико-біологічних дослідженнях.

Статистична обробка цифрових даних проводилася за допомогою комп'ютерної програми Statistica Statsoft v.10 з визначенням критерію Стьюдента з розрахунками середнього (M) та його похибки (m) [10].

**Результати дослідження та їх обговорення.** Концентрація фібронектину в сироватці крові у обстежених пацієнтів на I–II стадіях гонартрозу була збільшена на 34,1 %, а активність гіалуронідази – на 26,9 % порівняно із клінічно здоровими особами. Зростання концентрації фібронектину можна пояснити його безпосереднім вмістом у екстрацелюлярному матриксі суглобів, у яких за рахунок розвитку запально-деструктивних процесів відбувається дестабілізація зв'язку хондроцитів із матриксом: фібронектин стабілізує зв'язки і структуру матриксу хрящової тканини, зв'язуючись із COMP і з декорином на поверхні колагенових фібрил (табл. 1).

**Таблиця 1** – Концентрація фібронектину та активність гіалуронідази і лужної фосфатази у сироватці крові хворих на I–II стадіях гонартрозу (M±m)

Біохімічні маркери	Клінічно здорові особи, n=30	Хворі на гонартроз, n=10
Фібронектин, мг/л	220,0±12,4	295,0±11,4 **
Гіалуронідаза, мкмоль/лхгодина	227,0±11,4	288,0±12,2 *
Лужна фосфатаза, Од. Боданські	4,0±0,04	7,78±0,17 ***
Кістковий ізофермент лужної фосфатази, Од. Боданські	2,8±0,06	5,45±0,09 ***

**Примітки:** \* – p<0,05; \*\* – p<0,01; \*\*\* – p<0,001 порівняно із клінічно здоровими.

Деструкція протеогліканів у хрящовій тканині суглобів здійснюється лізосомальними ферментами – гіалуроноглюкозамінідазою та гіалуроноглюкуронідазою, сумарну активність яких зазвичай називають гіалуронідазною активністю. Дослідження гіалуронідазної активності вказує на порушення рівноваги між біосинтетичними та деструктивними процесами у метаболізмі ГАГ при ушкодженні хряща, а також є маркером запально-деструктивних процесів у синовіальній рідині суглобів при остеоартрозі. Встановлене нами зростання активності гіалуронідази у сироватці крові частини пацієнтів на I–II стадіях гонартрозу вказує на участь ферменту у розвитку запально-деструктивного процесу, який супроводжується деполімеризацією макромолекул протеогліканів суглобового хряща, в тому числі гіалуронової кислоти – одного із компонентів синовіальної рідини.

Одним з найбільш інформативних маркерів остеобластичної активності кісткової тканини є активність кісткового ізоферменту лужної фосфатази. За хімічною структурою лужна фосфатаза є глікопротеїном. У пацієнтів на I–II стадіях гонартрозу вміст кісткового ізоферменту лужної фосфатази збільшився у 2,2 рази порівняно з клінічно здоровими особами, що свідчить про початкові стадії порушення метаболізму кісткової тканини уражених суглобів при гонартрозі. Очевидно, збільшення активності кісткового ізоферменту лужної фосфатази у сироватці крові хворих на гонартроз вказує на порушення утворення пірофосфату, який, в свою чергу, є антагоністом мінералізації. Дефіцит пірофосфату може спричиняти кальцифікацію суглобових хрящів при остеоартрозі.

Екстрацелюлярний матрикс хряща містить значну кількість ферментів, які експресуються хондроцитами. По-перше, це ферменти, які діють на заключних стадіях анаболічних процесів і завершу-

ють посттрансляційний процесинг структурних макромолекул матриксу (колагену і протеогліканів) після їх виходу із клітин та збирання їх у супрамолекулярні агрегати. По-друге, це ферменти, які здійснюють катаболізм структурних макромолекул – металопротеази (матриксини) та інші протеолітичні ферменти. Розпад ГАГ у тканинах, в основному, здійснюється лізосомальними ферментами – гіалуроноглюкозамінідазою та гіалуроно-глюкуронідазою, сумарну активність яких зазвичай називають гіалуронідазною активністю. Дослідження гіалуронідазної активності дає цінну інформацію про порушення рівноваги між біосинтетичними та катаболічними процесами в обміні ГАГ при ушкодженні сполучної тканини. При дії гіалуронідази на колагенові волокна останні розпадаються на окремі фібрили, які при цьому зберігають свої оболонки і є комплексом колагенового білка і протеогліканів.

Досліджуючи порушення метаболізму сполучної тканини на ранніх стадіях гонартрозу, неможливо не зупинитися на колагені, з якого побудовані фібрили екстрацелюлярного матриксу сполучної тканини. Колаген хрящової тканини має особливу структуру і амінокислотний склад, тому його називають колагеном II типу. На сьогодні відомо близько 25 типів колагену, кожен з яких має певні особливості структури поліпептидного ланцюга, молекулярну формулу і локалізацію. Колаген II типу локалізується у гіаліновій хрящовій тканині, склоподібному тілі та міжхребцевих дисках. Колаген містить такі амінокислоти, як пролін і оксипролін (гідроксипролін). Оксипроліну належить важлива роль у стабілізації вторинної структури колагену. Відносно високий вміст оксипроліну у колагені дозволяє використовувати визначення концентрації оксипроліну у тканинах у якості маркера загальної концентрації колагенових білків. В ортопедії і травматології вміст оксипроліну в сечі використовується як маркер катаболізму колагену, а концентрація оксипроліну може служити показником інтенсивності даного процесу. Зміни екскреції оксипроліну можуть бути наслідком деградації колагенових структур уражених суглобів, при цьому відбувається збільшення у сечі й уронових кислот (глюкуронової та ідурунової) – компонентів ГАГ, які, в свою чергу, входять до складу протеогліканів сполучної тканини. Наприклад, хондроїтин-6-сульфат хрящової тканини, який входить до складу II фракції ГАГ, складається із глюкуронової кислоти, і має сильний ступінь взаємодії із колагеном II типу, потенційно може бути джерелом зростання екскреції уронових кислот за рахунок глюкуронату внаслідок деструктивних процесів у суглобовому хрящі. В свою чергу, інтенсивність катаболізму колагену визначається ступенем його структурної стабільності, яка

підтримується системою внутрішніх і зовнішніх міжмолекулярних зв'язків. У результаті розпаду колагену у крові та сечі з'являється оксипролін, який вказує на нестабільність міжмолекулярних зв'язків у колагенових структурах суглобів хворих на гонартроз. За результатами дослідження показників оксипроліну та уронових кислот було встановлено, що у пацієнтів на ранніх стадіях гонартрозу відбувалося помірне збільшення екскреції цих метаболітів із сечею (табл. 2).

**Таблиця 2** – Рівень екскреції оксипроліну та уронових кислот із сечею хворих на I–II стадіях гонартрозу (M±m)

Біохімічні маркери	Клінічно здорові особи, n=30	Хворі на гонартроз, n=80
Оксипролін, мг/л	26,0±0,57	42,5±0,97 ***
Уронові кислоти, мг/л	4,1±0,09	5,6±0,18 ***

**Примітка:** \*\*\* –  $p < 0,001$  порівняно із клінічно здоровими.

Рівень екскреції оксипроліну збільшився у хворих на ранніх стадіях гонартрозу на 63,5 %, уронових кислот – на 27,3 % порівняно з клінічно здоровими особами. Очевидно, це пов'язано із розшаруванням колагенових волокон й вивільненням його

основного метаболіту оксипроліну із сполучної тканини. Деградація хрящової тканини колінних суглобів на початкових стадіях розвитку захворювання на гонартроз супроводжується підвищенням екскреції уронових кислот, що зумовлено підвищенням катаболізму протеогліканів екстрацелюлярного матриксу сполучної тканини. Ці тести можуть бути інформативні для оцінки перебігу гонартрозу та контролю ефективності його лікування.

#### Висновки

1. За результатами дослідження біохімічних маркерів у сироватці крові хворих на I–II стадіях гонартрозу було встановлено збільшення вмісту фібрoneктину – на 34,1 %, активності гіалуронідази – на 26,9 %, лужної фосфатази та її кісткового ізоферменту – на 94,5 %, що свідчить про пошкодження хрящової тканини колінних суглобів на ранніх стадіях хвороби.
2. Збільшення рівня екскреції оксипроліну та уронових кислот у сечі на 63,5 і 36,6 % відповідно зумовлено деградацією молекул колагену і протеогліканів хрящової тканини уражений колінних суглобів.

**Перспективи подальших досліджень.** В подальшому планується розробка діагностичного алгоритму для обстеження хворих на гонартроз на основі вищерозглянутих біохімічних маркерів крові та сечі.

#### References

1. Kim LB. Soedinitelnaya tkan i problema sotsialno znachimykh zabolevaniy cheloveka. *Vestnik Novosibirskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Biologiya, klinicheskaya meditsina*. 2010; 8 (1): 162–70. [Russian].
2. Omelyanenko NP, Slutskiy LI. *Soedinitelnaya tkan (histofiziologiya i biokhimiya): monografiya*. T 2. M: Izvestiya; 2010. 600 s. [Russian].
3. Filipenko VA, Leontyeva FS, Tulyakov VO, Korzh IV. Pokazniki metabolizmu hlikoproteyiniv ta hlikozaminohlikaniv u diahnostitsi perebihu osteoartrozu velikikh suhlobiv. *Litopis travmatologiyi ta ortopediyi*. 2008; 1: 81–4. [Ukrainian].
4. Starodubtseva IA. *Vliyanie nizkointensivnogo lazernogo izlucheniya na pokazateli hlikozaminohlikanov u bolnykh osteoartrozom: avtoref. dis. ... kand. med. nauk, Abstr. PhD. (Med.)*. Voronezh; 2008. 22 s. [Russian].
5. Boeva IA. Mesto syvorotochnykh urovney S-reaktivnogo belka i provospalitelnykh tsitokinov v opredelenii stepeni aktivnosti sustavnoho sindroma pri osteoartroze. *Ukrainskiy medichniy almanakh*. 2008; 11 (4): 19–22. [Russian].
6. Matveeva EL, Osipova EV, Hasanova AH, Chehurov OK. Osobennosti sinovialnoy sredy sustavov i subkhondralnoy zony kosti pri honartroze. *Travmatologiya i ortopediya Rossii*. 2011; 4 (62): 18–22. [Russian].
7. Huzhevskiy IV, Herasimenko SI, Mahomedov AA, i dr. K voprosu o lokalnom lechenii nekotorykh tipov pervichnoho honartroza u vzroslykh. *Ukrainskiy zhurnal klinichnoi ta laboratornoi meditsini*. 2009; 4 (1): 70–4. [Russian].
8. Karpishchenko AI. *Meditsinskie laboratornye tekhnologii i diahnostika*. T 2. SPb: Intermedika; 1999. 307 s. [Russian].
9. Morozenko DV, Leontyeva FS. Metodi doslidzhennya markeriv metabolizmu spoluchnoi tkanini u klinichniy ta eksperimentalniy meditsini. *Molodiy vcheniy*. 2016; 2 (29): 168–72. [Ukrainian].
10. Hlants S. *Mediko-biologicheskaya statistika*. Per. s anhl. M: Praktika; 1998. 459 s. [Russian].

УДК 616.72-002.1:577.15

#### АКТИВНОСТЬ МАРКЕРНЫХ ФЕРМЕНТОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ У БОЛЬНЫХ НА РАННИХ СТАДИЯХ ГОНАРТРОЗА

Маколинєць К. В., Маколинєць В. И., Морозенко Д. В., Глебова Е. В.

**Резюме.** В статье рассмотрены вопросы определения активности маркерных ферментов (гиалуронидазы, щелочной фосфатазы и ее костного изофермента), концентрации фибронектина в сыворотке крови и уровень экскреции оксипролина и уроновых кислот с мочой у пациентов I–II стадиях гонартроза.

Концентрация фибронектина в сыворотке крови у обследованных пациентов была увеличена на 34,1 %. Рост концентрации фибронектина можно объяснить его непосредственным содержанием в экстрацеллюлярного матрикса суставов, в которых за счет развития воспалительно-деструктивных процессов происходит дестабилизация связи хондроцитов с матриксом. Фибронектин стабилизирует связи и структуру матрикса хрящевой ткани, связываясь с олигомерным белком хрящевого матрикса и с декорином на поверхности коллагеновых фибрилл. Деструкция протеогликанов в хрящевой ткани суставов осуществляется лизосомальными ферментами – гиалуроноглюкозаминидазой и гиалурона-глюкуронидазы, суммарную активность которых обычно называют гиалуронидазной активностью. Активность гиалуронидазы была увеличена на 26,9 % по сравнению с клинически здоровыми лицами. Исследование гиалуронидазной активности указывает на нарушение равновесия между биосинтетическими и деструктивными процессами в метаболизме гликозаминогликанов при повреждении хряща, а также является маркером воспалительно-деструктивных процессов в синовиальной жидкости суставов при остеоартрозе. Установлено нами рост активности гиалуронидазы в сыворотке крови части пациентов на I–II стадиях гонартроза указывает на участие фермента в развитии воспалительно-деструктивного процесса. Этот процесс сопровождается деполимеризацию макромолекул протеогликанов суставного хряща, в том числе гиалуроновой кислоты – одного из компонентов синовиальной жидкости. Также одним из наиболее информативных маркеров остеобластической активности костной ткани является активность костного изофермента щелочной фосфатазы. Увеличение активности щелочной фосфатазы и ее костного изофермента на 94,5 % свидетельствует о повреждении хрящевой ткани коленных суставов на ранних стадиях болезни. Коллаген хрящевой ткани имеет особую структуру и аминокислотный состав, поэтому его называют коллагеном II типа, который содержит аминокислоты пролина и оксипролина (гидроксипролин). Оксипролина принадлежит важная роль в стабилизации вторичной структуры коллагена. Относительно высокое содержание оксипролина в коллагене позволяет использовать определение концентрации оксипролина в тканях в качестве маркера общей концентрации коллагеновых белков. Содержание оксипролина в моче используется в качестве маркера катаболизма коллагена, а концентрация оксипролина может служить показателем интенсивности данного процесса. Уровень экскреции оксипролина как маркера катаболизма коллагена увеличился у больных на ранних стадиях гонартроза на 63,5 %, уонових кислот – на 27,3% по сравнению с клинически здоровыми лицами. Очевидно, это связано с расслоением коллагеновых волокон и высвобождением его основного метаболита оксипролина с соединительной ткани. Деградация хрящевой ткани коленных суставов на начальных стадиях развития заболевания гонартроз сопровождается повышением экскреции уоновых кислот, что обусловлено повышением катаболизма протеогликанов экстрацеллюлярного матрикса соединительной ткани. Эти тесты могут быть информативны для оценки течения гонартроза и контроля эффективности его лечения.

**Ключевые слова:** гонартроз, гиалуронидаза, фибронектин, щелочная фосфатаза, костный изофермент щелочной фосфатазы, оксипролина, уоновые кислоты.

UDC 616.72-002.1:577.15

**The Serum Marker Enzymes Activity and Metabolic Connective Tissue Disorders in Patients on Early Stages of Osteoarthritis of the Knee Joints**

*Makolinet K. V., Makolinet V. I., Morozenko D. V., Glibova K. V.*

**Abstract.** The article deals with the determination of the marker enzymes activity (hyaluronidase, alkaline phosphatase and its bone isoenzymes), serum and urine concentrations of fibronectin, uric acid and uric acid in patients with osteoarthritis of the knee joints of the 1-st and 2-nd stage. The concentration of serum fibronectin in the studied patients increased to 34.1 %. The increase in the concentrations of fibronectin causes by its direct combination of extracellular matrix in the joints, which, in the development of inflammatory and destructive process, is destabilizing due to chondrocytes with a matrix. Fibronectin stabilizes the ligaments and structure of the matrix of cartilage tissue, binds to the oligomeric protein of the cartilaginous matrix and adorns the surface of collagen fibrils. Lysosomal enzymes – hyaluronucleosaminidase, carried out the destruction of proteoglycans in the cartilage of the joints and hyaluron-glucuronidase, the total activity is usually called hyaluronidase activity. The activity of hyaluronidase was increased to 26.9 % compared with clinically healthy subjects. Investigation of hyaluronidase activity indicates an imbalance between destructive and biosynthetic processes in the metabolism of glycosaminoglycans in cartilage is damaged and it is a mark of inflammatory and destructive processes in the synovial fluid of the joints in osteoarthritis. The increase in serum hyaluronidase activity in some patients on the I–II stages of knee osteoarthritis, which was established during the study, indicates that the enzyme is involved in the development of the inflammatory and destructive process. This process is accompanied

by depolymerization of the macromolecules of the proteoglycans of the articular cartilage, including hyaluronic acid, one of the components of the synovial fluid. In addition, one of the most informative markers of osteoblastic activity of bone tissue is the activity of bone isoenzymes of alkaline phosphatase. An increase in the activity of alkaline phosphatase and its bone isoenzymes in 94.5 % indicate damage to the tissues of the cartilage of the knee joints on the early stages of the disease. Cartilage collagen has a special structure and amino acid composition, so it is called collagen type II, which contains amino acids, proline and oxyproline (hydroxyproline). Oxyproline has an important role in stabilizing the secondary collagen structure. The relatively high content of oxyproline in collagen allows us to use the determination of the concentration of oxyproline in tissues as a marker for the total concentration of collagen proteins. The content of oxyproline in urine is used as a catabolism marker for collagen, and the concentration of oxyproline can serve as an indicator of the intensity of this process. The level of oxyproline excretion as a marker of increased catabolism of collagen in patients with early of osteoarthritis of the knee joints up to 63.5 %, uronic acids – by 27.3 % compared with clinically healthy subjects. Obviously, it is caused by a bunch of collagen fibers and the release of its main metabolite of oxyproline from the connective tissue. The knee cartilage degradation in the early stages of the disease with knee osteoarthritis is accompanied by an increase in excretion of uronic acids due to increased catabolism of proteoglycans in the extracellular matrix of the connective tissue. These tests can be informative to assess the course of osteoarthritis of the knee joints and control the effectiveness of its treatment.

**Keywords:** osteoarthritis of the knee joints, hyaluronidase, fibronectin, alkaline phosphatase, bone alkaline phosphatase isoenzymes, oxyproline, uronic acid.

Стаття надійшла 20.08.2017 р.

*Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування*