

Thesis Title The Quantitative Analysis of Chondroitin Sulfate Epitopes and Hyaluronan as Diagnostic Markers for Degenerative Joint Diseases by ELISA Technique

Author Ms. Peraphan Pothacharoen

M.Sc. Biochemistry

Examining Committee:

| | |
|--|----------|
| Assistant Professor Dr. Prachya Kongtawelert | Chairman |
| Lecturer Dr. Siriwan Ongchai | Member |
| Associate Professor Rujapa Nimsung | Member |
| Associate Professor Dr. Viboon Rattanapanone | Member |

ABSTRACT

Joint diseases affect hundreds of millions of patients throughout the world. Osteoarthritis is the most common joint disease in term of years lived with disability.

Joint tissue, particularly articular cartilage undergoes various degree of structure degradation in osteoarthritis. Change in joint space width assessed by radiography remains the gold standard, but it allows late detection of joint tissue damage. Alternatively, specific and sensitive immunological assays that recognize nonspecific proteoglycan fragments generated by destruction enzymes and fragments contain glycosaminoglycans have been developed. According to the specific of each antibody, the assay may reflect proteoglycan destruction.

The propose of this study was to develop the assay for a native chondroitin sulfate epitope (WF6), an unsaturated chondroitin sulfate epitope (3B3), and hyaluronan level in normal human serum and in serum from rheumatoid arthritic (RA) and osteoarthritic (OA) patients in order to evaluate their potentials as a good diagnostic assay for joint diseases. Human serum samples were obtained form age-matched of normal, RA and OA patients. A competitive immunoassay with monoclonal antibody 3B3 was developed to analyze the human serum after digestion

with chondroitinase ABC to detect 3B3(+) epitope. For undigested serum samples were also assay by competitive immunoassay with monoclonal antibody WF6 which recognizes native epitopes in chondroitin 6 sulfate. Serum hyaluronan was also determined using an ELISA based assay with biotinylated hyaluronan binding proteins. Assay conditions for human serum samples were developed for chondroitin sulfate epitopes using monoclonal antibodies 3B3 and WF6 and for hyaluronan by using hyaluronan binding proteins.

The concentration of hyaluronan was increased in many RA patients, but not in OA patients. The mean level of 3B3(+) epitope was very high in RA serum, but it was also well above normal in OA serum. WF6 epitope also showed increases in patients with joint diseases, but it was most increased in OA serum and less increased in RA serum. The combination of these cartilage molecular markers shows that they can reflect the cartilage destruction and may offer as useful tests for diagnostic joint diseases.

เสื่อม (OA) และโรคข้อรูมาตอยด์ (RA) เมื่อเทียบกับคนปกติ โดยพบว่า ระดับของ ไฮyaluronan นั้น สูงในซีรัมผู้ป่วย RA แต่ไม่สูงในซีรัม OA เมื่อเทียบกับคนปกติ นอกจากนี้ ค่าเฉลี่ยของ 3B3(+) epitope ยังสูงอย่างมากในซีรัมผู้ป่วย RA และสูงขึ้นเล็กน้อยในซีรัม OA ส่วน WF6 epitope นั้นมีค่าสูงขึ้นในผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่ม เมื่อเทียบกับระดับในคนปกติ โดยจะพบสูงในซีรัมผู้ป่วย OA และสูงขึ้นเล็กน้อยในซีรัมของผู้ป่วย RA จากการศึกษาเปรียบเทียบระดับของสารสำคัญในกระดูกอ่อนเหล่านี้ พบว่าสามารถใช้เป็นประโยชน์ในการช่วยป้องกันการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อน นอกจากนี้ ยังสามารถใช้เป็นประโยชน์ในการวินิจฉัยโรคข้อเสื่อมได้อีกด้วย

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University