

นิพนธ์ต้นฉบับ

การศึกษาคอนดรอยตินซัลเฟตโปรตีนไกลัยแคนในซีรัมของม้าปกติ และม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อม

ศิริพร เพียรสุขมณี,¹ ชำนาญ ตริณรงค์,¹ ปรัชญา คงทวีเลิศ,² ศิริวรรณ องค์กรไชย²

¹ สาขาวิชาคลินิกม้า คณะสัตวแพทยศาสตร์,
² ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทคัดย่อ โรคข้อเสื่อมในม้า คือ โรคที่เกิดจากการเสื่อมของกระดูกอ่อนผิวข้อ คอนดรอยตินซัลเฟตโปรตีนไกลัยแคนซึ่งเป็นสารชีวโมเลกุลที่สำคัญและพบได้มากที่สุดที่กระดูกอ่อนจะสลายออกมามากกว่าปกติเมื่อกระดูกอ่อนผิวข้อถูกทำลาย คอนดรอยตินซัลเฟตโปรตีนไกลัยแคนที่ถูกปล่อยออกมาจะเข้าสู่ซีรัมและสามารถตรวจพบได้ด้วยวิธีทางอิมมูโนวิทยา โดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะต่อสายคอนดรอยตินซัลเฟต (mAb WF6 และ mAb 3B3) วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ คือ การเปรียบเทียบคอนดรอยตินซัลเฟตโปรตีนไกลัยแคน (WF6 epitope และ 3B3 epitope) ในซีรัมของม้าในช่วงอายุต่างๆ กัน นอกจากนี้ยังมีการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อมและม้าที่ไม่มีอาการของโรคนี้ การตรวจหาคอนดรอยตินซัลเฟตใช้วิธี competitive ELISA พบว่าม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อมมีค่าความเข้มข้นของ WF6 epitope ซึ่งอยู่บนสายคอนดรอยตินซัลเฟตที่เป็น native form มากกว่าในม้าปกติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.0001$) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของอีพิโทปชนิดนี้เมื่อเปรียบเทียบในแต่ละช่วงอายุของม้า ส่วน 3B3 epitope ซึ่งพบมากบนสายคอนดรอยตินซัลเฟตที่สังเคราะห์ใหม่ พบว่าม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อมจะมีปริมาณของอีพิโทปตัวนี้ต่ำกว่าม้าปกติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) แต่กลับพบมีปริมาณมากในลูกม้าช่วงอายุแรกเกิดถึงสองปี ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงคอนดรอยตินซัลเฟตในซีรัมมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคข้อเสื่อม ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ที่จะใช้การตรวจวัดคอนดรอยตินซัลเฟตอีพิโทปทั้งสองชนิดเพื่อประกอบการวินิจฉัยและรักษาโรคข้อเสื่อมในม้าโดย WF6 epitope อาจเป็น marker ที่ดีสำหรับการบ่งชี้ถึงการทำลายกระดูกอ่อนผิวข้อ ในขณะที่ 3B3 epitope อาจเป็น marker สำหรับใช้ติดตามผลการรักษาโรคข้อเสื่อมในม้าได้

เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2546;1:3-10.

คำสำคัญ : ม้า - โรคข้อเสื่อม, คอนดรอยตินซัลเฟตอีพิโทป

บทนำ

โรคข้อเสื่อมในม้าเกิดจากการทำลายและสลายตัวของกระดูกอ่อนผิวข้อ เป็นสาเหตุให้ม้าไม่สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพและก่อให้เกิดความสูญเสียทั้งต่อตัวม้าเองและต่อเจ้าของม้าเป็นอย่างมาก การตรวจวินิจฉัยโรคข้อในปัจจุบันโดยทั่วไปอาศัยการตรวจทางกายภาพและการถ่ายภาพรังสีซึ่งสามารถบ่งชี้ถึงความผิดปกติในข้อได้ก็ต่อเมื่อโรคดำเนินไปมากจนบางครั้งยากที่จะทำการรักษา⁽¹⁾ จึงเกิดความพยายามในกลุ่มนักวิจัยที่จะหาสารชีวโมเลกุลที่สามารถบ่งบอกถึงพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นภายในข้อของม้า เพื่อนำมาใช้ร่วมกับการตรวจทางกายภาพและการถ่ายภาพรังสีอันจะทำให้สามารถวินิจฉัยโรคได้เร็วและแม่นยำมากขึ้น

คอนดรอยตินซัลเฟตโปรตีโอไกลัยแคน (chondroitin sulfate proteoglycan) เป็นสารชีวโมเลกุลที่สำคัญที่ถูกสร้างโดยเซลล์กระดูกอ่อน (chondrocyte) และมีอยู่มากที่สุดในแมทริกซ์ของกระดูกอ่อน และเมื่อเกิดโรคข้อเสื่อม คอนดรอยตินซัลเฟตโปรตีโอไกลัยแคนจะถูกทำลายหลุดออกจากเนื้อกระดูกอ่อนมากกว่าปกติซึ่งสามารถตรวจพบการเปลี่ยนแปลงได้ทั้งที่เนื้อกระดูกอ่อนเอง⁽²⁻³⁾ ในน้ำไขข้อ⁽⁴⁻⁵⁾ และในซีรัม⁽⁶⁾

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาคอนดรอยตินซัลเฟตโปรตีโอไกลัยแคนในซีรัมของม้าปกติเปรียบเทียบกับในแต่ละช่วงอายุและม้าที่มีอาการของโรคข้อเสื่อมเปรียบเทียบ

กับม้าที่ไม่มีอาการของโรคข้อเสื่อมโดยใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี (monoclonal antibody : mAb) ที่มีความจำเพาะต่อสายคอนดรอยตินซัลเฟตสองชนิดคือ mAb WF6 ซึ่งเป็นแอนติบอดีที่ผลิตขึ้นที่คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และ mAb 3B3 ซึ่งมีผลผลิตออกมาในเชิงพาณิชย์

อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์ทดลอง

ได้ทำการเก็บตัวอย่างซีรัมจากกลุ่มม้าปกติจำนวนทั้งหมด 149 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็นกลุ่มช่วงอายุแรกเกิด ถึง 2 ปี 25 ตัวอย่าง, 2-4 ปี 25 ตัวอย่าง 5-8 ปี 29 ตัวอย่าง, 9-14 ปี 33 ตัวอย่าง และ 15-25 ปี 37 ตัวอย่าง โดยม้าทั้งหมดได้ผ่านการตรวจทางกายภาพแล้วว่าไม่มีอาการของโรคข้อ ส่วนตัวอย่างจากกลุ่มม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อมเก็บจากม้าช่วงอายุ 2-8 ปีที่วินิจฉัยแล้วว่าเป็นโรคข้อเสื่อมโดยใช้การตรวจทางกายภาพและการถ่ายภาพรังสี⁽¹⁾ จำนวน 23 ตัวอย่าง ตัวอย่างซีรัมทั้งหมดถูกเก็บรักษาที่ -20 องศาเซลเซียสก่อนที่จะนำมาวิเคราะห์

วิธีการตรวจวัดคอนดรอยตินซัลเฟตอิพิโทปในซีรัม

ใช้หลักการ competitive ELISA ตรวจหา WF6 epitope และ 3B3 epitope จากตัวอย่างซีรัม ตามวิธีของพีระพรรณ โปธาเจริญ⁽⁷⁾ โดยในการวิเคราะห์ WF6 epitope จะใช้โปรตีโอไกลัยแคนที่สกัดได้จากกระดูกอ่อนของปลา

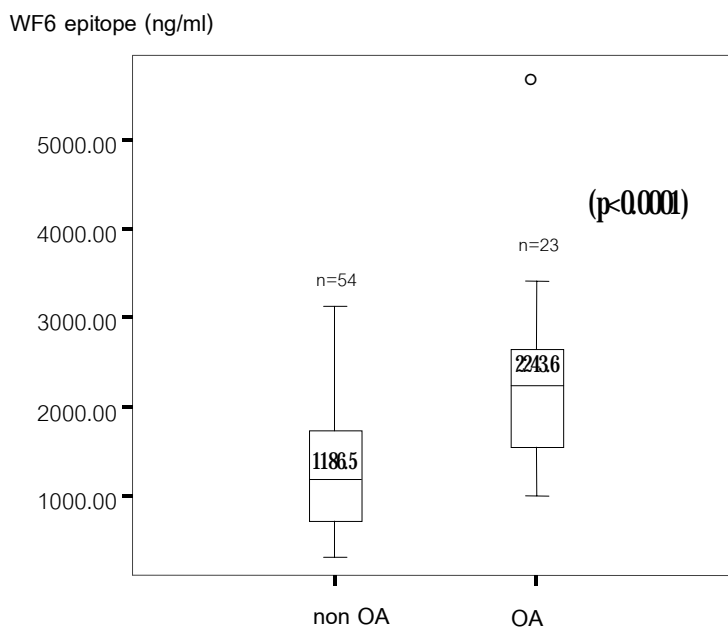
ฉลากเป็น coating antigen และ competitor, mAb WF6 เป็น primary antibody และ anti IgM เป็น secondary antibody ส่วนการวิเคราะห์ 3B3 epitope จะใช้ chondroitinase ABC ย่อยคอนดรอยตินซัลเฟตในซีรัมก่อนทำการวิเคราะห์ ใช้ proteoglycan core protein ที่สกัดจากกระดูกอ่อนของหมูเป็น coating antigen และ competitor ใช้ mAb 3B3 เป็น primary antibody และ Anti IgM เป็น secondary antibody

ความเข้มข้นของ chondroitin sulfate epitope ที่ตรวจได้จะนำมาหาค่าทางสถิติ และทดสอบสมมติฐานโดยใช้ analysis of variance

(ANOVA) ในการวิเคราะห์เปรียบเทียบในแต่ละกลุ่มช่วงอายุ และใช้ student-t-test ในการวิเคราะห์เปรียบเทียบกลุ่มม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อมกับม้าที่ไม่เป็นโรคข้อเสื่อมที่มีอายุ 2-8 ปีทั้งสองกลุ่ม โดยใช้โปรแกรม SPSS version 10.0

ผลการทดลอง

ค่าความเข้มข้นของ WF6 epitope ในซีรัมของม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อม เปรียบเทียบกับม้าปกติในกลุ่มอายุเดียวกันคือ 2-8 ปี พบว่าความเข้มข้นของ WF6 epitope ในกลุ่มม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อมสูงกว่าม้าที่ไม่เป็นโรคข้ออย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.0001$) ดังแสดงในรูปที่ 1 โดย



รูปที่ 1. ความเข้มข้นของ WF6 chondroitin sulfate epitope ในซีรัมของม้าปกติ (non OA) เปรียบเทียบกับม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อม (OA) เส้นกลางกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่ามัธยฐาน เส้นขอบล่างและขอบบนของกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าที่เปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 25 และ 75 ตามลำดับ เส้นขีดแนวนอนข้างล่างและข้างบนนอกกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าต่ำสุดและสูงสุดที่ยังไม่ผิดปกติตามลำดับ วงกลมแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติ ดอกจันแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติมาก n = จำนวนตัวอย่าง

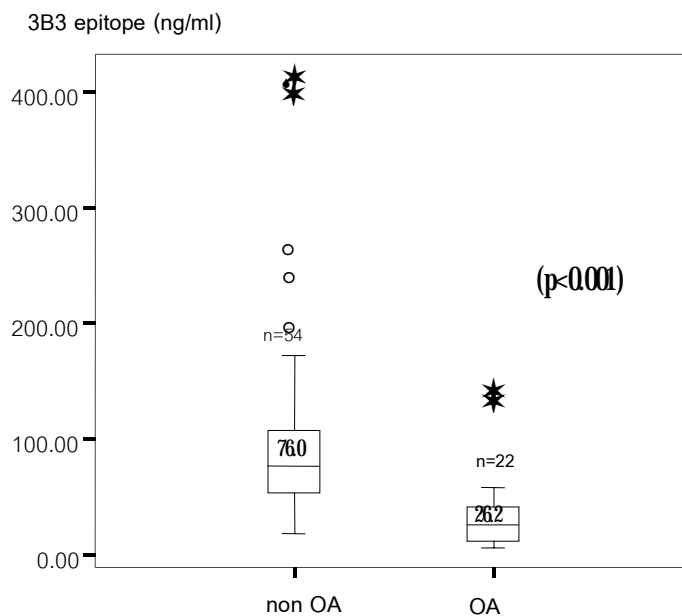
ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของช่วงอายุในน้ำทั้งสองกลุ่ม ซึ่งต่างจากความเข้มข้นของ 3B3 epitope ที่พบว่ากลุ่มน้ำที่เป็นโรคข้อเสื่อมมีปริมาณของอิพิโทปตัวนี้ต่ำกว่าในน้ำปกติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ดังแสดงในรูปที่ 2

เมื่อดูการเปลี่ยนแปลงของคอนดรอยตินซัลเฟตในซีรัมของน้ำปกติที่ช่วงอายุต่างๆ ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของระดับความเข้มข้นของ WF6 epitope ($p = 0.433$) ของน้ำตั้งแต่แรกเกิดจนถึงอายุมากกว่า 15 ปี ดังแสดงในรูปที่ 3 แต่พบว่าความเข้มข้นของ 3B3 epitope มีค่าสูงมากอย่างเด่นชัดในกลุ่ม

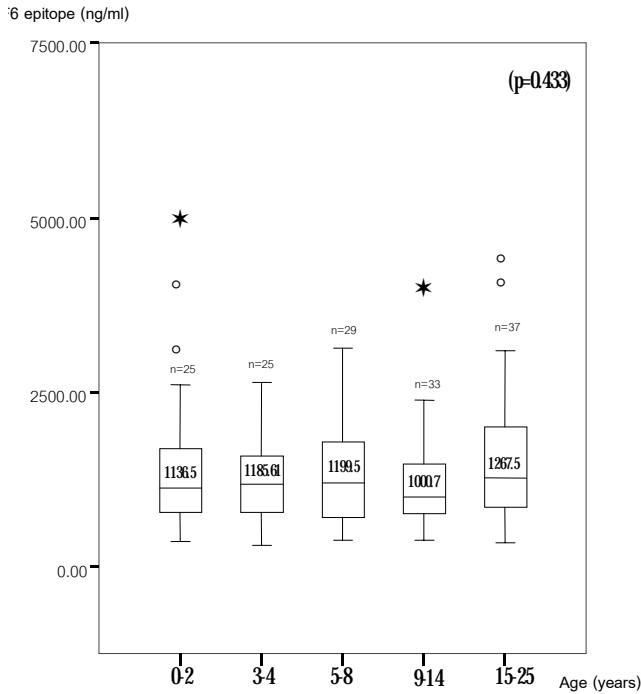
ลูกม้าอายุแรกเกิดถึงสองปี ซึ่งแตกต่างจากน้ำในช่วงอายุอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.0001$) ดังแสดงในรูปที่ 4 และเมื่อดูความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของ 3B3 epitope และ WF6 epitope ในซีรัมของน้ำที่เป็นโรคข้อเสื่อมพบมีความสัมพันธ์กันน้อยมาก (ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ = 0.013)

วิจารณ์และสรุปผล

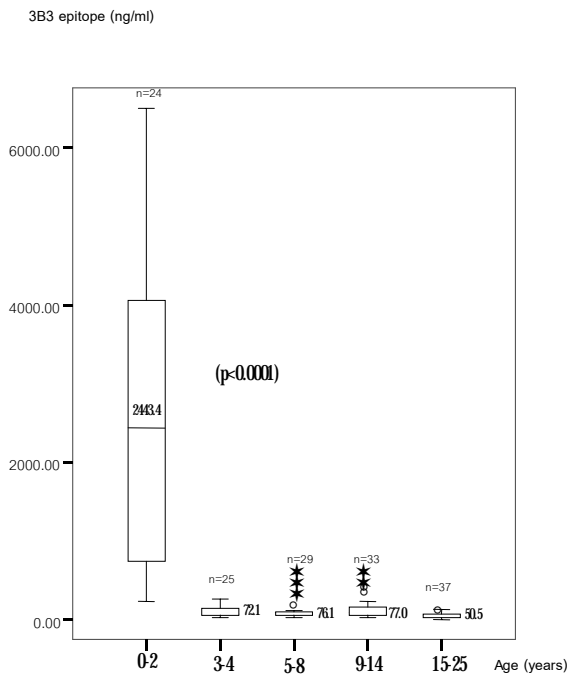
คอนดรอยตินซัลเฟตโปรตีนไกลัยแคนที่พบเป็นองค์ประกอบสำคัญของเนื้อกระดูกอ่อนผิวข้อ ถูกสร้างขึ้นโดยเซลล์กระดูกอ่อน (chondrocyte) ซึ่งตามปกติกระดูกอ่อนผิวข้อจะมี



รูปที่ 2. ความเข้มข้นของ 3B3 chondroitin sulfate epitope ในซีรัมของน้ำปกติ (non OA) เปรียบเทียบกับน้ำที่เป็นโรคข้อเสื่อม (OA) เส้นกลางกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่ามัธยฐาน เส้นขอบล่างและขอบบนของกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าที่เปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 25 และ 75 ตามลำดับ เส้นขีดแนวนอนข้างล่างและข้างบนนอกกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าต่ำสุดและสูงสุดที่ยังไม่ผิดปกติตามลำดับ วงกลมแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติ ดอกจันแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติมาก n = จำนวนตัวอย่าง



รูปที่ 3. ความเข้มข้นของ WF6 chondroitin sulfate epitope ในซีรัมของม้าปกติเปรียบเทียบกันในแต่ละกลุ่มช่วงอายุ เส้นกลางกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่ามัธยฐาน เส้นขอบล่างและขอบบนของกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าที่เปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 25 และ 75 ตามลำดับ เส้นขีดแนวนอนข้างล่างและข้างบนนอกกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าต่ำสุดและสูงสุดที่ยังไม่ผิดปกติตามลำดับ วงกลมแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติ ดอกจันแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติมาก n= จำนวนตัวอย่าง



รูปที่ 4. ความเข้มข้นของ 3B3 chondroitin sulfate epitope ในซีรัมของม้าปกติเปรียบเทียบกันในแต่ละกลุ่มช่วงอายุ เส้นกลางกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่ามัธยฐาน เส้นขอบล่างและขอบบนของกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าที่เปอร์เซ็นต์ไทล์ที่ 25 และ 75 ตามลำดับ เส้นขีดแนวนอนข้างล่างและข้างบนนอกกรอบสี่เหลี่ยมแสดงค่าต่ำสุดและสูงสุดที่ยังไม่ผิดปกติตามลำดับ วงกลมแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติ ดอกจันแสดงค่าที่สูงหรือต่ำผิดปกติมาก n= จำนวนตัวอย่าง

ขบวนการสร้างและสลายสารเหล่านี้ย่อมสมดุลง แต่เมื่อเกิดพยาธิสภาพใดๆ ก็ตามที่ทำให้กระดูกอ่อนถูกทำลาย จะมีการสลายคอนดรอยตินซัลเฟตโปรตีโอไกลัยแคนนี้ออกมาอยู่ในน้ำไขข้อมากขึ้น และเข้าไปสู่ซีรัมได้มากขึ้น เช่นเดียวกัน จึงเป็นไปได้ว่าการสลายคอนดรอยตินซัลเฟตโปรตีโอไกลัยแคนออกมาในซีรัมนั้นน่าจะมีความสัมพันธ์กับโรคข้อเสื่อมซึ่งเป็นภาวะของการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนผิวข้ออย่างหนึ่ง การตรวจวัดระดับคอนดรอยตินซัลเฟตโปรตีโอไกลัยแคนจึงน่าจะสามารถบอกถึงเมตาบอลิซึมหรือพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นภายในกระดูกอ่อนผิวข้อได้

มีรายงานที่กล่าวถึงการตรวจวัดคอนดรอยตินซัลเฟตโปรตีโอไกลัยแคนโดยใช้โมโนโคลนแอนติบอดีหลายชนิดแต่ที่ได้รับความนิยมมากที่สุดและมีการผลิตออกในเชิงพาณิชย์ด้วยคือ mAb 3B3 ซึ่งโมโนโคลนอลแอนติบอดีตัวนี้จะจำเพาะต่อสายคอนดรอยตินซัลเฟตที่สร้างใหม่โดยเซลล์กระดูกอ่อน⁽⁸⁾ และมีรายงานว่าอิพิโทปตัวนี้มีปริมาณสูงขึ้นเมื่อตรวจวัดในเนื้อกระดูกอ่อนผิวข้อของ third carpal bone ในม้าที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดข้ออักเสบ⁽³⁾ และจากเนื้อกระดูกอ่อนที่แตกออกมาในม้าที่เป็น distal tibial osteochondrosis⁽²⁾ อย่างไรก็ตาม จากรายงานของ Hardingham และคณะ⁽⁹⁾ พบว่าอิพิโทปตัวนี้มีปริมาณสูงขึ้น ในระยะเริ่มแรกของภาวะข้อเสื่อม ทั้งนี้เนื่องจากกระดูกอ่อนได้มีการปรับสร้างซ่อมแซมตัวเองโดยผลิตสายคอนดรอยตินซัลเฟตเพิ่มมากขึ้นเพื่อชดเชยใน

ส่วนที่ถูกทำลายไป แต่หากการทำลายมีมากหรือเป็นลักษณะของโรคเรื้อรัง เซลล์กระดูกอ่อนเองก็จะถูกทำลายไม่สามารถผลิตสายคอนดรอยตินซัลเฟตใหม่ออกมาได้อีก จะพบว่าปริมาณของ 3B3 epitope ลดต่ำลง ซึ่งผลการทดลองในครั้งนี้ก็พบว่าปริมาณของ 3B3 epitope ของม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อมต่ำกว่าม้าปกติอย่างมีนัยสำคัญ อาจเป็นเพราะกลุ่มตัวอย่างของม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อมที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ได้ตัดสินจากภาพรังสี ซึ่งจะมองเห็นพยาธิสภาพของกระดูกอ่อนผิวข้อก็เมื่อเกิดความเสียหายไปมากแล้วจนทำให้อัตราการสร้างสายคอนดรอยตินซัลเฟตโปรตีโอไกลัยแคนมีน้อยกว่าการสลาย ระดับ 3B3 epitope จึงลดต่ำลงเมื่อเปรียบเทียบกับม้าปกติ นอกจากนั้นการพบปริมาณ 3B3 epitope สูงมากในม้าแรกเกิดจนถึงสองปีซึ่งเป็นวัยที่กระดูกอ่อนกำลังมีการเจริญเติบโตเป็นการยืนยันอีกครั้งว่า 3B3 epitope น่าจะเป็น marker ที่ดีของภาวะ anabolism ของกระดูกอ่อน

ส่วน mAb WF6 เป็นโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่ผลิตได้จากห้องปฏิบัติการวิจัยโรคกระดูกและข้อ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พบว่ามีความจำเพาะต่อสายคอนดรอยตินซัลเฟตที่พบได้ทั่วไปในกระดูกอ่อนผิวข้อ ซึ่งมีผู้ทำการศึกษาไว้ในคนและรายงานไว้ว่า WF6 epitope จะเพิ่มสูงขึ้นในซีรัมของคนที่เป็นโรคข้อเสื่อมอย่างมีนัยสำคัญ⁽⁷⁾ สอดคล้องกับผลการศึกษาในครั้งนี้ซึ่งพบว่าม้าที่เป็นโรคข้อเสื่อมก็จะพบปริมาณอิพิโทปชนิด

นี้ในซีรัมสูงกว่าม้าปกติอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน โดยไม่พบปัจจัยกวนจากอายุของม้าเลย แสดงให้เห็นว่าปริมาณของอิพิโทปชนิดนี้ในซีรัมมีความสัมพันธ์กับการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อน (catabolic marker) เป็นลักษณะสำคัญที่พบในโรคข้อเสื่อมด้วย

แม้ว่าโมโนโคลนอลแอนติบอดีทั้งสองชนิดจะมีความจำเพาะต่อสายคอนดรอยตินซัลเฟตเหมือนกัน แต่อิพิโทปของมันมีความแตกต่างกัน โดย mAb 3B3 จะจำเพาะต่อสายคอนดรอยตินซัลเฟตที่สร้างใหม่ (neo-epitope) จึงบ่งบอกถึงสภาวะที่กระดูกอ่อนมีกระบวนการสร้างหรือซ่อมแซมตัวเองได้ดี ในขณะที่ mAb WF6 จะจำเพาะต่อสายคอนดรอยตินซัลเฟตที่พบอยู่ทั่วไปในกระดูกอ่อน (native epitope) ซึ่งถูกสลายได้โดยเอนไซม์ chondroitinase ABC และหากมีการสลายคอนดรอยตินซัลเฟตโปรตีนไกลัยแคนนี้ออกมาจากกระดูกอ่อนผิวข้อมากก็จะพบปริมาณของอิพิโทปตัวนี้มากขึ้นใน biological fluids เช่น ในน้ำไขข้อหรือในซีรัมได้

การทดลองนี้ใช้การตรวจวัดปริมาณอิพิโทปทั้งสองชนิดในซีรัม ซึ่งผู้เขียนพบว่าสามารถเก็บตัวอย่างจากม้าได้ง่ายและปลอดภัยกว่าการเจาะน้ำไขข้อหรือตรวจวัดจากชิ้นส่วนเนื้อกระดูกอ่อนโดยตรง และยังไม่เคยมีผู้ทำการศึกษาเรื่องนี้ในม้าในประเทศไทยมาก่อน จึงมีแนวโน้มที่จะสามารถพัฒนาวิธีการนี้ในการตรวจวินิจฉัยหรือติดตามการรักษาโรคข้อซึ่งเป็นปัญหาสำคัญของม้าในประเทศไทยได้

อนาคต โดย WF6 epitope น่าจะเป็น marker ที่ใช้สำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคข้อเสื่อม เนื่องจากสามารถบ่งบอกถึงการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนผิวข้อได้ดี ส่วน 3B3 epitope อาจนำไปใช้ในการติดตามการรักษา หรืองานทดลองที่เกี่ยวกับยาหรือวิธีการรักษาโรคข้อ เพื่อดูถึงการตอบสนองต่อการรักษาของกระดูกอ่อนผิวข้อในม้าได้

เอกสารอ้างอิง

1. Widmer WR, Blevins WE. Radiographic evaluation of degenerative joint disease in horse: interpretive principle. *Compendium* 1994;16:907-18.
2. Lillich JD, Weisbrode SE. Biochemical, histochemical, and immunohistochemical characterization of distal tibial osteochondrosis in horses. *Am J Vet Res* 1997;58:89-98.
3. Todhunter PG, Kammermann JR, Wright JM. Immunohistochemical analysis of an equine model of synovitis-induced arthritis. *Am J Vet Res* 1996;57:1080-93.
4. Belcher C, Yaqub R, Fawthrop F, Bayliss M, Doherty M. Synovial fluid chondroitin and keratan sulfate epitopes, glycosaminoglycans, and hyaluronan in arthritic and normal knees. *Ann Rheum Dis* 1997;56:299-307.
5. Hazell PK, Dent C, Fairclough JA, Bayliss MT, Hardingham TE. Changes in glycosaminoglycan epitope levels in knee joint fluid following injury. *Arth Rheum* 1995;38:1-7.
6. Middleton J, White S, Parry E, Jackson C, Dixey J, Ashton B. Changes in serum chondroitin sulfate epitopes 3-B-3 and 7-D-4 in early rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 1999;38:837-40.
7. Peerapan Pothacharoen. The quantitative analysis of chondroitin sulfate epitopes and

- hyaluronan as diagnostic markers for degenerative joint diseases by ELISA technique. Chiang Mai : Graduate School Chiang Mai University, 2000:86.
8. Caterson BJ, Griffin, et al. Monoclonal antibodies against chondroitin sulphate isomers : their use as probes for investigating proteoglycan metabolism. *Biochem Soc Trans* 1990;18:820-3.
9. Hardingham TE. Changes in chondroitin sulphate structure induced by joint disease. *Acta Scand* 1995;226 (suppl):107-10.

CHONDROITIN SULFATE EPITOPES IN SERA OF NORMAL AND OSTEOARTHRITIC HORSES

Siriporn Peansukmanee,¹ Chumnarn Trinarong,¹ Prachya Kongtawelert,²
Siriwan Ong-chai²

¹*Department of Equine Clinic, Faculty of Veterinary Medicine,*

²*Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chiang Mai University*

Abstract Equine osteoarthritis, also called degenerative joint disease, may be defined as a disease of diarthrodial joint comprising destruction of articular cartilage. Chondroitin sulfate proteoglycan, a major biomolecular substance in cartilage matrix, is released when deterioration of articular cartilage occurred. Immunoassay using specific monoclonal antibodies, mAb WF6 and 3B3 can detect the released chondroitin sulfate in serum. Objective of this study is to compare serum chondroitin sulfate proteoglycan (WF6 and 3B3 epitopes) among each age group of horses and between osteoarthritic horses and non-osteoarthritic horses. These epitopes were measured by competitive ELISA. The result showed the significantly higher ($p < 0.0001$) of WF6 epitope that was native epitope in osteoarthritic horses than in non-osteoarthritic horses while there was no different significance of this epitope among each age group of horses. Contrary to 3B3 epitope that was neo-epitope, there was significantly lower ($p < 0.001$) 3B3 epitope level in osteoarthritic horses but higher in new borned to two-year-old foals when compare with other age groups. This suggested that WF6 epitope can be use as cartilage destruction marker in diagnosis osteoarthritis and 3B3 epitope as cartilage anabolism marker in following up osteoarthritic treatment.

Keywords : Horse - osteoarthritis, Chondroitin sulfate epitope
