

УДК 612.015.39:612.017.1:616.72-008.8-002.16-007.17

ВЗАИМОСВЯЗЬ НЕКОТОРЫХ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ БОЛЬНЫХ ДЕГЕНЕРАТИВНО-ДИСТРОФИЧЕСКИМИ ПОРАЖЕНИЯМИ СУСТАВОВ

Матвеева Е.Л., Чепелева М.В.

ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» имени академика Г.А. Илизарова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Курган, e-mail: office@ilizarov.ru

Исследуя синовиальную жидкость здоровых людей и людей с остеоартрозом различной этиологии определяли уровень общего белка, распределение белковых фракций концентрации иммуноглобулинов А, М, G и их взаимосвязь. Было показано возрастание общего белка и перераспределение белковых фракций при наличии остеоартроза. Также было обнаружено возрастание концентраций IgA, IgM, IgG, которое зависело от этиологии, достигая максимальных значений при асептическом некрозе головки бедренной кости. Были обнаружены корреляционные связи между иммуноглобулинами класса А и β-глобулинами, иммуноглобулинами класса М, общим белком, β- и γ-глобулиновой фракциями.

Ключевые слова: остеоартроз, синовиальная жидкость, иммуноглобулины, белковые фракции

RELATIONSHIP SOME IMMUNOLOGICAL AND BIOCHEMICAL INDICES IN THE SINOVIAL FLUID OF PATIENS WITH DEGENERATIVE LESIONS OF THE JOINT

Matveeva E.L., Chepeleva M.V.

Federal State Institution «Russian Scientific Center» Restorative Traumatology and Orthopaedics «Academician G.A. Ilizarov» Ministry of Health of the Russian Federation, Kurgan, e-mail: office@ilizarov.ru

We studied the synovial fluid of healthy subjects and individuals with advanced OA of various etiology in order to reveal the biological changes in the levels of total protein, protein fractions and immunoglobulins A, M, G and their interrelationship. In the SF from the joints with advanced OA, the total protein rose significantly and its fractions redistributed. We also revealed significantly high concentrations of IgA, IgM, and IgG in them that depended on the etiology as the highest values were detected in aseptic necrosis of the femoral head. There was a strong correlation between all classes of immunoglobulins A and β-globulins and a strong correlation between the total protein and IgM and, as well as between IgM and β- or γ-globulins.

Keywords: osteoartroz, synovial fluid, immunoglobulins, protein fractions

Не вызывает сомнений активное участие иммунной системы в развитии и прогрессировании остеоартроза [1, 2]. В настоящее время описаны механизмы иммунного ответа при ревматоидном артрите, воспалительных артропатиях [3, 4]. В пользу участия иммунопатологических процессов в патогенезе остеоартроза свидетельствует наличие в тканях пораженного сустава признаков местных иммунологических реакций – появление скоплений плазматических клеток, фиксация иммуноглобулинов, компонентов комплемента в стенках мелких сосудов [5]. Более, чем в половине случаев при остеоартрозе коленного сустава отмечается инфильтрация синовиальной оболочки В-лимфоцитами [6]. Немногочисленные сообщения о влиянии этиологического фактора на выраженность иммунопатологических реакций в суставных тканях достаточно противоречивы [7]. Недостаток такой информации ограничивает возможности применения исследований синовиальной

жидкости в клинической практике. Целью нашего исследования являлось проведение сравнительного анализа биохимических показателей белкового спектра, а также изучение иммуноглобулинов разных классов в синовиальной жидкости у пациентов с остеоартрозом коленного и тазобедренного суставов III стадии различной этиологии.

Материалы и методы исследования

Для исследования состава синовиальной жидкости в норме был получен материал от 21 трупа внешне погивших людей обоего пола (20 мужчины и 6 женщин) в возрасте от 36 до 78 лет, не имевших зарегистрированной экспертом суставной патологии. Синовиальная жидкость была получена спустя 1½–2 ч (в отдельных случаях 3–6 ч с момента наступления смерти, до проведения каких-либо патолого-анатомических мероприятий). Отмечался цвет синовиальной жидкости, ее вязкость, прозрачность, наличие примесей крови. Для объективизации результатов исследования, их статистической обработки забор материала проводили с учетом возраста и пола. Основным материалом исследования являлись 50 образцов синовиальной жидкости коленных и тазобедренных

суставов больных остеоартрозами III стадии заболевания (27 мужчин и 23 женщины) в возрасте от 36 до 70 лет. По этиологии заболевания 1 группу составили больные с гонартрозом идиопатической этиологии, 2 – группу – гипопластическим коксартрозом сустава, 3 – посттравматическим гонартрозом сустава и 4 – остеоартрозом тазобедренного сустава на стадии асептического некроза головки бедренной кости.

Количественное определение иммуноглобулинов классов А, М, G в синовиальной жидкости проводилось на иммуноферментном анализаторе BIO-TEK Instruments Inc, EL_x808 (США) с использованием набора реагентов (производитель – ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск). Общее количество белка определяли биуретовым методом, электрофоретическое разделение белковых фракций проводили используя прибор для горизонтального электрофореза Paragon System, «Beckman-Culter», (США).

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы Attestat 8.1. (И.П. Гайдышев 2008) методом вариационной статистики для малых рядов наблюдений, вычисляя сред-

нюю арифметическую (M), среднюю ошибку средней арифметической (m) и среднее квадратичное отклонение (σ), достоверность отличий оценивали, вычисляя непараметрический критерий Вилкоксона (W) и степень вероятности (p). Взаимосвязи переменных анализировали методом ранговой корреляции Спирмена (r_s). Различия между сравниваемыми группами рассматривали как достоверные при значениях степени вероятности < 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

В синовиальной жидкости группы нормы определение иммуноглобулинов выявило следовые количества иммуноглобулинов класса G. Иммуноглобулины классов А и М обнаружены не были. При наличии дегенеративно-дистрофического процесса в суставе достоверно возрастал уровень иммуноглобулинов всех классов (рис. 1).

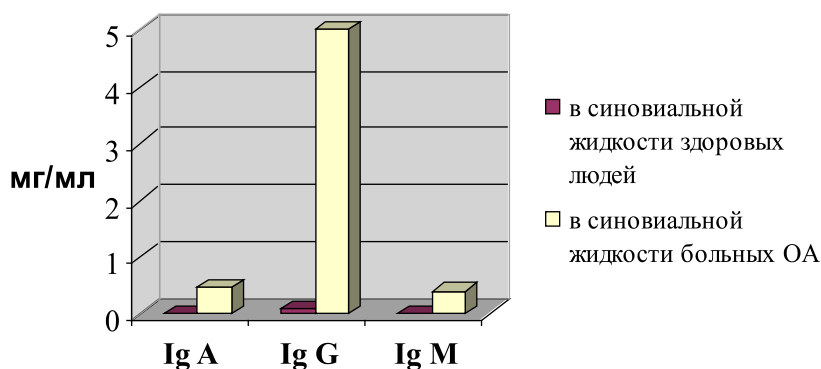


Рис. 1

Данные по содержанию белковых фракций в синовиальной жидкости здоровых людей полученные К. Kleesiek [8]. Полученные нами показатели распределения белко-

вых фракций и соотношения альбуминов и глобулинов нормальной синовиальной жидкости практически совпадают с приводимыми в литературе значениями (табл. 1).

Таблица 1

Содержание белка и состав белковых фракций синовиальной жидкости здоровых людей (литературные данные и результаты собственных исследований)

Показатели	1	2*
Белок общий, г/л	20,0	14,2–20,4
Белок, фракции, % Альбумины	72,0	62,5–69,8
α1 – глобулины	4,5–4,9	4,4–5,5
α2 – глобулины	3,2–3,8	5,0–5,6
β – глобулины	9,2–10,0	10,2–11,9
γ – глобулины	9,3–12,4	12,8–14,0
A/G		1,89–2,07

Примечание: *1 – данные К. Kleesiek (1980), 2 – собственные результаты.

При развитии дегенеративно-дистрофических изменений (ДДИ) в суставе достоверно возрастает содержание общего белка

в синовиальной жидкости. Кроме того, мы отметили перераспределение % содержания белковых фракций (рис. 2). Мы не отметили

изменения отношения альбуминов и глобулинов, но в глобулиновой фракции при развитии патологического процесса про-

изошло достоверное возрастание %-го содержания γ - и β -глобулинов при снижении α_2 -глобулинов.

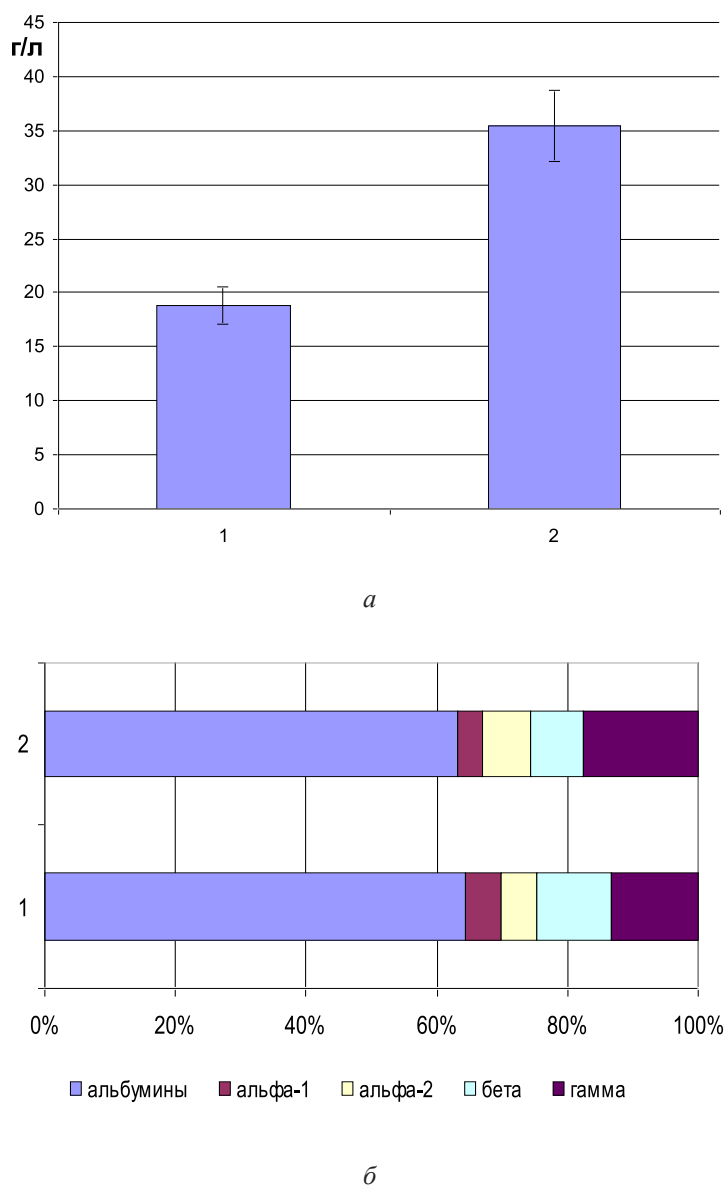


Рис. 2. Показатели общего белка (а) и белковых фракций (б) в синовиальной жидкости в норме (1) и при остеоартрозе (2)

Уменьшение количества α -глобулинов синовиальной жидкости больных остеоартрозом связано с перераспределением белковых фракций и возрастанием концентраций β - и γ -глобулиновых фракций, т.е. возрастанием количества иммуноглобулинов. Как уже было сказано, в синовиальной жидкости пациентов с гонартрозом появляются иммуноглобулины всех трех классов в значениях, приближающихся к нижней границе нормы для сыворотки крови [11]. Сравнительный

анализ данных в отношении иммуноглобулинов классов А и G у больных гонартрозом идиопатической и посттравматической этиологии, гипопластическим коксартрозом и асептическим некрозом головки бедренной кости представлен на рис. 3 и 4.

В синовиальной жидкости больных остеоартрозом крупных суставов в небольших количествах был обнаружен IgM, который не определяется в синовиальной среде здоровых суставов (рис. 5).

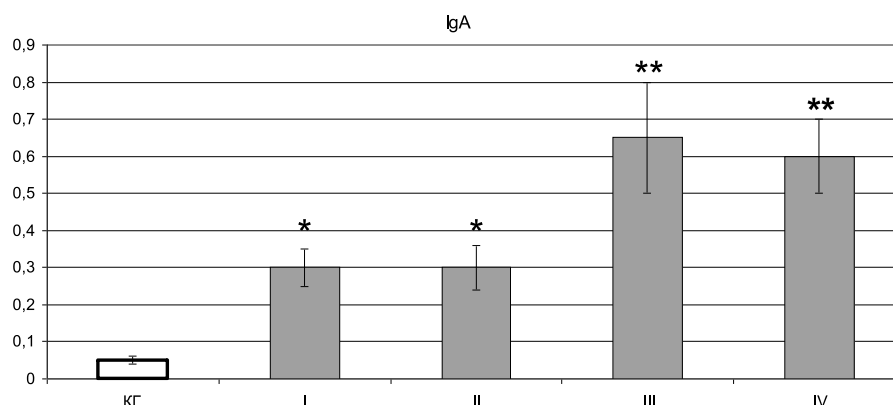


Рис. 3. Уровень IgA в синовиальной жидкости пациентов с ОА крупных суставов различной этиологии (мг/мл). I – идиопатический ОА коленного сустава, II – гипопластический ОА тазобедренного сустава, III – посттравматический ОА коленного сустава, IV – ОА тазобедренного сустава – исход АНГБ. Примечание: * – $p \leq 0.05$, ** – $p \leq 0.01$ – в сравнении с контрольной группой

Наиболее высокими были значения IgG

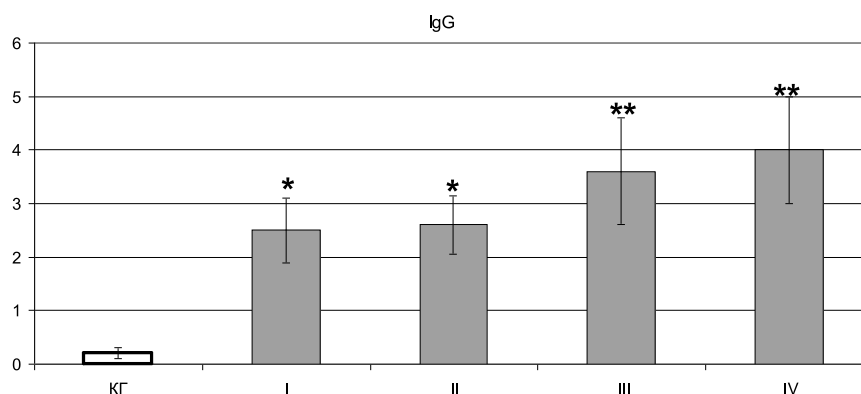


Рис. 4. Уровень IgG в синовиальной жидкости пациентов с ОА крупных суставов различной этиологии (мг/мл). I – идиопатический ОА коленного сустава, II – гипопластический ОА тазобедренного сустава, III – посттравматический ОА коленного сустава, IV – ОА тазобедренного сустава – исход АНГБ. Примечание: * – $p \leq 0.05$, ** – $p \leq 0.01$ – в сравнении с контрольной группой

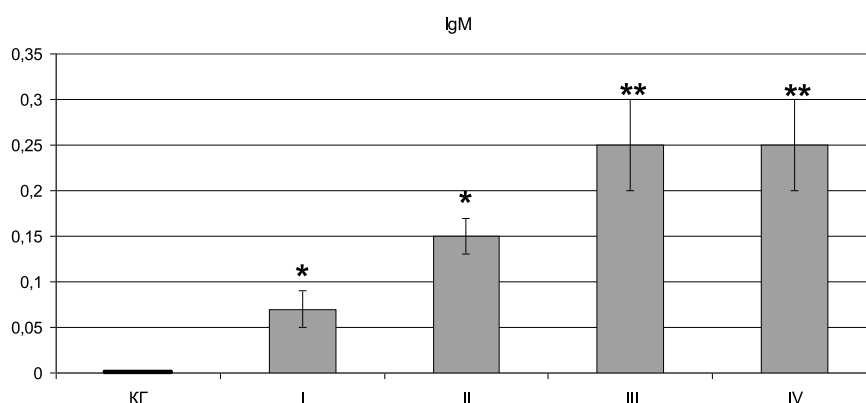


Рис. 5. Уровень IgM в синовиальной жидкости пациентов с ОА крупных суставов различной этиологии (мг/мл). I – идиопатический ОА коленного сустава, II – гипопластический ОА тазобедренного сустава, III – посттравматический ОА коленного сустава, IV – ОА тазобедренного сустава – исход АНГБ. Примечание: * – $p \leq 0.05$, ** – $p \leq 0.01$ – в сравнении с контрольной группой

Присутствие иммуноглобулина М в синовиальной жидкости предполагает наличие постоянной аутоиммунной реакции [12]. Преобладание IgG говорит о повторной экспозиции иммунного ответа. Самые высокие значения концентраций иммуноглобулинов наблюдаются у больных асептическим некрозом головки бедренной кости, а самые низкие – у больных идиопатической этиологии. Можно говорить о том, что сдвиг в системе иммунитета приводит к самым тяжелым

последствиям для страдающего сустава или наоборот самые выраженные изменения в суставах происходят при наличии иммунопатологических процессов. Определяя корреляционную связь иммуноглобулинов и белкового спектра синовиальной жидкости, мы рассчитывали коэффициент и значимость корреляции для показателей белковых фракций и иммуноглобулинов классов А, М, G. Результаты расчета показателей корреляции представлены в табл. 2.

Таблица 2

Значения корреляционной связи между показателями белковых фракций и иммуноглобулинов синовиальной жидкости больных ОА.

	Ig A	Ig M	Ig G
ОБ	0,41 ^{0,18}	0,79 ^{0,02}	0,09 ^{0,43}
Альбумины	0,01 ^{0,49}	0,32 ^{0,02}	0,27 ^{0,28}
α_1 -глобулины	0,38 ^{0,20}	0,50 ^{0,13}	-0,10 ^{0,42}
α_2 -глобулины	0,10 ^{0,41}	0,31 ^{0,25}	-0,28 ^{0,27}
β -глобулины	0,75 ^{0,03}	0,85 ^{0,006}	0,01 ^{0,49}
γ -глобулины	0,20 ^{0,33}	0,65 ^{0,05}	-0,13 ^{0,39}

Пр и м е ч а н и е : Верхний индекс – уровень значимости (p) коэффициента корреляции.

Имуноглобулин М является иммуноглобулином первичного иммунного ответа и вопреки традиционной исторической характеристике антител, как γ -глобулинов, мигрирует при электрофорезе в β - и α_2 -глобулиновых фракциях (13). Возрастание значений данной фракции может свидетельствовать о развитии первичного воспаления и о вовлечении в процесс острофазовых белков (например, α_2 – макроглобулина).

Т.о. у пациентов с остеоартрозом имеются существенные количественные и качественные сдвиги в иммунологических и биохимических показателях синовиальной жидкости, заключающиеся в увеличении количества белка и изменении спектра белковых фракций. Кроме того, отмечено существенное возрастание иммуноглобулинов всех классов с преобладанием последних у больных с АНГБ и больных травматической этиологии. Возможно, что при ведущей роли травматизации и микротравматизации в патогенезе остеоартроза, дегенерации хряща сопровождается активным поступлением в синовиальную жидкость продуктов деградации, которые обладают антигенными свойствами и индуцируют выработку аутоантител [19, 20, 21]. В качестве собственных анти-

генов могут выступать фрагменты молекул протеогликанов и коллагена, мембран хондроцитов и др. Поскольку терапия остеоартроза очень часто включает в себя препараты гликозаминогликанов [22, 23], полученные из суставного хряща, следует обратить особое внимание на определение биохимических и иммунологических показателей синовиальной жидкости. При возрастании концентраций белка и иммуноглобулинов считаем применение такого рода препаратов предполагается не оправданным. Возможно в таком случае следует назначать иммуномодулирующие препараты.

Выводы

1. В синовиальной жидкости больных остеоартрозом наблюдается достоверное увеличение концентрации общего белка и иммуноглобулинов всех классов а также перераспределение белковых фракций.

2. Обнаружена сильная корреляционная связь между иммуноглобулинами класса А и β -глобулинами

3. Обнаружена сильная корреляционная связь между иммуноглобулинами класса М, общим белком, β - и γ -глобулиновой фракциями.

Список литературы

1. Lotz M., Martel-Pelletier J., Christiansen C., Brandi M.L., Bruyère O., Chapurlat R., Collette J., Cooper C., Giacomelli G., Kanis J.A., Karsdal M.A., Kraus V., Lems W.F., Meulenbelt I., Pelletier J.P., Raynauld J.P., Reiter-Niesert S., Rizzoli R., Sandell L.J., Van Spil WE, Reginster J.Y. Value of biomarkers in osteoarthritis: current status and perspectives // *Ann Rheum Dis.* – 2013. – Vol. 72. – № 11. – P. 1756–1763.
2. Van den Berg W.B. Argument for interleukin 1 as a target in chronic arthritis // *Ann Rheum Dis* – 2000. – Vol. 59, – № 1. – P. 81–84.
3. Balakrishnan L., Bhattacharjee M., Ahmad S., Nirujogi R.S., Renuse S., Subbannayya Y., Marimuthu A., Srikanth S.M., Raju R., Dhillon M., Kaur N., Jois R., Vasudev V., Ramachandra Y., Sahasrabudhe N.A., Prasad Ts.K., Mohan S., Gowda H., Shankar S., Pandey A. Differential proteomic analysis of synovial fluid from rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients // *Clin Proteomics* – 2014. – Vol. 11. – №1. – P.1.
4. Sokolove J., Lepus C.M. Role of inflammation in the pathogenesis of osteoarthritis: latest findings and interpretations // *Ther Adv Musculoskelet Dis.* – 2013. – Vol. 5. – №2. – P. 77–94.
5. Heinegard D.J. Macromolecular markers in joint disease // *Rheumatol Suppl.* – 1991. – Vol. 27. – P. 27–29.
6. Da R.R., Qin Y., Baeten D., Zhang Y. B-cell expansion and somatic hypermutation of Ig variable heavy chain genes in the synovial membrane of patients with osteoarthritis // *J Immunol* – 2007. – Vol. 178. – №1. – P. 557–565.
7. Shine B., Bourne J.T., Begum Baig F., Dacre J., Doyle D.V. C reactive protein and immunoglobulin G in synovial fluid and serum in joint disease // *Ann Rheum Dis.* – 1980. – Vol. 50. – №1. – P. 32–35.
8. Kleesiek K. Joint diseases-clinical chemical and pathobiochemical findings for the differential diagnosis of joint diseases // *Med Welt* – 1991. – Vol. 31. – №45. – P. 1609–1617.
9. Borth W., Dunky A., Kleesiek K. Alpha 2-macroglobulin-proteinase complexes as correlated with alpha 1-proteinase inhibitor-elastase complexes in synovial fluids of rheumatoid arthritis patients // *Arthritis Rheum* – 1986. – Vol. 29. – № 3. – P. 319–325.
10. Шевченко О.П. Белки острой фазы воспаления // О.П.Шевченко. – 1996. – URL: <http://www.clinlab.ru/win/LIBRARY/JOURNLAB/lab1/lab1ct1.htm>.
11. Перспективы исследования синовиальной жидкости для клинической практики (литературный обзор) /Е.Л. Матвеева, А.Г. Гасанова, Е.С. Спиркина // *Гений ортопедии.* – 2012. – № 2. – С. 148–151.
12. Grönwall C., Vas J., Silverman G.J. Protective roles of natural IgM antibodies // *Front Immunol.* – 2012. – Vol. 4. – № 3. – P. 66.
13. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы общей патологии. Ч. 1. Основы общей патофизиологии. – СПб.: Элби, 1999. – 624 с.