

УДК 616 – 071/616 – 003.93/616.72 – 007.17

ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРОКСИДАЦИИ И БЕЛКОВОГО СПЕКТРА В СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ БОЛЬНЫХ С ПАТОЛОГИЕЙ СУСТАВОВ

Матвеева Е.Л., Карасев Е.А., Карасева Т.Ю., Спиркина Е.С., Талашова И.А.

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

Усиление деструктивных процессов в результате развития окислительного стресса может являться патогенетическим фактором развития дегенеративно-дистрофического процесса в суставе. Целью настоящей работы являлось определение показателей перекисного окисления белков и липидов в синовиальной жидкости у больных с травматическими и дегенеративно-дистрофическими поражениями коленного сустава. На основании исследования 29 образцов синовиальной жидкости больных с травматическим повреждением и остеоартрозом коленного сустава было обнаружено достоверное возрастание количества белка и общих липидов, сиаловых кислот; снижение продуктов ПОЛ в обеих группах больных и возрастание первичных продуктов ПОБ при остеоартрозе.

Ключевые слова: остеоартроз, травматическое повреждение сустава, синовиальная жидкость, перекисное окисление липидов, перекисное окисление белков, белковые фракции

CHANGES IN THE SPECTRUM AND PROTEIN PEROXIDATION IN THE SYNOVIAL FLUID OF PATIENTS WITH JOINT DAMAGE

Matveeva E.L., Karasev E.A., Karaseva T.Y., Spirkina E.S., Talashova I.A.

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

Strengthening destructive processes resulting from the development of oxidative stress may be a pathogenetic factor in the development of degenerative joint dystrofichesogo process. The aim of this study was to determine indicators of peroxidation of lipids and proteins in the synovial fluid of patients with traumatic and degenerative lesions denerativno – knee. Based on the study of 29 samples of synovial fluid from patients with osteoarthritis and traumatic injury of the knee joint was observed significant increase in the number of total lipids and protein and sialic acids; reduction of lipid peroxidation products in both groups of patients and an increase in the primary products of PHB in osteoarthritis.

Keywords: otseoartroz, traumatic damage to the joint, synovial fluid, lipid peroxidation, protein peroxidation, protein fractions

Повреждения хряща суставных поверхностей коленного сустава и повреждения внутрисуставных структур (мениски, крестообразные связки) зачастую имеют одинаковую клиническую картину, которая проявляется выраженным болевым синдромом [1]. Данные клинического осмотра и лучевых методов исследования не во всех случаях позволяют установить истинный характер повреждений, что критично для выбора тактики лечения, так как повреждения хряща лечатся преимущественно консервативно, а повреждения менисков и связок требуют оперативного лечения. Проведение лечебно-диагностической артроскопии позволяет уточнить характер повреждений сустава, проводить лечебные манипуляции и проводить забор синовиальной жидкости для исследований. При травматических повреждениях сустава большое значение имеет вазоконстрикторная реакция, при развитии которой создаются все условия для интенсификации процессов пе-

роксидации [3]. Клинические наблюдения свидетельствуют, что сосудистая патология имеет значение и в развитии артроза. Усиление деструктивных процессов в результате развития окислительного стресса может являться патогенетическим фактором развития дегенеративно-дистрофического процесса в суставе [6].

Целью настоящей работы являлось определение показателей перекисного окисления белков и липидов в синовиальной жидкости у больных с травматическими и дегенеративно-дистрофическими поражениями коленного сустава.

Материалы и методы исследования

Были исследованы образцы синовиальной жидкости 29 больных в возрасте от 16 до 65 лет. Больные разделены на две группы: первая группа (13 человек) включала в себя 7 мужчин и 6 женщин с остеоартрозом коленных суставов. Вторая группа (16 человек) насчитывала 9 мужчин и 7 женщин с повреждением мениска и передней крестообразной связки. Контролем служили образцы синовиальной жидкости

внезапно погибших людей (31) обоего пола (23 мужчины и 8 женщин) в возрасте от 22 до 78 лет, не имевших зарегистрированной экспертом суставной патологии. Синовиальная жидкость была получена спустя 1,5–2 ч (в отдельных случаях 3–4, но не более 6 ч) с момента наступления смерти, до проведения каких-либо патологоанатомических мероприятий. Материал для исследования извлекался в соответствии с приказом Минздрава № 694 от 21 июля 1978 г. п. 2.24 «Инструкция о производстве судебно-медицинской экспертизы в СССР». Отмечался цвет синовии, ее вязкость, прозрачность, наличие примесей крови. Для объективизации результатов исследования, их статистической обработки забор материала проводили с учетом возраста и пола.

Общее количество белка определяли биуретовым методом, электрофоретическое разделение белковых фракций проводили без предварительной обработки синовии, используя прибор для электрофореза Helena («BioSciens Europe», Англия), производя расчет альбумин-глобулинового коэффициента, доли α -, β - и γ -глобулинов. Продукты перекисного окисления белков (ПОБ) синовиальной жидкости определяли в белковом осадке по реакции 2,4-динитрофенилгидразином. Продукты реакции регистрировали при длинах волн 270 нм первичные продукты – альдегиды (ПОБ₂₇₀), 363 и 370 нм вторичные продукты – кетоны (ПОБ₃₆₃₊₃₇₀). Степень окислительной модификации белков выражали в единицах оптической плотности (ед. опт. пл.) на 1 мг белка [2].

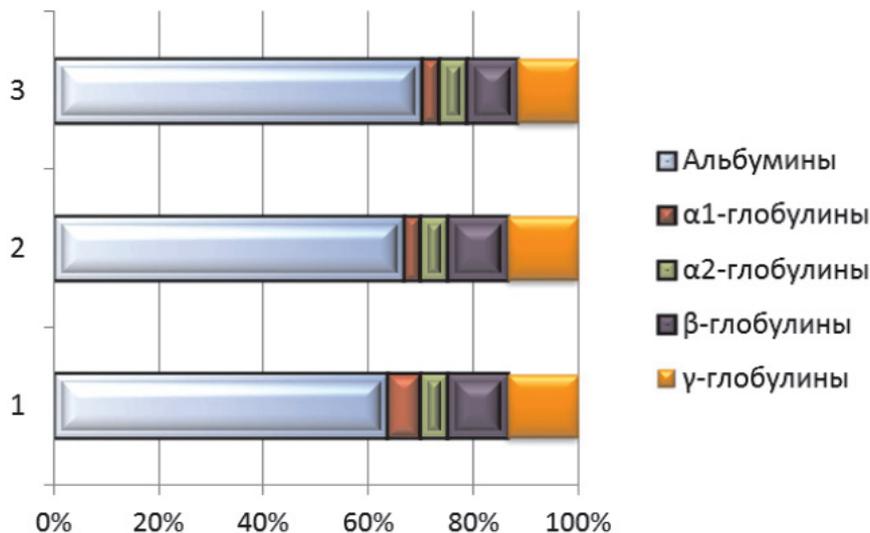
Оценку процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) осуществляли путем измерения в синовиальной жидкости содержания первичных (диеновые конъюгаты) и вторичных (малоновый диальдегид) продуктов ПОЛ. Содержание диеновых конъюгатов (ДК) определяли спектрофотометрически по разности оптической плотности между опытной и контрольной пробами при длине волны 232 нм [11]. Определение малонового диальдегида (МДА)

проводили по реакции с тиобарбитуровой кислотой [11]. Концентрацию продуктов перекисного окисления рассчитывали на мг общих липидов синовиальной жидкости, которые в свою очередь определяли с помощью наборов фирмы «Lachema» (Чехия). О состоянии антиоксидантной защиты судили по активности в синовиальной жидкости фермента каталазы, определение которой проводили спектрофотометрически при длине волны 410 нм согласно описанному методу, основанному на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс [8]. Сialовые кислоты определяли с помощью наборов «Сиалотест» (С.-Петербург, НПЦ «Эко-сервис»).

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программ «Microsoft Excel – 2007» и «AtteStat» Версия 1.0. Результаты исследований обработаны методом вариационной статистики, применяемым для малых выборок, с принятием вероятности (p), равной 0,05. Достоверность различий между группами наблюдений оценивали с помощью критерия Вилкоксона.

Результаты исследования и их обсуждение

Известные литературные источники приводят данные по содержанию белковых фракций, ссылаясь на результаты, полученные в 1980 г. К. Kleesiek. Полученные нами показатели распределения белковых фракций и соотношения альбуминов и глобулинов синовиальной жидкости здоровых людей практически совпадают с приводимыми в литературе значениями. Белковый спектр синовиальной жидкости коленного сустава в норме и при изученной нами суставной патологии мы приводим на рисунке.



Распределение белковых фракций синовиальной жидкости коленного сустава в норме и при патологии:

1 – группа нормальных значений; 2 – группа больных с остеоартрозом;
3 – группа больных с травматическими повреждениями сустава

Данные о том, что при развитии суставной патологии в синовиальной жидкости увеличивается количество белка, мы приводили в публикациях предыдущих лет [10]. У исследованных нами больных почти в 2 раза повышено содержание белка в синовии (таблица),

без достоверных различий как при остеоартрозе, так и при травматическом повреждении сустава. Кроме того, в обеих группах почти вдвое повышено содержание сиаловых кислот, которые принято считать одним из признаков воспалительного процесса.

Биохимические показатели синовиальной жидкости коленного сустава в норме и при патологии (ОА – остеоартроз, ПМ – повреждения мениска)

Показатели	Норма	ОА	ПМ
Белок (ОБ), г/л	16,3 ± 1,0	28,9 ± 3,9	30,4 ± 3,1
A/G	1,74 ± 0,11	2,17 ± 0,38	2,39 ± 0,11
ПОБ, альдегиды ед.опт.пл./ г ОБ	0,06 ± 0,01	0,13 ± 0,01*	0,035 ± 0,01
ПОБ кетоны, ед.опт.пл./ г ОБ	0,08 ± 0,01	0,06 ± 0,01*	0,03 ± 0,01
Сиаловые кислоты, ммоль/л	1,04 ± 0,04	2,10 ± 0,20	1,95 ± 0,16
Общие липиды (ОЛ), г/л	0,71 ± 0,07	2,57 ± 0,25	3,27 ± 0,44
МДА, нмоль/г ОЛ	2,44 ± 0,71	1,03 ± 0,31	0,79 ± 0,15
ДК, нмоль/г ОЛ	8,70 ± 1,98	2,12 ± 0,68	3,31 ± 0,56
Каталаза, мккатал/г ОБ	8,72 ± 2,72	5,9 ± 2,4	5,19 ± 1,69

Примечание: подчеркнуты результаты, отличающиеся от группы нормы с уровнем значимости $p < 0,05^*$ – различия между группами ОА и ПМ достоверны с уровнем значимости $p < 0,05$.

Исследование белкового спектра синовиальной жидкости больных показало достоверное снижение концентрации фракции α_1 -глобулинов (рис. 1). Основным составляющим этой фракции является один из важнейших антипротеазных белков – α_1 -ингибитор протеиназ (α_1 -антитрипсин). Поскольку его функция состоит в ингибировании активности протеиназ, поступающих из гранулоцитов в воспалительные экссудаты и вызывающих вторичное повреждение тканей, то снижение в сыворотке крови уровней ингибиторов протеиназ при ряде патологических состояний является плохим прогностическим признаком [5]. Очевидно, что аналогичный прогноз можно сделать и при исследовании синовиальной жидкости.

Исследование процессов перекисного окисления липидов и белков показало достоверные отличия от нормы в обеих группах больных. Недостоверно, но снижена активность каталазы синовии как при остеоартрозе, так и при травматических повреждениях коленного сустава, что свидетельствует, по крайней мере, о том, что усиления окислительных процессов в синовии не происходит.

Снижение количества продуктов перекисной окисления белка (ПОБ) достоверно при травматических повреждениях коленного сустава. При остеоартрозе в синовиальной жидкости наблюдается другая картина – достоверно (в 2 раза) повышается количество первичных продуктов ПОБ – альдегидов, количество же кетонов не изменяется. В обеих группах больных нами отмечено достоверное возрастание общих липидов (в 3,6 и в 4,6 раза при остеоартрозе и повреждении мениска соответственно). Однако количество продуктов перекисного окисления липидов достоверно снижено в обеих группах больных.

Выводы

Биохимические исследования синовиальной жидкости больных обеих групп показали достоверное возрастание количества белка и общих липидов, сиаловых кислот; снижение продуктов ПОЛ в обеих группах больных, возрастание первичных продуктов ПОБ у больных остеоартрозом и снижение продуктов перекисной окисления белка (как первичных, так и вторичных) у больных с повреждением мениска. Результат исследования биохимического состава синовиальной

жидкости следует учитывать при назначении медикаментозной терапии больным с суставной патологией [9]. Использование препаратов-антиоксидантов, по мнению ряда авторов [7, 4] является патогенетически обоснованным, однако критерии назначения препаратов-антиоксидантов в настоящее время не определены. Комплексная медикаментозная терапия остеоартроза может и должна включать в себя препараты-антиоксиданты, критерием назначения которых может служить уровень показателей перекисного окисления, определенных в синовиальной жидкости.

Список литературы

1. Биохимические исследования синовиальной жидкости у больных при заболеваниях и повреждениях крупных суставов: пособие для врачей / сост. В.В. Троценко. – М.: ЦНИИТО, 1999. – 24 с.
2. Вьюшин А.В., Вайдо А.И., Герасимова И.А. Процессы перекисного окисления белков у крыс, селективных по порогу возбудимости нервной системы // Бюл. эксперимент. биологии и медицины. – 2002. – Т. 133, № 3. – С. 292–296.
3. Долганова Т.И., Сазонова Н.В. Оценка периферической гемодинамики у больных остеоартрозом коленного сустава II стадии // Мед. науки. – 2009. – № 4. – С. 29–31.
4. Жигалова О.В., Балабина Н.М. Влияние антиоксидантов на прогноз жизни больных с остеоартрозом / Сборник научных трудов Sworld. – 2011. – Т. 37. – № 4. – С. 69а–71.
5. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы общей патологии. Ч. 1. Основы общей патофизиологии. – СПб.: Элби, 1999. – 624 с.
6. Истомин С.Ю. Прогнозирование и диагностика нестабильности после тотального эндопротезирования при деформирующем остеоартрозе тазобедренного сустава: дис. ... канд. мед. наук. – Курган, 2008. – 136 с.
7. Королева С.В., Львов С.Е., Григорьев Э.В., Мясоедова С.Е. Медикаментозное лечение остеоартроза (обзор литературы) // Травматология и ортопедия России. – 2006. – № 3(41). – С. 76–81.
8. Королюк М.А., Иванова Л.И., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
9. Матвеева Е.Л., Гасанова А.Г., Спиркина Е.С. Перспективы исследования синовиальной жидкости для клинической практики: (лит. обзор) // Гений ортопедии. – 2012. – № 2. – С. 148–151.
10. Матвеева Е.Л., Карасева Т.Ю., Карасев Е.А. Изменения в биохимическом составе синовиальной жидкости у больных при застарелых и свежих повреждениях мениска // Травматология и ортопедия России. – 2006. – № 2. – С. 199.
11. Орехович В.Н. Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – 392 с.