

УДК 616.72-008.8:577.152:616.728.3-002.16-007.17

**БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРЕКИСНОГО
ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ
БЕЛКОВ В СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ
С ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЕМ КОЛЕННОГО СУСТАВА**

Матвеева Е.Л., Спиркина Е.С., Талашова И.А.

ФГБУ РНЦ «ВТО» имени акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, Курган, e-mail: office@ilizarov.ru

Целью данной работы явилось проведение сравнительного анализа биохимического состава синовиальной жидкости больных с эндопротезированием коленного сустава, рандомизированных на группы со стабильным (n = 208) и нестабильным эндопротезом (n = 9). Материал исследования составили образцы синовиальной жидкости от 217 пациентов, полученные непосредственно перед проведением операции эндопротезирования коленного сустава. Горизонт исследования для выявления нестабильности эндопротеза составил 3 года наблюдения. Были определены биохимические показатели состава синовиальной жидкости: перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков, липидный спектр, состав белковых фракций и активность каталазы. В определении продуктов перекисидации наиболее информативными показателями являются малоновый диальдегид и активность антиоксидантного фермента – каталазы, показатели которых изменяются разнонаправленно в группах пациентов со стабильным и нестабильным эндопротезом коленного сустава.

Ключевые слова: синовиальная жидкость, перекисное окисление липидов, окислительная модификация белков, белковые фракции

**BIOCHEMICAL PARAMETERS OF LIPID PEROXIDATION
AND OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS IN THE SYNOVIAL
FLUID OF PATIENTS WITH KNEE ARTHROPLASTY**

Matveeva E.L., Spirkina E.S., Talashova I.A.

*FGBU RISC «RTO» named after acad. G.A. Ministry of Health of Russian Ilizarov, Kurgan,
e-mail: office@ilizarov.ru*

The aim of this study was to conduct a comparative analysis of the biochemical composition of the synovial fluid of patients with total knee replacement, randomized into groups with stability (n = 208) and unstable endoprosthesis (n = 9). Subjects made up of synovial fluid samples from 217 patients obtained immediately prior to knee replacement surgery. Horizon research to identify the instability of the endoprosthesis was 3 years of observation. Identified by biochemical composition of the synovial fluid: lipid peroxidation and oxidative modification of proteins, lipid composition of protein fractions and catalase activity. In determining the peroxidation products most informative indicators are malondialdehyde and activity of antioxidant enzymes – catalase indicators which vary in different directions in groups of patients with stable and unstable knee endoprosthesis.

Keywords: synovial fluid, lipid peroxidation, oxidative modification of proteins, protein fractions

Известно, что при развитии нестабильности эндопротеза (НЭ) одним из самых ранних признаков является болевой симптом в области сустава, усиливающийся при нагрузке, ротационных движениях, изменении характера походки, появление хромоты [1, 4, 6]. После первичного эндопротезирования, по данным Drees и соавт., благоприятные результаты отмечаются в 85% случаев при горизонте анализа в 3 года, однако, по мере изучения отдаленных результатов количество положительных исходов существенно снижается, и это снижение закономерно связано с длительностью срока наблюдения за прооперированными больными [7].

Целью данной работы является исследование синовиальной жидкости (СЖ) больных дегенеративно-дистрофическими изменениями суставов, которые были прооперированы по поводу первичного эндопротезирования коленного сустава.

Материалы и методы исследования

Материал исследования составили образцы СЖ от 217 пациентов из числа обследованных, которые были прооперированы по поводу первичного эндопротезирования коленного сустава. Из них 208 пациентов со стабильным эндопротезом: (мужчин – 96 и женщин – 112, средний возраст – 71,4 ± 2,8) и 9 пациентов с нестабильностью эндопротеза (мужчин – 2 и женщин – 7, средний возраст – от 67,4 ± 3,1 года). Забор и исследование СЖ проводился непосредственно перед оперативным вмешательством на коленном суставе. Контролем служили образцы СЖ внезапно погибших людей (30) обоего пола (22 мужчины и 8 женщин), средний возраст – 68,4 ± 1,92 года, не имевших зарегистрированной экспертом суставной патологии. СЖ была получена спустя 1½–2 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».

Общее количество белка (ОБ) 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 окислительной модификации белков (ОМБ) СЖ определяли в белковом осадке по реакции 2,4-динитрофенилгидразином. Продукты реакции регистрировали при длинах волн 270 нм, первичные продукты – альдегиды (ОМБ₂₇₀), 363 нм и 370 нм, вторичные продукты – кетоны (ОМБ₃₆₃₊₃₇₀). Степень ОМБ выражали в единицах оптической плотности (ед. опт. пл.) на 1 мг белка [2]. Оценку процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) осуществляли путем измерения в СЖ содержания первичных (диеновые конъюгаты – ДК) и вторичных (малоновый диальдегид – МДА) продуктов ПОЛ. Содержание диеновых конъюгатов (ДК) определяли спектрофотометрически по разности оптической плотности между опытной и контрольной пробами при длине волны 232 нм [5]. Определение малонового диальдегида (МДА) проводили по реакции с тиобарбитуровой кислотой [5]. Концентрацию продуктов перекисного окисления рассчитывали на мг общих липидов (ОЛ) СЖ, которые, в свою очередь, определяли с помощью наборов фирмы «Lachema» (Чехия). Концентрации холестерина (ХЛ) и триглицеридов (ТГ) определяли с помощью наборов фирмы «Vital Diagnostic». О состоянии антиоксидантной защиты судили по активности в СЖ 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 [3].

Результаты исследования и их обсуждение

Сравнительный анализ биохимических показателей произведен в группах со стабильным эндопротезом и в группе с нестабильностью его компонентов. Данные представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, биохимические показатели СЖ больных с НЭ статистически значимо отличаются как от значений нормы, так и от показателей в группе больных со стабильным эндопротезом. Концентрация ОЛ в группе больных с НЭ повышена относительно нормальных значений в 2 раза; статистически не значимы различия относительно группы стабильного эндопротеза. Анализ изменений спектра липидов показал повышение концентрации ХЛ (в 4 раза относительно нормы и более чем в 2 раза относительно группы стабильного эндопротеза). Концентрация ТГ снижена в 3,5 раза относительно нормы, но, тем не менее, она значимо выше, чем у пациентов со стабильным эндопротезом. При НЭ уровень содержания продуктов перекисидации липидов резко понижается по сравнению с группой стабильного эндопротеза (в 4,5 раза для ДК и в 6,5 раза для МДА). В сравнении с нормальными

значениями наблюдалось повышение концентрации первичных продуктов ДК и достоверное понижение вторичных продуктов МДА. Расчетный коэффициент [ДК+МДА] также имел отличия между группами больных. Если в группе пациентов со стабильным эндопротезом накопление суммарных продуктов перекисидации липидов значительно (почти в 18 раз) превышало нормальные значения, то в группе пациентов, у которых в дальнейшем развивалась нестабильность, этот показатель не имел статистически значимых изменений от нормы. В группе с НЭ соотношение [ДК/МДА] статистически значимо возрастало относительно нормы. Анализ активности антиоксидантного фермента каталазы в группе со стабильным эндопротезом не показал статистически значимых отличий от нормы, а в группе с нестабильностью активность каталазы была повышена почти в 2 раза.

При прогнозировании НЭ необходимо также обратить внимание на показатели ОМБ и белкового спектра (табл. 2).

Показательно изменялась концентрация ОМБ, которая последовательно возрастала относительно нормы в группах стабильного и НЭ (от нормы – на 40%, от группы сравнения – на 22%). Концентрация первичных продуктов ОМБ – альдегидов повышалась относительно нормальных значений (в 1,5 раза) и статистически значимо снижалась относительно группы сравнения (в 2 раза). Концентрация вторичных продуктов ОМБ – кетонов – была статистически значимо снижена (в 4 раза – от нормы). Расчетный коэффициент [альдегиды + кетоны] был в 2 раза снижен по сравнению с нормой и в 3 раза от группы сравнения. Соотношение [альдегиды/кетоны] статистически значимо возрастало относительно нормальных значений в обеих группах исследования (почти в 10 раз в группе со стабильным, и в 3 раза – в группе с НЭ); при этом в группе с НЭ это отношение было статистически значимо ниже, чем в группе сравнения.

Изменение состава белковых фракций было определено в понижении доли фракции α_1 -глобулинов и повышении процентного содержания β -глобулиновой фракции в обеих группах сравнения. Концентрация фракции α_2 -глобулинов была повышена относительно группы сравнения и не имела статистически значимых отличий от нормы. Фракция γ -глобулинов СЖ пациентов с нестабильностью не имела достоверных отличий в сравнении с нормой и группой стабильного эндопротеза.

Таблица 1

Биохимические показатели нестабильности эндопротеза по результатам определения липидного спектра и системы ПОЛ-АОС (медианы значений и интерквартильные размахи)

Показатель, ед. изм.	Норма (n = 30)	Стабильный эндопротез (n = 208)	Нестабильный эндопротез (n = 9)
Общие липиды (ОЛ), г/л	0,69 (0,60; 0,83)	1,23 (0,77; 1,83)	1,42 (1,30; 3,20)
Холестерин (ХЛ), ммоль/л	0,42 (0,29; 0,49)	0,68 (0,42; 1,11)	1,63 ^{0,05} (1,30; 1,79)
Триглицериды (ТГ), ммоль/л	0,72 (0,38; 1,18)	0,13 (0,02; 0,30)	0,20 ^{0,001} (0,11; 0,26)
Диеновые конъюгаты (ДК), нмоль/ г ол	5,91 (3,94; 13,03)	35,29 (28,79; 49,76)	7,57 ^{0,001} (5,47; 10,62)
Малоновый диальдегид (МДА), нмоль/ г ол	5,91 (3,94; 13,03)	8,77 (3,80; 13,24)	1,34 ^{0,01} (1,27; 2,51)
Каталаза мкатал/ г ОБ	5,00 (2,54; 12,08)	3,50 (2,26; 13,07)	9,04 ^{0,05} (5,58; 12,04)
ДК + МДА	11,52 (5,20; 44,43)	309,49 (109,40; 658,82)	10,14 ^{0,001} (6,94; 26,65)
ДК/МДА	3,02 (2,98; 3,82)	4,32 (3,12; 8,15)	5,91 (3,96; 10,71)

Примечание. Верхний индекс – уровень значимости (p) сравнение между группами; подчеркнуты результаты, отличающиеся от группы нормы.

Таблица 2

Биохимические показатели нестабильности эндопротеза по результатам определения ОМБ и белкового спектра (медианы значений и интерквартильные размахи)

Показатель, ед.изм.	Норма (n = 30)	Стабильный эндопротез (n = 208)	Нестабильный эндопротез (n = 9)
Общий белок (ОБ), г/ л	20,40 (12,30; 25,70)	22,90 (19,20; 38,80)	28,00 ^{0,05} (22,90; 30,70)
ОМБ альдегиды ед. опт. пл./ г ОБ	0,05 (0,04; 0,07)	0,18 (0,10; 0,37)	0,09 ^{0,05} (0,06; 0,15)
ОМБ кетоны ед. опт. пл./ г ОБ	0,08 (0,04; 0,12)	0,03 (0,01; 0,06)	0,02 (0,01; 0,05)
альдегиды + кетоны (10 ⁻³)	5,00 (1,00; 8,00)	5,41 (1,00; 6,01)	1,84 ^{0,05} (0,61; 2,76)
альдегиды/кетоны	0,82 (0,49; 1,58)	9,09 ^{0,05} (1,33; 20,63)	2,42 (1,54; 7,48)
Белковые фракции: альбумины, %	69,30 (66,90; 70,30)	70,40 (67,87; 71,95)	68,60 (65,72; 72,22)
α ₁ -глобулины	3,70 (3,20; 5,80)	3,00 (2,55; 3,40)	2,75 (2,40; 2,80)
α ₂ -глобулины	6,00 (5,30; 6,40)	4,00 (3,30; 4,55)	5,50 ^{0,05} (4,85; 5,85)
β-глобулины	8,60 (7,50; 9,10)	10,25 (9,65; 11,60)	9,95 (9,37; 12,10)
γ-глобулины	11,50 (8,90; 15,30)	10,90 (10,47; 13,80)	12,50 (11,27; 14,92)

Примечание. Верхний индекс – уровень значимости (p) сравнение между группами; Подчеркнуты результаты, отличающиеся от группы нормы.

Оценивая прогностическую ценность проведенных исследований, мы, в первую очередь, выделили те биохимические тесты СЖ, изменения которых в группах сравнения были разнонаправленны. Такими тестами являются только показатели ПОЛ. Среди показателей ОБ, белковых фракций и продуктов ОМБ таких тестов мы не выделили. В определении продуктов липопероксидации таким показателем является МДА, концентрация которого при эндопротезирова-

нии была ниже у пациентов с развившейся нестабильностью. Учитывая, что в группе пациентов со стабильным эндопротезом его концентрация была более чем в 4 раза выше нормы, мы оцениваем его информативность как высокую. То же самое можно сказать и в отношении суммарного показателя продуктов липопероксидации [ДК + МДА]: у пациентов с НЭ он ниже нормы, а в группе со стабильным – значительно выше. Следует отметить также важную роль в прогно-

зе нестабильности повышение активности каталазы, которая не показала таких значений в группе сравнения. Следующими по вкладу в прогнозирование нестабильности мы выделили бы те показатели, которые изменялись однонаправленно, но наиболее существенно. Таким показателем является, прежде всего, первичный продукт ПОЛ – ДК, концентрация которого была в 4,5 раза выше в группе пациентов со стабильным эндопротезом, чем с нестабильным. Некоторый прогностический вклад вносят также показатели холестерина и альдегиды, концентрации которых различаются в 2 раза в группах сравнения.

Заключение

Таким образом, возможными критериями прогнозирования нестабильности при эндопротезировании коленного сустава были выделены показатели продуктов перекисного окисления липидов – МДА, суммарный показатель продуктов липопероксидации [ДК+МДА], а также активность антиокислительного фермента каталазы. Снижение показателей продуктов пероксида-

ции ниже нормы, но повышение активности основного фермента АОС каталазы указывает на риск развития данного осложнения.

Список литературы

1. Абельцев В.П. Эндопротезирование тазобедренного сустава при диспластическом коксартрозе (оптимальные методы лечения): автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.22 / Абельцев Владимир Петрович. – М., 2004. – 49 с.
2. Вьюшин А.В. Процессы перекисного окисления белков у крыс, селективных по порогу возбудимости нервной системы / А.В. Вьюшин, А.И. Вайдо, И.А. Герасимова // Бюл. эксперимент. биологии и медицины. – 2002. – Т. 133, № 3. – С. 292–296.
3. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, В.Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
4. Николаев В.И. Асептическая нестабильность ацетабулярного компонента эндопротезов: биофизические аспекты диагностики, лечение и профилактика (клиническое и экспериментальное исследование): автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.22 / Николаев Владимир Иванович. – Минск, 2000. – 21 с.
5. Орехович В.Н. Современные методы в биохимии / В.Н. Орехович. – Медицина, 1977. – С. 392.
6. Пинчук Л.С. Эндопротезирование суставов: технические и медико-биологические аспекты / Л.С. Пинчук, В.И. Николаев, Е.А. Цветкова. – Гомель: ИММС НАН Беларуси, 2003. – 308 с.
7. Drees P., Eckardt A., Gay S. et al. Molecular pathways in aseptic loosening of orthopaedic edoprothesis // Biomed. Technik. – 2008. – Vol. 53, № 3. – P. 93–103.