



# БИОХИМИЯ

УДК616.72-056.7:612.015

## БИОХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРИ СПАДКОВО СХИЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ СУГЛОБІВ

Леонтьєва Ф.С., Тимошенко О.П.,  
Катрич А.Я.

Харківський НДІ ортопедії та травматології  
ім. проф. М.І. Ситенка

Прояви спадково схильних полігенних (мультифакторіальних) захворювань залежать як від генетичних, так і від середовищних факторів [12]. В цій підгрупі можна виділити:

1. Генетично визначені природжені (ембріопатії) порушення форми компонентів суглоба при нормальній тканинній структурі [5];
2. Генетичні певні аномалії тканинних структур, обумовлені мікромутаціями [13];
3. Різноманітні захворювання основних фізіологічних систем (колагенози, подагра, ендокринні захворювання та ін.).

В даному дослідженні ми розглядаємо варіанти патології суглобів, обумовлені тільки природженими особливостями у вигляді аномалії побудови (макроморфодисплазія) без порушення структури тканин. При цьому варіанті причинних факторів суглобної патології реалізується принцип, визначений формулою:

**Здорове зовнішнє середовище**

**Здоровий організм**

**Нездоровий суглоб**

(по Б. І. Сименачу, 1996).

Спадково схильні захворювання суглобів в контексті викладених вище відомостей вимагають особливої методологічної діагностичної концепції, що забезпечить виявлення, розпізнання, якісну і кількісну оцінку модифікацій на всіх етапах диспластичного процесу.

З концепцією Б. І. Сименача, постійно діючий фактор (аномалія форми) викликає порушення, наслідком якого є запально-дистрофічний реактивний процес. Тривалість дії причинного фактора сприяє виснаженню репаративних потенцій організму і розвитку дисрегуляції.

Роль середовищних факторів є суто експозитивною (тригерною).

Оскільки при розвитку реактивного процесу відбувається нашарування на зміни диспластичного характеру модифікацій, обумовлених

компенсаторно-присосовними реакціями у суглобі, можуть мати місце помилки в діагностиці.

Основним засобом виявлення і розпізнання диспластичної патології суглобів вважається *рентгенометричний*. Разом з тим, та обставина, що на диспластичні порушення часто нашаровуються біомеханічні (деформації) та біохімічні (дистрофія) зміни, дає підставу для використання біохімічного аналізу з метою діагностики форми і ступеня виявлення диспластичного процесу.

Згідно з концепцією про генезис спадково схильних захворювань суглобів постійно діючий фактор руйнування включає тригерний механізм, що запускає біомеханічні і метаболічні маршрути захворювання. Внаслідок цього особливе значення набувають дослідження хімічних і патохімічних реакцій як на тканинному рівні, так і на рівні цілого організму, у відповідності з трьома стадіями диспластичного процесу.

Метою даного дослідження є: *вивчення біохімічних змін при реактивному процесі і створення діагностичного алгоритму з урахуванням стадій хвороби при спадково схильних захворюваннях суглобів*.

Було проведено аналіз даних обстеження 105-ти хворих зі СПЗЗ на різних стадіях захворювання з різноманітним ступенем запально-дистрофічних модифікацій і визначено комплекс біохімічних показників, адекватно відображаючий особливості течії, стадійність означених захворювань.

В комплекс біохімічних показників при рішенні 2-ї задачі фрагмента було включено визначення в сироватці крові вмісту сіалових кислот, глікопротеїдів, бета-ліпопротеїдів, холестерину, активності лужної фосфатази. Окрім цього визначали протеїнограму за допомогою уніфікованого метода [3], фракційного складу ГАГ-сульфатів (глікозаміноглікани) [1], рівня хондроїтинсульфатів за методикою Лапса Ю.Ю. і Слуцького Л.І. [4].

В добовій сечі визначали концентрацію оксипроліну по Н. Z. Stegemann (1958), уронових кислот по Т. Bitter, Н. М. Muir (1962).

Результати статистично оброблені по Фишеру-Ст'юденту [2]/

Розроблену систему оцінки стану кісткової і хрящової тканин було застосовано в практиці обстеження хворих з дистрофічними захворюваннями суглобів. Проведене обстеження хворих з ранньою стадією патологічного процесу (35 хворих - I група) і більш виявленими модифікаціями в тканинах ОДА (70 хворих - II група) за даними клінічних і рентгенологічних досліджень (таблиця 1).

В I групі не визначено істотних відхилень від значень нормальних величин показників вуглеводно-білкових сполук. Однак вміст хондроїтинсульфатів істотно підвищений (на 100 %) та складає  $0,213 \pm 0,04$  г/л, при нормі до  $0,100$  г/л. При незначному підвищенні су-

марної концентрації ГАГ змінений їхній фракційний спектр: підвищений вміст I і II фракцій, до складу яких входять хондроїтин-6-сульфати, хондроїтин-4-сульфати і дерматан-сульфати. Ці дані свідчать про те, що вже на ранніх стадіях запально-дистрофічного процесу відбуваються виражені порушення обміну глікозаміноглікан-сульфатів.

В цілому, в цій групі хворих не виявлено істотних модифікацій протеїнограми сироватки крові. Однак в 75 % випадків відзначається незначна гіпер-альфа<sub>1</sub>-глобулінемія. Активність лужної фосфатази сироватки крові підвищена на ранніх стадіях реактивного процесу в суглобах ( $15,1 \pm 3,6$  од. Бод., норма - 2 - 5 од. Бод.).

Суттєвих змін в ліпідному обміні виявлено не було, але у 31 % хворих була підвищена концентрація холестерина, а в 46,2 % випадків - бета-ліпопротеїдів, що свідчить про порушення в системі ПОЛ.

**Таблиця 1** - Зміни біохімічних показників у хворих з дистрофічними захворюваннями суглобів (перша група - 35 хворих, друга група - 75 хворих)

Показники	Од. вим.	Групи хворих		Норма
		I	II	
<b>Кров</b>				
Глікопротеїди	Од.	$0,52 \pm 0,03$	$0,48 \pm 0,05$	0,25 - 0,45
Сіалові кислоти	ммоль/л	$2,50 \pm 0,04$	$3,20 \pm 0,04$	2,00 - 2,36
Холестерин	ммоль/л	$5,64 \pm 0,36$	$6,90 \pm 0,06$	3,60 - 6,20
Бета-ліпопротеїди	Од.	$46,20 \pm 3,97$	$65,00 \pm 7,00$	35 - 55
Хондроїтинсульфати	Г/л	$0,213 \pm 0,040$	$0,32 \pm 0,05$	до 0,10
Лужна фосфатаза	Од. Бод.	$15,10 \pm 3,60$	$8,40 \pm 2,10$	2 - 5
Альбуміни	%	$56,23 \pm 1,57$	$46,50 \pm 2,40$	52 - 62
Глобуліни:				
альфа 1	%	$7,49 \pm 0,32$	$9,35 \pm 0,43$	4 - 7
альфа 2	%	$8,69 \pm 0,53$	$9,60 \pm 0,62$	7 - 9
бета	%	$12,00 \pm 0,70$	$12,50 \pm 0,80$	9 - 14
гама	%	$15,70 \pm 0,55$	$23,13 \pm 1,20$	14 - 19
Сумарні ГАГ'с	Од.	$15,09 \pm 2,48$	$18,60 \pm 3,40$	11,10 - 13,10
Фракції ГАГ'с:				
I	Од.	$8,44 \pm 0,75$	$8,50 \pm 0,70$	5,40 - 6,30
II	Од.	$5,53 \pm 0,60$	$5,60 \pm 0,64$	3,50 - 4,30
III	Од.	$2,13 \pm 0,27$	$4,50 \pm 0,50$	2,50 - 3,10
<b>Сеча</b>				
Оксипролін	мг/добу	$85,90 \pm 8,50$	$64,40 \pm 18,40$	11 - 39
Уронові кислоти	мг/добу	$14,40 \pm 3,00$	$6,80 \pm 0,90$	3,50 - 5,50
Кальцій	мг/добу	$106,00 \pm 11,00$	$146,20 \pm 15,20$	100 - 300

Таким чином, вже на ранніх стадіях реактивного процесу в тканинах скелета хворих реєструються різноманітні метаболічні відхилення. За показниками сироватки крові найбільш виявлені зміни відзначаються в обміні ГАГ.

Результати дослідження добової сечі показали, що на ранній стадії дистрофічного процесу виявлена значна гіпероксипролінурія та гіперекскреція уронових кислот (підвищення значень нормальних величин в 3,7 і 3,2 рази, відповідно).

Характер метаболічних порушень у II групі хворих істотно відрізняється від першої групи. Зростає концентрація сілових кислот. Концентрація хондроїтинсульфатів досягає  $0,32 \pm 0,05$  г/л, що перевищує в 3 рази значення нормальних величин. Протеїнограма характеризується гіпергаммаглобулінемією, що свідчить про сенсibiliзацію організму при виявлених дистрофічних модифікаціях в кістковій та хрящовій тканинах. Для хворих II групи властивий не тільки перерозподіл фракцій ГАГ, але й збільшення загальних ГАГ-сульфатів сироватки крові. Активність лужної фосфатази сироватки крові підвищена не настільки суттєво, як у хворих I групи. Слід відзначити, що при значно виражених артрозних змінах активність ферменту знижується і може сягати значень нижче 2 од. Бод.

Аналіз даних, отриманих при дослідженні добової сечі, показав, що по мірі розвитку дистрофічного процесу знижується коефіцієнт уронової кислоти/оксипролін, причому зменшення його значення відбувається за рахунок зниження рівня уронових кислот і підвищення концентрації оксипроліну.

Отримані дані дозволяють розмістити досліджені параметри у послідовності, що відображає їхню інформативність. Такий підхід до аналізу матеріалу необхідний для розробки діагностичного алгоритму - певної послідовності застосування діагностичних параметрів.

Найбільш інформативними тестами при ранній стадії реактивного процесу є показники, що характеризують обмін глікозаміногліканів (фракційний склад ГАГ, рівень хондроїтинсульфатів); доцільним є визначення активності лужної фосфатази, протеїнограми, вміст вуглеводнобілкових сполучень, екскреції оксипроліну та уронових кислот.

Ретроспективний аналіз результатів обстеження 56 хворих на різних стадіях диспластичного коксартрозу дозволив встановити, що у хворих з I стадією коефіцієнт уронової кислоти/оксипролін істотно не відрізнявся від нормальної величини (таблиця 2).

При II стадії, що характеризується більш виявленими змінами (зменшенням вмісту ГАГ в хрящовій тканині), дослідження співвідношен-

**Таблиця 2** - Стан системи "протеоглікані-колаген" при різних стадіях остеоартрозу

Коефіцієнт Уронові к-ти /оксипролін	Стадії остеоартрозу			
	I	II	III	IV
Норма - 0,16	0,18±0,02	0,12±0,01	0,09±0,01	0,050±0,008

ня знижується до 0,12 при значенні норми - 0,16. Ще більш виявлене зменшення відзначається при III та IV стадіях процесу - 0,09 і 0,05 відповідно.

Таким чином, коефіцієнт уронової кислоти/оксипролін є досить інформативним показником і може бути використаний для оцінки ступеня остеоартрозу [1].

Роль біохімічних змін у розвитку диспластичного процесу суглобів у зв'язку з відсутністю даних про вихідні метаболічні порушення в системі сполучної тканини встановити важко. Можна погодитись з думкою Б. І. Сименача, що метаболічні параметри (маркери) накладаються на тимчасові координати онтофілогенетично детермінованого процесу дисплазії.

Таким чином, проблема генезису («етіопатогенезу») спадково схильних захворювань суглобів є в значній мірі предметом механохімії, бо як причинний фактор виступає руйнування.

Пусковий механізм генезису диспластичного процесу можна уявити у вигляді наступних складених ланок:

1) Під дією асиметричного неадекватного навантаження (внаслідок аномалії побудови суглоба) порушуються взаємовідносини в системі «хондроцит - міжклітинна речовина». Має місце неадекватне подразнення системи механорецепторів [8].

При дії «біомеханічних стресорів» позаклітинна інформація у вигляді механічних стимулів сприяє експресії генетичної програми росту і диференціювання клітин-попередників. Механічні імпульси передаються до клітинної мембрани через систему внутрішньоклітинного матриксу, компоненти якого сприяють індукції внутрішньоклітинних процесів. Регулююча роль в цих змінах належить позаклітинним компонентам: протеогліканам та специфічному глікопротеїну - фібронектину [10]. Згідно з існуючими гіпотезами, механічний сигнал на клітинну мембрану передається як за рахунок деформації м'язів та з'язок, так і за рахунок генерації електричного сигналу, що створює нерівномірний розподіл іонів навколо мембрани, які проникають в клітину і призводять до ланцюга внутрішньоклітинних реакцій.

Приведені дані є основою діагностичного алгоритму, апробованого при обстеженні хворих з різними стадіями спадково схильних захворювань суглобів та хребта диспластичного генезу (таблиці 3 і 4).

**Таблиця 4** - Програма обстеження хворих із спадково схильними захворюваннями суглобів для оцінки стадії реактивного процесу

1. Клінічний аналіз крові з індексом розрахунку індексу ЛІ.
2. Біохімічне дослідження сироватки крові:
  - а) фракційний аналіз ГАГ-сульфатів;
  - б) хондроїтинсульфати;
  - в) загальний білок і білкові фракції;
  - г) білки гострої фази (С-реактивний протеїн, гаптоглобін та ін.);
  - д) глікопротеїди;
  - е) активність лужної фосфатази та її кісткового ізоферменту;
  - ж) активність кислої фосфатази;
  - к) холестерин;
  - л) бета-ліпопротеїди.
3. Біохімічне дослідження добової сечі:
  - а) оксипролін;
  - б) уронові кислоти;
  - в) кальцій;
  - г) коефіцієнт уронові кислоти/оксипролін.

**Таблиця 3** – Діагностичний алгоритм стадій хіміогенезу реактивного процесу



1. Постійно діючий ендегенний біомеханічний фактор (аномалія побудови суглобу) запускає «біохімічний маршрут» реактивного процесу при спадково схильних захворюваннях суглобів.

2. Основною ланкою переходу реактивного процесу при спадково схильних захворюваннях суглобів з квазипатичної стадії на патичну є порушення в системі «глікокон'югати - колаген» і з патичної на постпатичну – «глікокон'югати - колаген - кальцієві сполуки».

3. Постпатична стадія запально-дистрофічного реактивного процесу при спадково схильних захворюваннях суглобів характеризується зниженням активності запального компонента реакції і підсиленням дистрофічного, що знаходить відображення в змінах біохімічних показників.

4. Біохімічні маркери є високочутливими тестами, що дозволяють диференціювати характер течії реактивного процесу в тканинах скелета.

5. Розроблений діагностичний алгоритм стадій хіміогенезу реактивного процесу сприяє покращанню діагностики різних, в тому числі ранніх стадій і може бути включений в загальний діагностичний алгоритм спадково схильних захворювань суглобів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. А.с. № 960626 (СССР). МКИ<sup>3</sup> G01N33/48. Способ определения гликозаминогликансульфатов в сыворотке крови /М.Р.Штерн, О.П.Тимошенко, Ф.С.Леонтьева, Г.Ф.Клюева (СССР)-Заявка № 2998857/28-13. - Заявлено 23.10.82. - Бюл. № 35.
2. Иванов Ю.И., Погорелюк О.Н. Обработка результатов медико-биологических исследований на микрокалькуляторах. - М.: Медицина, 1990. -218с.
3. Колб В.Г., Камышников В.С. Клиническая биохимия. Минск, 1976. -358с.
4. Лапса Ю.Ю., Слущкий Л.И. Опыт контроля за результатами пункционной папаинотерапии межпозвонкового остеохондроза /Гр. III Всесоюзного съезда ортопедов и травматологов. - М., 1975. - Ч.I. - С. 158-159.
5. Сіменач Б.І. Спадково схильні захворювання суглобів. Теоретичне обґрунтування проблеми / Актова промова 20 червня. - 1996 р. - 99 с.
6. Тимошенко О.П. Роль биомеханических стрессоров в моделировании дегенеративно-дистрофических процессов в тканях позвоночного сегмента / Тез.

докл. междунар. конф. «Достижения биомеханики в медицине». - Рига, 1986. - Т. I. -С.592-597.

7. Тимошенко О.П. Стресс как этиопатогенетический фактор структурно-метаболических повреждений костной и хрящевой тканей: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. - Харьков, 1990. - С. 32.

8. Янковский Г.А. Остеорецепция. - Рига: Зинатне, 1982. - 316 с.

9. Bitter T., Muir H.M. A modified uronic acid carbozole reaction //Analyt. Biochem. - 1962. - № 4. - P. 330-334.

10. Buckwalter G.A. Proteoglycan structure in calcifying cartilage. Basic science and pathology. Section III //Clin. Orthop. - 1983. - Vol. 172. - P. 207-232.

11. Calin A.,Elswood J. Relative role of genetic and environmental factors in disease expression: sib pair analysis in ankylosing spondylitis //Arthr. and Rheumat. - 1989. - Vol. 32. - № 1. - P. 77-81.

12. Grossan J.F., Wynne-Davies R. Research for Genesis and Environmental Factors in Orthopedic Diseases //Clin Orthopedics and Related Res. - 1986. - ? 210. - P. 97-105.

13. Prockop D.J. Osteogenesis imperfecta. A model for Genesis Causes of Osteoporosis and Perhaps Several Other Common Disease of Connective Tissue //Arthrit and Rheumat. - 1988. - Vol. 31. - № 3. - P. 1-19.

14. Stegemann H.Z. Microbestimmung von Hydroxyprolin mit Chloramin-T und p-Dimethylaminobenzaldehyd //Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. - 1958. - Bd. 311. - S. 41-45.