

© ИВАНОВА С.В., 2015

## ПОКАЗАТЕЛИ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ КАК ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ОТДЕЛЬНЫХ ФОРМ АРТРИТОВ

ИВАНОВА С.В.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

---

### Резюме.

В работе проведен анализ отдельных показателей протеолитической системы синовиальной жидкости пациентов с ревматоидным, реактивным и псориатическим артритами и их диагностической значимости. Экспериментально определено, что самый низкий уровень содержания  $\alpha_1$ -антипротеиназного ингибитора в синовиальной жидкости оказался у пациентов с ревматоидным артритом. Установлено, что значения содержания  $\alpha_1$ -антипротеиназного ингибитора в синовиальной жидкости менее 0,41 г/л являлись диагностическим признаком ревматоидного артрита. Самое низкое значение индекса протеолиза в синовиальной жидкости наблюдалось в группе пациентов с псориатическим артритом. Определение индекса протеолиза в синовиальной жидкости оказалось эффективным для диагностики псориатического артрита: значения данного показателя менее 1,80 являлись диагностическим маркером псориатического артрита. Предложена схема использования показателей протеолитической активности, флуоресценции сыворотки крови и синовиальной жидкости для дифференциальной диагностики ревматоидного, реактивного и псориатического артритов в сочетании с традиционными лабораторными методами.

*Ключевые слова:* протеолиз, синовиальная жидкость, диагностическая значимость.

### Abstract.

In this article the analysis of certain parameters of proteolysis system of synovial fluid in patients with rheumatoid, reactive and psoriatic arthritides and their diagnostic value has been made. It has been experimentally determined that in synovial fluid the lowest level of  $\alpha_1$ -antiproteinase inhibitor content was observed in patients with rheumatoid arthritis. It has also been established, that the level of  $\alpha_1$ -antiproteinase inhibitor content in synovial fluid less than 0,41 g/l can be used as a diagnostic sign of rheumatoid arthritis. The lowest value of proteolysis index in synovial fluid was observed in the group of patients with psoriatic arthritis. The determination of proteolysis index in synovial fluid proved to be effective for the diagnosis of psoriatic arthritis: values of the given parameter less than 1,80 were a diagnostic marker of psoriatic arthritis. The scheme of using blood serum fluorescence and proteolysis activity parameters of synovial fluid for the differential diagnosis of rheumatoid, reactive and psoriatic arthritides in combination with traditional laboratory methods has been suggested.

*Key words:* proteolysis, synovial fluid, diagnostic value.

---

Современные исследования показывают, что система протеолиза рассматривается как особая форма биологического контроля, занимающая центральное место в реализации многочисленных биохимических реакций [1–3]. Нарушение протеолитических механизмов сопровождается дисбалансом системы «протеиназы-ингибиторы», нерегулируемым расщеплением функционально важных белков, повреждением основных систем защиты

организма, что, в свою очередь, вызывает или сопровождает многие заболевания, в том числе и артриты [4, 5]. Диагностика и лечение пациентов с дегенеративными поражениями суставов представляет собой актуальную не только медико-биологическую, но и социально-экономическую проблему. Длительность, прогрессирующий и инвалидизирующий характер артритов различной этиологии, нарушения функциональной способности

---

суставов людей трудоспособного, профессионально зрелого возраста, большая распространенность суставной патологии – все это ставит задачу поиска новых подходов к диагностике артритов. В настоящее время установлена основополагающая роль системы протеолиза и антипротеолиза в механизмах развития артритов [6 – 11]. Протеолитические ферменты рассматриваются как ключевые факторы воспаления суставов. Оценка состояния протеолитической системы при воспалительных процессах – одно из перспективных диагностических направлений, реализуемое с использованием методов не только биохимического, но и биофизического анализа. Недостаточно изучена диагностическая и прогностическая значимость показателей протеолитической активности и возможность использования в качестве эффективных лабораторных тестов диагностики заболеваний суставов.

Целью данной работы является анализ показателей протеолиза в синовиальной жидкости, определение их диагностической значимости и возможности практического использования для лабораторной диагностики отдельных форм артритов (ревматоидного, реактивного и псориатического) совместно с показателями протеолиза и флуоресценции сыворотки крови.

### Материалы и методы

Для исследования показателей протеолитической системы синовиальной жидкости было обследовано 79 человек: 33 – с ревматоидным артритом, серопозитивным, 2-й степени активности и 2-й рентгенологической стадией (РА); 21 – с псориатическим ассиметричным олигоартритом (ПА); 25 – с реактивным хламидиоиндуцированным артритом (РеА). Диагнозы пациентов верифицированы и подтверждены результатами клинико-лабораторных исследований. Определение активности трипсиноподобных протеиназ (ТпА) с использованием N- $\alpha$ -бензоил-D,L-аргинин паранитроанилида (БАПНА) проводили по методу Erlander V. F. et al. [12]. Содержание основных ингибиторов протеиназ ( $\alpha_2$ -макроглобулина ( $\alpha_2$ -МГ) и  $\alpha_1$ -антипротеиназного ингибитора (АПИ)) определяли по методу Т.А. Хватова и В.Б. Бе-

ловой [13]. Суммарная ингибиторная емкость (СИЕ) синовиальной жидкости соответствовала сумме содержания основных ингибитора – АПИ +  $\alpha_2$ -МГ. Индекс протеолиза (ИП), отражающий напряженность или т.н. «управляемость» протеолитических процессов, рассчитывали как соотношение общей протеолитической активности к сумме основных ингибиторов протеиназ синовиальной жидкости.

Статистическая обработка результатов проведена с помощью пакета прикладных программ «Statistica 6.0». Все количественные данные имели непараметрическое распределение и представлены в виде значений медиан (Me) с указанием 10 и 90 перцентилей: Me (10% – 90%). Для определения статистической значимости различий между сравниваемыми величинами использовали непараметрический дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса и критерий Манна-Уитни для несвязанных выборок. Критическое значение уровня значимости принималось с учетом поправки Бонферони. Корреляционные зависимости оценивали с помощью ранговой корреляции Спирмена ( $r$  Спирмена,  $p < 0,05$ ).

Диагностическую и прогностическую значимость основных показателей протеолитической системы синовиальной жидкости у пациентов с артритами, а также значения точек разделения (дискриминантных значений признака, характерных для данного заболевания) между нормой и патологией определяли на основании статистических методов, приведенных в работах [14, 15].

### Результаты и обсуждение

Результаты исследования показателей протеолиза (активности трипсиноподобных протеиназ (ТпА), индекса протеолиза (ИП)) и содержания основных ингибиторов протеолиза ( $\alpha_1$ -антипротеиназного ингибитора (АПИ),  $\alpha_2$ -макроглобулина ( $\alpha_2$ -МГ) и суммарной ингибиторной емкости (СИЕ)) в синовиальной жидкости в приведены в таблице 1.

В результате анализа полученных экспериментальных данных для синовиальной жидкости и проведенного нами ранее [16] исследования сыворотки крови были сделаны следующие выводы. Установлено, что актив-

Таблица 1 – Протеолитическая активность, содержание основных ингибиторов в синовиальной жидкости пациентов с артритами (Ме, 10% – 90%)

Диагноз	Показатели протеолитической активности				
	ТпА, ммоль/(л·с)	АПИ, г/л	$\alpha_2$ -МГ, г/л	СИЕ, г/л	ИП
РА, n=33	3,12 1,70–9,07	0,25 <sup>2,3</sup> 0,14–0,41	0,54 0,32–0,69	0,73 <sup>2</sup> 0,58–1,02	5,03 2,13–10,29
РеА, n=25	5,67 2,84–8,22	0,65 0,42–1,34	0,59 0,32–0,70	1,22 1,03–1,73	4,75 1,83–7,38
ПА, n=21	1,42 0,50–2,97	0,76 0,41–1,88	0,38 0,28–1,06	1,70 0,88–2,43	1,10 <sup>1,2</sup> 0,39–1,80

Примечание: Достоверность различий по сравнению с группой пациентов: <sup>1</sup> – с РА; <sup>2</sup> – с РеА; <sup>3</sup> – с ПА (P<0,017).

ность трипсиноподобных протеиназ (ТпА) в синовиальной жидкости пациентов с артритами (табл. 1) была значительно ниже, чем у них же в сыворотке крови: в 5–15 раз в зависимости от вида диагноза (P<0,05). Достоверных различий по активности трипсиноподобных протеиназ (ТпА) в синовиальной жидкости между группами пациентов с артритами не обнаружено. Содержание  $\alpha_2$ -макроглобулина ( $\alpha_2$ -МГ) так же, как и ТпА, в синовиальной жидкости при артритах было ниже, чем в сыворотке крови: в группе РА – в 2 раза, в группе РеА – в 3,1 раза и в группе ПА – в 2,6 раза (P<0,05).

Содержание  $\alpha_1$ -антипротеиназного ингибитора в синовиальной жидкости было ниже, чем в сыворотке крови – в 6,5 и 1,7 раза в группах пациентов с РА и РеА, соответственно (P<0,05), а в группе пациентов с ПА было сравнимо с содержанием АПИ у них же в сыворотке крови. Самый низкий уровень АПИ в синовиальной жидкости оказался у пациентов с РА: в 2,6 и 3 раза ниже, чем таковой у пациентов с РеА и ПА, соответственно (P<0,017). Было установлено, что значения содержания  $\alpha_1$ -антипротеиназного ингибитора в синовиальной жидкости менее 0,41 г/л являлись диагностическим признаком ревматоидного артрита. При этих значениях АПИ диагностическая чувствительность теста составила 88%, диагностическая специфичность – 78%, прогностическая ценность положительного результата – 65%, отрицательного – 93%, диагностическая эффективность теста – 81%.

Суммарная ингибиторная емкость (СИЕ) и индекс протеолиза (ИП) в синови-

альной жидкости у пациентов с артритами оказались также ниже, чем в сыворотке крови у этих же пациентов: СИЕ при РА была ниже в 3,7 раза, при РеА – в 2,2 раза и при ПА – в 1,2 раза (P<0,05); ИП при РА был ниже в 2,2 раза, при РеА – в 1,9 раза и при ПА – в 9,8 раза (P<0,05). Наименьшие значения СИЕ в синовиальной жидкости отмечены у пациентов с РА – на 40% ниже, чем в группе РеА (P<0,017) и на 57% – чем в группе ПА. Самое низкое значение ИП в синовиальной жидкости наблюдалось в группе пациентов с ПА – в 4,6 и 4,3 раза ниже, чем при РА и РеА (P<0,017), что свидетельствует о менее выраженной «напряженности» протеолитических процессов в синовиальной жидкости пациентов с ПА по сравнению с группами РА и РеА. Определение индекса протеолиза (ИП) в синовиальной жидкости оказалось эффективным для диагностики псориатического артрита. Значения показателя ИП менее 1,80 являлись диагностическим маркером псориатического артрита. Диагностическая чувствительность теста при этом составила 86%, диагностическая специфичность – 88%, прогностическая ценность положительного результата – 72%, отрицательного – 94%, диагностическая эффективность – 87%.

Ранее [16] нами были определены лабораторно-диагностические критерии-маркеры указанных форм артритов и установлена диагностическая надежность отдельных показателей протеолитической системы и собственной флуоресценции сыворотки крови. Так, дополнительными лабораторно-диагностическими маркерами ревматоидного артрита являлись значения активности трипсиноподобных

добных протеиназ более 30,65 ммоль/(л·с) и уровень  $\alpha_1$ -антипротеиназного ингибитора в сыворотке крови в пределах 1,30 г/л – 1,90 г/л. Признаками реактивного артрита были значения показателя интенсивности собственной флуоресценции сыворотки крови  $I_{сб}$ , превышающие 4,40 отн. ед., псориатического артрита – величины интенсивности флуоресценции компонентов реакции гидролиза альбумина  $I_{кр}$  в сыворотке крови более 0,38 отн. ед. Тесты характеризовались высокой диагностической чувствительностью, специфичностью, а также прогностической ценностью (особенно отрицательных результатов), что дает возможность их использования для диагностики ревматоидного, реактивного и псориатического артритов.

Учитывая вышеуказанные результаты, полученные ранее для сыворотки крови, и данное исследование синовиальной жидкости, нами предлагается следующая схема использования показателей протеолиза в синовиальной жидкости совместно с показателями протеолитической активности и флуоресценции в сыворотке крови для диф-

ференциальной диагностики ревматоидного, реактивного и псориатического артритов в сочетании с традиционными лабораторными методами (рис. 1).

Первый этап обследования пациента с вероятными диагнозами «ревматоидный артрит», «псориатический артрит», «реактивный артрит» включает определение показателей протеолитической активности и флуоресценции в сыворотке крови: активность трипсиноподобных протеиназ (ТпА), содержание  $\alpha_1$ -антипротеиназного ингибитора (АПИ), интенсивности флуоресценции –  $I_{кр}$  и  $I_{сб}$ . На этом же этапе проводится также определение АПИ в синовиальной жидкости. В случае, когда в сыворотке крови ТпА превышает 30,65 ммоль/(л·с)), содержание АПИ находится в интервале 1,30 г/л – 1,90 г/л, значения  $I_{кр}$  меньше 0,38 отн. ед.,  $I_{сб}$  меньше 4,40 отн. ед.; в синовиальной жидкости содержание АПИ составляет менее 0,41 г/л, наиболее вероятным диагнозом рекомендуется считать «ревматоидный артрит».

Если хотя бы один из показателей имеет результат, отличный от вышеприведенного,



Рисунок 1 – Схема использования показателей протеолиза и флуоресценции сыворотки крови и синовиальной жидкости для дифференциальной диагностики ревматоидного, реактивного и псориатического артритов в сочетании с традиционными лабораторными методами.

Примечание: —> ДА (положительный результат); - - -> НЕТ (отрицательный результат); АПИ – содержание  $\alpha_1$ -антипротеиназного ингибитора;  $I_{кр}$  – интенсивность флуоресценции компонентов реакции гидролиза альбумина;  $I_{сб}$  – интенсивность собственной флуоресценции; АЦЦП – антитела к циклическому цитруллинированному пептиду; РФ – ревматоидный фактор.

рекомендуется провести исследование сыворотки крови с помощью традиционных методов – определение антител к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) и ревматоидного фактора (РФ). В случае положительного результата по этим параметрам (наличие АЦЦП и РФ) также устанавливается диагноз «ревматоидный артрит».

Отрицательный результат по АЦЦП (отсутствие) и РФ (отсутствие) позволяет отвергнуть диагноз «ревматоидный артрит» и продолжить обследование пациента, анализ показателей флуоресценции сыворотки крови  $I_{кр}$  и  $I_{сб}$ , индекса протеолиза в синовиальной жидкости и результатов бактериологического исследования. При значениях показателя  $I_{кр}$  в сыворотке крови более 0,38 отн. ед., величине индекса протеолиза (ИП) в синовиальной жидкости менее 1,80 и отрицательном результате бактериологического исследования наиболее вероятным диагнозом рекомендуется считать «псориатический артрит». Если значения показателя  $I_{сб}$  в сыворотке крови превышают 4,40 отн. ед. и бактериологическое исследование имеет положительный результат, то наиболее вероятным диагнозом рекомендуется считать «реактивный артрит».

### Заключение

Таким образом, показатели протеолитической активности в синовиальной жидкости, как и в сыворотке крови, объективно отражают изменения, происходящие в данных биологических жидкостях при ревматоидном, реактивном и псориатическом артрите, и имеют диагностическую значимость, что дает возможность их использования в качестве дополнительных эффективных и экономичных диагностических тестов при артритах. Следует отметить, что для успешной постановки диагноза в кратчайшие сроки необходимо использовать комплексный подход к проблеме с учетом всех возможных как традиционных, так и вновь предложенных методов.

### Литература

1. Никандров, В. Н. Протеолиз как универсальный механизм регуляции биохимических и биологических процессов. Дискуссионные аспекты / В. Н. Никандров, Н. С. Пыжова // Известия НАН Беларуси. Сер. мед. наук. – 2008. – № 1. – С. 4–22.
2. Turk, B. Targeting proteases: successes, failures and future prospects / B. Turk // Nat. Rev. Drug. Discov. – 2006 Sep. – Vol. 5, N 9. – P. 785–799.
3. Kallikreins and proteinase-mediated signaling: proteinase-activated receptors (PARs) and the pathophysiology of inflammatory diseases and cancer / M. D. Hollenberg [et al.] // Biol. Chem. – 2008 Jun. – Vol. 389, N 6. – P. 643–651.
4. Protease-activated receptors in cancer: a systematic review / N. Han [et al.] // Oncol. Lett. – 2011 Jul. – Vol. 2, N 4. – P. 599–608.
5. Chow, A. K. Acute action and novel target of matrix metalloproteinases in the heart and vasculature / A. K. Chow, J. Cena, R. Schulz // Br. J. Pharmacol. – 2007 Sep. – Vol. 152, N 2. – P. 189–205.
6. Корякина, Е. В. Особенности патогенетических механизмов эндогенной интоксикации у больных ревматоидным артритом / Е. В. Корякина, С. В. Белова // Научно-практическая ревматология. – 2001. – № 1. – С. 21–29.
7. Matrix metalloproteinases in arthritic disease / G. Murphy [et al.] // Arthritis Res. – 2002. – Vol. 4, Sup. 3. – P. 39–49.
8. Martel-Pelletier, J. Metalloproteases and inhibitors in arthritic diseases / J. Martel-Pelletier, D. J. Welsch, J. P. Pelletier // Best. Pract. Res. Clin. Rheumatol. – 2001. – Vol. 15, N 5. – P. 805–829.
9. Турна, А. А. Матриксные металлопротеиназы в развитии деструктивных процессов при ревматоидном артрите / А. А. Турна // Научно-практическая ревматология. – 2010. – № 3. – С. 59–64.
10. Firestein, G. S. Etiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis / G. S. Firestein // Kell's Textbook of Rheumatology / S. Ruddy [et al.]. – Philadelphia : WB Saunders, 2001. – Part 9. – P. 1035–1086.
11. Firestein, G. S. Inhibiting inflammation in rheumatoid arthritis / G. S. Firestein // N. Engl. J. Med. – 2006 Jan. – Vol. 354, N 1. – P. 80–82.
12. Erlanger, B. F. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin / B. F. Erlanger, N. Kokowsky, W. Cohen // Arch. Biochem. Biophys. – 1961 Nov. – Vol. 95. – P. 271–278.
13. Хватов, В. Б. Ускоренный метод определения основных ингибиторов протеиназ в плазме крови человека: метод. рек. / В. Б. Хватов, Т. А. Белова. – М., 1981. – 16 с.
14. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О. Ю. Реброва. – М.

- : МедиаСфера, 2003. – 312 с.
15. Меньшиков, В. В. О клинической ценности лабораторных исследований / В. В. Меньшиков // Клиническая лабораторная диагностика. – 1996. – № 5. – С. 4–12.
16. Иванова, С. В. Диагностические и прогностические возможности определения основных показателей системы протеолиза и интенсивности флуоресценции в сыворотке крови при артритах / С. В. Иванова, Л. Н. Кирпиченок // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2012. – № 3. – С. 90–98.

*Поступила 12.02.2015 г.*

*Принята в печать 03.04.2015 г.*

**Сведения об авторах:**

Иванова С.В. – к.б.н., доцент кафедры медицинской и биологической физики УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра медицинской и биологической физики. Тел.моб.: +375 (29) 712-41-24, e-mail: [ablajey@yandex.ru](mailto:ablajey@yandex.ru) – Иванова Светлана Викторовна.