

УДК: 616.72-002-074:616.153:[616.153.96:577.175.4]
 HTTPS://DOI.ORG/10.37647/0132-2486-2022-114-3-32-38

Визначення гострофазних білків і прокальцитоніну за умов моделювання інфекційного артриту

Магомедов С.¹ ✉, Поляченко Ю.В.¹, Грицай М.П.¹, Літовка І.Г.²

Резюме. Актуальність. Гострофазні білки церулоплазмін, гаптоглобін, С-реактивний білок (СРБ) є маркерами, які характеризують запальний процес. СРБ є одним із центральних компонентів гострої фази і загально визнаним показником запальних процесів. **Мета.** Визначення рівня і специфічності гострофазних білків (СРБ, гаптоглобіну, церулоплазміну), а також прокальцитоніну за умов моделювання інфекційного артриту. **Матеріали і методи.** Експериментальні дослідження було проведено на 31 білому щурі-самці лінії Вістар. Модель інфекційного артриту створювали протягом 3 діб шляхом щоденного введення 0,02 мл *S. aureus* 10⁸ № 209 у колінний суглоб щура. Тварин було розподілено на групи, з яких I група – віварний контроль. Для експериментальних груп було застосовано наступну модель введення препарату: щоденне одноразове введення протягом 3 діб по 0,02 мл флостерону в колінний суглоб (II група); щоденне одноразове введення протягом 3 діб по 0,02 мл *S. aureus* 10⁸ № 209 (III група); щоденне одноразове поперемінне (через день) введення протягом 3 діб по 0,02 мл флостерону і 0,02 мл *S. aureus* 10⁸ № 209 у колінний суглоб (IV група). Ефективність дії препаратів спостерігали через 3 і 14 діб після введення. **Результати.** Встановлено, що концентрація гаптоглобіну вірогідно зростала у сироватці крові щурів через 3 доби лише за умов поперемінного трифазового введення флостерону і *S. aureus* 10⁸ № 209. Через 14 діб при посиленні запального прогресу цей показник збільшився у тварин усіх досліджуваних груп, а найбільше (за аналогією до спостережень через 3 доби) при сумісному впливі флостерону і *S. aureus* 10⁸ № 209. Концентрація церулоплазміну у сироватці крові зростала у всіх експериментальних щурів як через 3 доби, так і через 14 діб у групі після введення флостерону. Вміст СРБ у сироватці крові зростав у всіх без винятку досліджуваних групах щурів, що доводить його високу специфічність для виявлення запальних процесів різної тяжкості. Концентрація прокальцитоніну за умов проведення експерименту достовірно не змінювалася у сироватці крові щурів будь-якої експериментальної групи через 3 доби. Проте достовірні зміни відбувалися через 14 діб після введення флостерону та при сумісному впливі флостерону і *S. aureus* 10⁸ № 209. **Висновки.** Визначення вмісту гаптоглобіну не відрізняється високою ефективністю при ранньому виявленні запального процесу. Водночас синтез церулоплазміну посилюється саме впродовж перших 3 діб інфекційного процесу, що перетворює його на результативний маркер для виявлення раннього інфекційного ускладнення. Динаміка змін рівня СРБ у сироватці крові продемонструвала найвищу кореляцію з активністю інфекційного процесу, що доводить його високу специфічність для виявлення запальних процесів різної тяжкості після введення препаратів. Найбільші відхилення спостерігали у щурів, яким трифазово поперемінно (через день) вводили флостерон і *S. aureus* 10⁸ № 209 у колінний суглоб. Такі зміни дозволяють припустити, що гормональний препарат флостерон сприяв посиленню запального процесу.

Ключові слова: гаптоглобін; церулоплазмін; С-реактивний білок; прокальцитонін; інфекційний артрит.

Вступ

Рання діагностика запальних захворювань суглобів має життєво важливе значення для запобі-

гання руйнівних ускладнень. Сьогодні не існує єдиного лабораторного маркера, який би був на 100% чутливим і специфічним для точної діагностики таких захворювань, як колагенози, ревматизм, поліартрит та інші. Класичні маркери запалення, такі як кількість лейкоцитів, тромбоцитів, лейкоцитарна формула, лейкоцитарний індекс інтоксикації, ШОЕ мають низьку специфічність (40-70%). Ефектив-

✉ Магомедов С., alexander@magomedov.kiev.ua

¹ДУ "Інститут травматології та ортопедії НАМН України", м. Київ

²Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, м. Київ

ність сучасних мікробіологічних тестів відрізняється високою специфічністю, але час, необхідний для отримання результатів (24-48 і більше годин), може виявитися неприйнятним.

Гострофазні білки церулоплазмін, гаптоглобін, С-реактивний білок (СРБ) є маркерами, які характеризують запальний процес і проявляють високу кореляцію з активністю захворювання.

СРБ – один із центральних компонентів гострої фази (ГФ) і є загально визнаним показником запального процесу. Існує пряма залежність між зміною рівня гострофазних білків, тяжкістю та динамікою клінічних проявів запалення. Концентрація СРБ швидко збільшується в перші 6-8 годин (у 20-100, інколи в 1000 разів) при посиленні запалення і також швидко знижується при його зменшенні. Саме тому цей показник є одним із найбільш специфічних і чутливих клініко-лабораторних індикаторів запалення та широко застосовується для моніторингу і контролю ефективності терапії бактеріальних та вірусних інфекцій, захворювань запального генезу.

Церулоплазмін інтенсивно синтезується впродовж перших 2 діб від початку інфекційного процесу. Його рівень майже подвоюється у відповідь на запалення, травму чи інфекцію.

Гаптоглобін – це білок гострої фази, який зв'язує вільний гемоглобін і має протизапальні властивості, але може мати прозапальну дію на суглоб. Він відіграє певну роль у запальному процесі руйнування кістки через брадикінін і тромбін, стимулюючи утворення простагландину E₂, що призводить до резорбції кістки [1, 2].

Важливим біохімічним маркером для діагностики запального процесу в суглобах є прогормон кальцитоніну – білок прокальцитонін (ПКТ). Цей показник дозволяє оцінити ступінь розвитку запального процесу та сепсису і відрізнити бактеріальну інфекцію від небактеріальної [3-5]. За наявності вірусних інфекцій відмічається незначне підвищення концентрації ПКТ, тоді як при бактеріальній – вона значно зростає. У пацієнтів без інфекційних ускладнень повернення рівня ПКТ до нормальних значень відбувається, як правило, швидко. При цьому утримання високої концентрації показника, що не знижується, або вторинне підвищення його рівня вважаються предикторами сепсису [6, 7]. Синтез ПКТ індукується ендотоксинами – бактеріальними токсичними речовинами, які являють собою структурні компоненти певних бактерій і вивільняються тільки при лізисі, тобто при розпаді бактеріальної клітини [8-10].

Не виникає сумнівів, що гострофазні білки і ПКТ беруть безпосередню участь у розвитку запального процесу [1, 2, 6, 9]. Підвищення їхнього рівня в си-

рватці крові пацієнтів, у більшості випадків, свідчить про деструкцію хрящової та кісткової тканини суглобів [11, 12]. Проте суперечливість біохімічних даних при тих чи інших запальних захворюваннях суглобів та у протоколах їхнього лікування, а також відсутність порівнянності результатів ускладнюють як діагностику захворювання, так і ефективність подальшого лікування. Наразі немає консенсусу щодо того, які біохімічні маркери є чутливими та надійними для відстеження рівня запалення та/або інфекції. Тому дослідження моніторингу рівня гострофазних білків церулоплазмину, гаптоглобіну, СРБ та прокальцитоніну з метою визначення найбільш специфічного з них є актуальними для виявлення раннього інфекційного ускладнення і стратегії його усунення.

Метою дослідження є оцінка рівня і специфічності гострофазних білків (СРБ, гаптоглобіну, церулоплазмину), а також ПКТ за умов моделювання інфекційного артрити.

Матеріали і методи

Експериментальне дослідження було проведено на 31 білому щурі-самці лінії Вістар. Модель інфекційного артрити створювали протягом 3 діб шляхом щоденного введення (один раз на добу) 0,02 мл *S. aureus* 10⁸ № 209 у колінний суглоб щура. Тварин було розподілено на групи, з яких I група – віварний контроль. Для експериментальних груп було застосовано наступну модель введення препарату: щоденне введення (1 раз на добу) протягом 3 діб по 0,02 мл флостерону в колінний суглоб (II група); щоденне введення (1 раз на добу) протягом 3 діб 0,02 мл *S. aureus* 10⁸ № 209 (III група); щоденне введення (1 раз на добу) поперемінно (через день) по 0,02 мл флостерону та 0,02 мл *S. aureus* 10⁸ № 209 у колінний суглоб (IV група). Тварин декапітували під ефірним наркозом через 3 і 14 діб експерименту після введення препаратів. Усі тварини перебували під спостереженням ветеринарного лікаря в стандартних умовах акредитованого віварію Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України з дотриманням загальних принципів біоетики відповідно до міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідницьких та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) при природному циклі світло / темрява. Тварини мали вільний доступ до води.

Визначення рівня гаптоглобіну, церулоплазмину і СРБ проводили на біохімічному аналізаторі Cobas 311 із використанням тест-систем Roche Diagnostics. Концентрацію ПКТ визначали на ана-

лізаторі Cobas 411 із використанням тест-систем Roche Diagnostics. Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали з використанням пакета програми Origin Pro 8,5. Визначені середні значення отриманих показників (\bar{x}) зі стандартними відхиленнями (SD). Ймовірність різниці між контрольними і дослідними зразками оцінювали за критерієм t Стьюдента. При $P < 0,05$ зміни вважали достовірними.

Результати та їх обговорення

Аналіз результатів зміни концентрації гаптоглобіну в сироватці крові експериментальних щурів показав її вірогідне підвищення через 3 доби після поперемінного (через день) введення по 0,02 мл флостерону та 0,02 мл *S. aureus* 10⁸ № 209 у колінний суглоб (IV група) на 37,5% ($P < 0,05$) стосовно контрольних значень. Порівняно зі щурами II і III груп спостереження зростання складало 33 і 32% відповідно (рис. 1). За тих самих умов експерименту через 14 діб спостерігали підвищення рівня гаптоглобіну у щурів усіх досліджуваних груп. Найвищим – на 76,7% – воно було у тварин III групи ($P < 0,001$). Тоді як у щурів II групи становило 33,4%, а III – 37,5% ($P < 0,001$, рис. 1) порівняно з контролем.

Концентрація церулоплазміну в сироватці крові щурів II групи порівняно з контролем зроста майже однаково на 50 і 68,2% відповідно ($P < 0,001$)

через 3 і 14 діб після останнього введення флостерону. Тоді як через 3 доби після поперемінного (через день) введення по 0,02 мл флостерону та 0,02 мл *S. aureus* 10⁸ № 209 збільшилася на 86,4% і на 763,6% після останнього введення 0,02 мл *S. aureus* 10⁸ № 209. У решти досліджуваних тварин III і IV груп спостерігали відповідно тенденцію до підвищення цього показника, але вона була вірогідно незначущою (рис. 2).

Вміст С-реактивного білка вірогідно підвищився на 318% у щурів III групи через 3 доби після останнього введення 0,02 мл *S. aureus* 10⁸ № 209. Тоді як за тих самих умов експерименту, але через 14 діб, цей показник мав лише тенденцію до зростання. Найвищою концентрація СРБ була через 3 та 14 діб після поперемінного (через день) введення по 0,02 мл флостерону та 0,02 мл *S. aureus* 10⁸ № 209. Вона становила 636,4% і 1190,9% відповідно до контрольних значень ($P < 0,001$). Через 3 доби після останнього введення флостерону спостерігали тенденцію до збільшення рівня СРБ, тоді як через 14 діб його концентрація вірогідно зросла на 318,2% порівняно з контрольною групою (рис. 3).

Найбільше – на 625% – вірогідне підвищення рівня ПКТ відбувалося через 14 діб після поперемінного (через день) введення по 0,02 мл флостерону та 0,02 мл *S. aureus* 10⁸ № 209. Після останнього введення флостерону (II група) цей показник у сироватці крові вірогідно не змінювався, тоді як через 14 діб вірогідно зроста на 30% ($P < 0,001$) відносно контрольних значень (рис. 4).

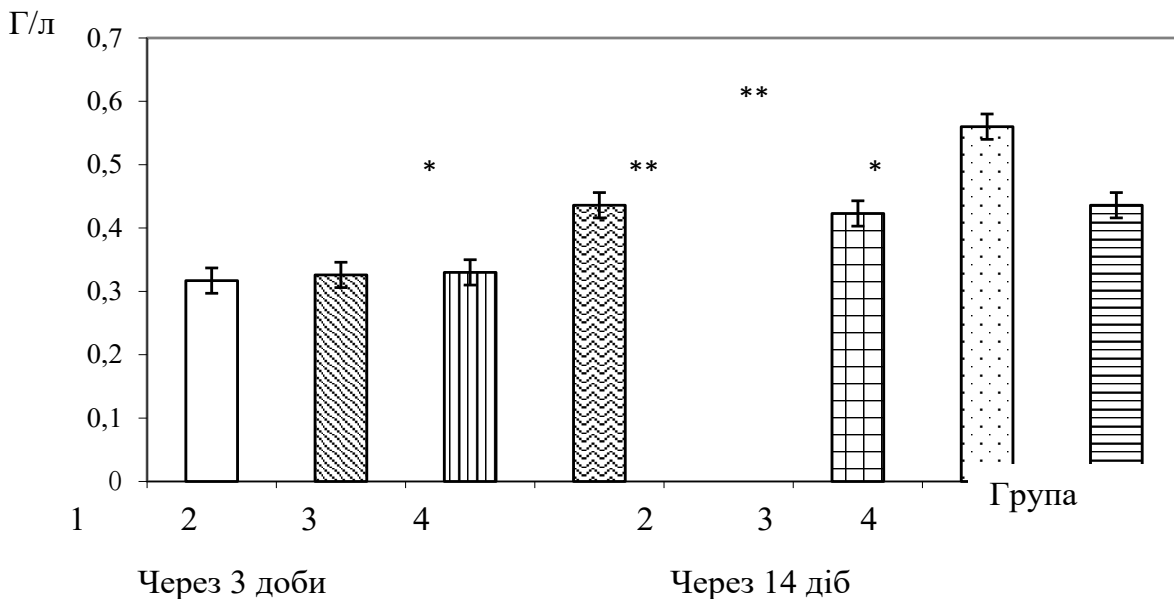


Рис. 1. Концентрація гаптоглобіну у сироватці крові контрольних щурів (I група) та через 3 та 14 діб після введення: флостерону (II група), *S. aureus* 10⁸ № 209 (III група) та флостерону + *S. aureus* 10⁸ № 209 (поперемінно, IV група)

* $P < 0,05$; ** $P < 0,001$ – відносно контрольних щурів

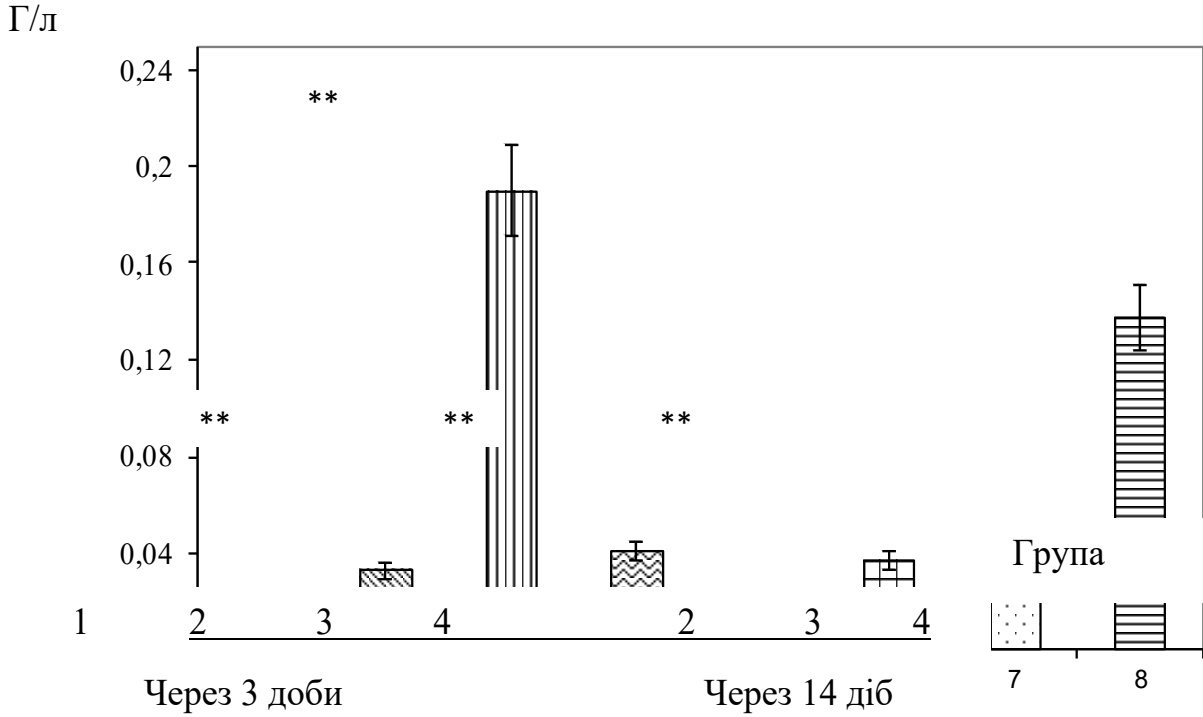


Рис. 2. Концентрація церулоплазміну у сироватці крові контрольних щурів (I група) та через 3 та 14 дiб після введення: флостерону (II група), *S. aureus* 10⁸ № 209 (III група) та флостерону + *S. aureus* 10⁸ № 209 (поперемінно, IV група)
*P<0,05; **P<0,001 – відносно контрольних щурів

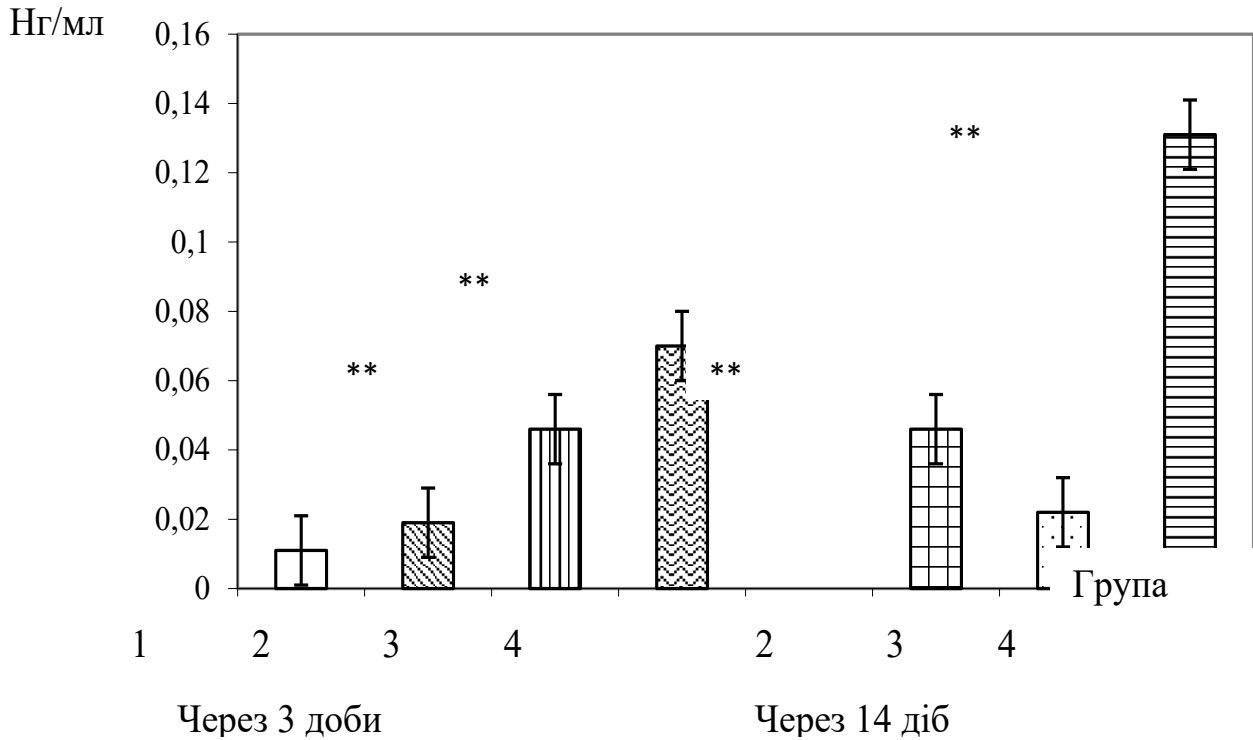


Рис. 3. Концентрація С-реактивного білка у сироватці крові контрольних щурів (I група) та через 3 та 14 дiб після введення: флостерону (II група), *S. aureus* 10⁸ № 209 (III група) та флостерону + *S. aureus* 10⁸ № 209 (поперемінно, IV група)
*P<0,05; **P<0,001 – відносно контрольних щурів

Нг/мл

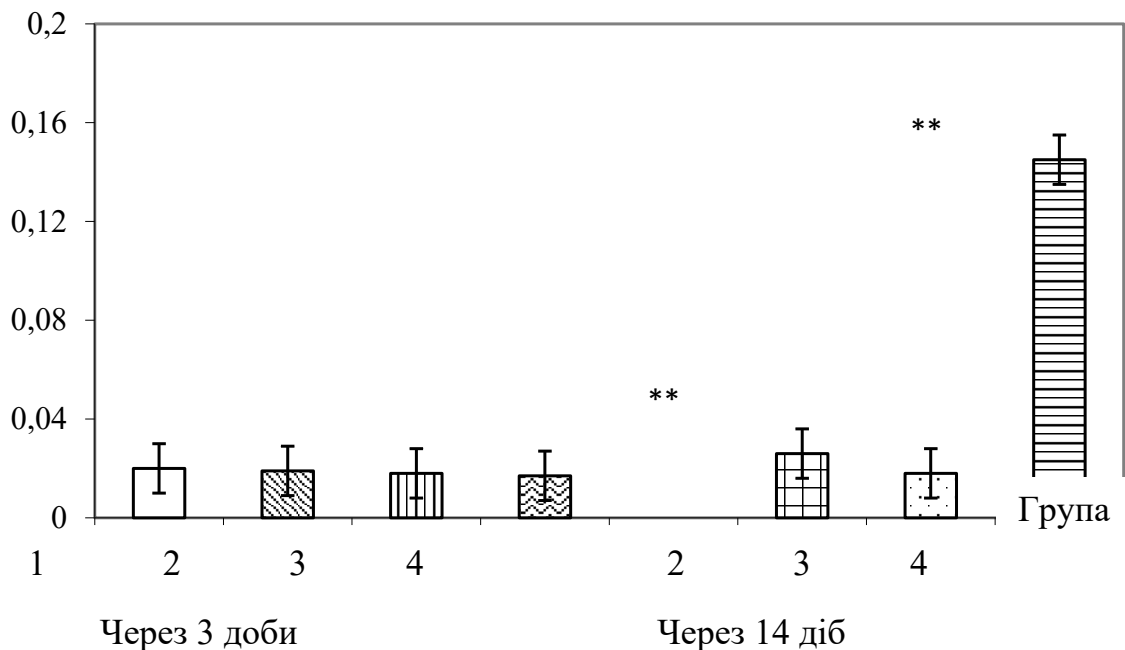


Рис. 4. Концентрація прокальцитоніну у сироватці крові контрольних груп щурів (I група) та через 3 та 14 діб після введення флостерону (II група), *S. aureus* 10⁸ № 209 (III група) та флостерону + *S. aureus* 10⁸ № 209 (поперемінно, IV група) *P<0,05; **P<0,001 – відносно контрольних щурів

Вищенаведені дані свідчать, що концентрація гаптоглобіну вірогідно зростала у сироватці крові щурів через 3 доби лише за умов поперемінного триразового введення флостерону і *S. aureus* 10⁸ № 209. Тобто запалення, спричинене інфікуванням стафілококом, додатково посилювалося введенням флостерону, що призвело до вірогідного підвищення рівня гаптоглобіну. Через 14 діб при посиленні запального процесу цей показник збільшився у всіх досліджуваних групах тварин, а найбільше (за аналогією до спостережень через 3 доби) при сумісному впливі флостерону і *S. aureus* 10⁸ № 209. Вважаємо, що цей показник не відрізняється високою специфічністю при ранньому виявленні запального процесу.

Концентрація церулоплазміну у сироватці крові зростала у всіх групах експериментальних щурів як через 3 доби, так і через 14 діб у групі після введення флостерону. Ймовірно синтез церулоплазміну посилюється саме впродовж перших 3 діб інфекційного процесу, що і призводить до підвищення його вмісту. Рівень СРБ у сироватці крові зростав у всіх без винятку досліджуваних групах щурів, що доводить його високу специфічність для виявлення запальних процесів різної тяжкості.

Концентрація прокальцитоніну в умовах проведення нашого експерименту достовірно не змі-

нювалася у сироватці крові щурів будь-якої експериментальної групи через 3 доби. Проте достовірні зміни відбувалися через 14 діб після введення флостерону та при сумісному впливі флостерону і *S. aureus* 10⁸ № 209. Тобто при розвитку бактеріальної інфекції цей показник є більш специфічним.

Висновки

Таким чином, за нашими даними, визначення гаптоглобіну не відрізняється високою ефективністю при ранньому виявленні запального процесу. Водночас синтез церулоплазміну посилюється саме впродовж перших 3 діб інфекційного процесу, що перетворює його на результативний маркер для виявлення раннього інфекційного ускладнення. Динаміка змін рівня СРБ у сироватці крові продемонструвала найвищу кореляцію з активністю інфекційного процесу, що доводить його високу специфічність для виявлення запальних процесів різної тяжкості після введення препаратів. Найбільші відхилення спостерігали у щурів, яким триразово поперемінно (через день) вводили флостерон і *S. aureus* 10⁸ № 209 в колінний суглоб. Такі зміни дозволяють припустити, що гормональний препарат флостерон сприяв посиленню запального процесу.

Перспективи. Подальше дослідження більш тривалого застосування гормонального препарату (флостерон) в експерименті.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів під час підготовки статті.

References

1. Zeller L, Tyrrell PN, Wang S, Fischer N, Haas JP, Hügle B. α 2-fraction and haptoglobin as biomarkers for disease activity in oligo- and polyarticular juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2022;20(1):66-73. DOI:10.1186/s12969-022-00721-7.
2. Мусина НН, Саприн ТВ, Прохоренко ТС, Зима АП. Особенности параметров обмена железа и воспалительного статуса у пациентов с сахарным диабетом и дислипидемией. Ожирение и метаболизм. 2020;17(3):269-282. DOI: 10.14341/omet12497.
3. Musina NN, Saprina TV, Prohorenko TS, Zima AP. Features of iron metabolism parameters and inflammatory status in patients with diabetes mellitus and dyslipidemia. *Ozhirenne i metabolizm.* 2020;17(3):269-282. DOI: 10.14341/omet12497. [in Russian].
4. Буханова ДВ, Белов БС, Тарасова ГМ, Дилбарян АГ. Прокальцитониновый тест в ревматологии. *Клиницист.* 2017;11(2):16-23.
5. Buhanova DV, Belov BS, Tarasova GM, Dilbaryan AG. Procalcitonin test in rheumatology. *Klinitsist.* 2017;11(2):16-23. [in Russian].
6. Лапин СВ, Маслянский АЛ, Лазарева НМ, Васильева ЕЮ, Тотолян АА. Значение количественного определения прокальцитонина для диагностики септических осложнений у больных с аутоиммунными ревматическими заболеваниями. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2013;(1):28-33.
7. Lapin SV, Maslyanskiy AL, Lazareva NM, Vasileva EYu, Totolyan AA. The value of quantitative determination of procalcitonin for the diagnosis of septic complications in patients with autoimmune rheumatic diseases. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2013;(1):28-33. [in Russian].
8. Tsujimoto K, Hata A, Fujita M, Hatachi S, Yagita M. Presepsin and procalcitonin as biomarkers of systemic bacterial infection

in patients with rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis.* 2018 Jul;21(7):1406-13. DOI: 10.1111/1756-185X.12899.

6. Шишицына ИВ, Осипова ЕВ, Люлин СВ, Свириденко АС. Диагностическая ценность прокальцитонина в посттравматическом периоде у пациентов с политравмой. *Политравма.* 2018;(1):47-59.

Shipitsyina IV, Osipova EV, Lyulin SV, Sviridenko AS. Diagnostic value of procalcitonin in the post-traumatic period in patients with polytrauma. *Politravma.* 2018;(1):47-59. [in Russian].

7. Shen CJ, Wu MS, Lin KH, Lin WL, Chen HC, Wu JY, et al. The use of procalcitonin in the diagnosis of bone and joint infection: a systemic review and meta-analysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013;32(6):807-14. DOI: 10.1007/s10096-012-1812-6.

8. Магомедов С, Кравченко ОМ, Колов ГБ, Шевчук АВ. Прокальцитонин як біохімічний маркер при діагностиці запальних процесів (огляд літератури). *Вісник ортоп., травмат. та протезув.* 2018;(1):63-7.

Mahomedov S, Kravchenko OM, Kolov HB, Shevchuk AV. Procalcitonin as a biochemical marker in the diagnosis of inflammatory processes (literature review). *Visnyk ortop., travmat. ta protezuv.* 2018;(1):63-7. [in Ukrainian].

9. Fuchs T, Stange R, Schmidmaier G, Raschke MJ. The use of gentamicin-coated nails in the tibia: preliminary results of a prospective study. *Arch.Orthop.Trauma Surg.* 2011;131(10):1419-25.

10. Wallbach M, Vasko R, Hoffmann S, Niewold TB, Müller GA, Korsten P. Elevated procalcitonin levels in a severe lupus flare without infection. *Lupus* 2016;25(14):1625-6. DOI: 10.1177/0961203316651746.

11. Калашніков АВ, Чіп ЄЕ, Калашніков ОВ, Чалайдюк ТП. Визначення ефективності застосування різних способів лікування переломів проксимального відділу великогомілкової кістки. *Вісник ортопедії, травматології та протезування.* 2019;(4):31-38. DOI: 10.37647/0132-2486-2019-103-4-28-34.

Kalashnikov AV, Chip YeE, Kalashnikov OV, Chalaidiuk TP. Determination of the effectiveness of various methods of treatment of fractures of the proximal part of the tibia. *Visnyk ortopedii, travmatolohii ta protezuvannia.* 2019;(4):31-38. DOI: 10.37647/0132-2486-2019-103-4-28-34. [in Ukrainian].

12. Jevsevar DS, Brown GA, Jones DL, Matzkin EG, Manner PA, Moar P, et al. The American Academy of Orthopaedic Surgeons evidence-based guideline on: treatment of osteoarthritis of the knee, 2nd edition. *Journal of Bone and Joint Surgery-American.* 2013;95(20):1885-6.

Acute Phase Proteins and Procalcitonin in the Modeling of Infectious Arthritis

Mahomedov S.¹, Poliachenko Yu.V.¹, Hrytsai M.P.¹, Litovka I.H.²

¹SI "Institute of Traumatology and Orthopedics of NAMS of Ukraine", Kyiv

²Bogomolets Institute of Physiology of NAS of Ukraine, Kyiv

Summary. Background. Acute phase proteins – ceruloplasmin, haptoglobin, C-reactive protein (CRP) – are markers that characterize the inflammatory process. C-reactive protein is one of the major components of the acute phase (AF) and is a generally accepted indicator of inflammatory processes. **Objective:** to determine the level and specificity of acute-phase proteins (CRP, haptoglobin, ceruloplasmin), as well as procalcitonin in the modeling of infectious arthritis. **Materials and Methods.** Experimental studies were carried out on 31 white male Wistar rats. The model of infectious arthritis was created during three days by daily injection of 0.02 ml of *S.aureus* 10⁸ No. 209 into the knee joint of a rat. The animals were divided into groups, of which group I was the vivarium control. The following model of drug administration was used for the experimental groups: a

single daily injection of 0.02 ml of flosteron into the knee joint for three days (group II); daily single administration for three days of 0.02 ml of *S.aureus* 10⁸ No. 209 (group III); daily one-time alternating (every other day) administration for three days of 0.02 ml of flosteron and 0.02 ml of *S.aureus* 10⁸ No. 209 into the knee joint (group IV). The effectiveness of the drugs was observed 3 and 14 days after administration. **Results.** It was established that the concentration of haptoglobin probably increased in the blood serum of rats after 3 days only under the conditions of alternating three-time administration of flosterone and *S.aureus* 10⁸ No. 209. After 14 days, when the inflammatory process progressed, this indicator increased in all studied groups of animals, and most of all (by analogy with observations after three days) with the combined effect of flosterone and *S.aureus* 10⁸ No. 209. The concentration of ceruloplasmin in blood serum increased in all experimental rats both after 3 days and after 14 days in the group after administration of flosterone. The content of C-reactive protein in blood serum increased in all studied groups of rats without exception, which proves its high specificity for detecting inflammatory processes of various severity. The concentration of procalcitonin in the experiment did not reliably change in the blood serum of rats of any experimental group after 3 days. However, significant changes occurred 14 days after the introduction of flosterone and with the combined effect of flosterone and *S.aureus* 10⁸ No. 209. **Conclusions.** Determining the content of haptoglobin is not highly effective in early detection of the inflammatory process. At the same time, the synthesis of ceruloplasmin increases precisely during the first three days of the infectious process, which turns it into an effective marker for detecting early infectious complications. The dynamics of changes in the level of C-reactive protein in blood serum demonstrated the highest correlation with the activity of the infectious process, which proves its high specificity for detecting inflammatory processes of various severity. The greatest deviations were observed in rats, which were injected three times alternately (every other day) with flosterone and *S. aureus* 10⁸ No. 209 into the knee joint. Such changes suggest that the hormonal drug flosteron contributed to the intensification of the inflammatory process.

Key words: haptoglobin; ceruloplasmin; C-reactive protein; procalcitonin; infectious arthritis.