

Napięcie powierzchniowe płynu stawowego w zapalnych schorzeniach układu ruchu

Synovial fluid surface tension in inflammatory joint diseases

Radostaw Jeleniewicz¹, Maria Majdan¹, Robert Zwolak¹, Jolanta Parada-Turska¹,
Magdalena Dryglewska¹, Marek Majdan²

¹Klinika Reumatologii i Układowych Chorób Tkanki Łącznej Akademii Medycznej w Lublinie,

kierownik Kliniki prof. dr hab. med. Maria Majdan

²Zakład Chemii Nieorganicznej Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie; kierownik Zakładu prof. dr hab. med. Zbigniew Hubicki

Słowa kluczowe: płyn stawowy, napięcie powierzchniowe, reumatoidalne zapalenie stawów, spondyloartropatie seronegatywne.

Key words: synovial fluid, surface tension, rheumatoid arthritis, seronegative spondyloarthropathies.

Streszczenie

Napięcie powierzchniowe (NP), miara energii swobodnej w warstwie powierzchniowej, wynika z oddziaływań międzycząsteczkowych. Na jego wartość wpływają wszystkie wielko- i małowcząsteczkowe substancje obecne w roztworze, szczególnie składniki aktywne powierzchniowo (surfaktanty). Płyn stawowy (PS) zawiera wiele takich substancji. Dyskutuje się rolę fosfolipidów jako substancji aktywnych powierzchniowo w PS, pełniących rolę ochronną, poprawiających ruchomość stawów, zmniejszających tarcie. Celem pracy była ocena napięcia powierzchniowego PS w 2 grupach zapalnych schorzeń stawów – seronegatywnych spondyloartropatiach (Spa) i reumatoidalnym zapaleniu stawów (RZS) i jego związku z wybranymi markerami zapalenia. W płynie stawowym pobranym od 25 chorych (16 K i 9 M) na Spa i RZS oznaczano napięcie powierzchniowe, całkowitą liczbę komórek oraz stężenia białka całkowitego i albumin. Średnią wartość NP mierzono metodą oderwania płytki Wilhelmi (10 pomiarów w każdej próbce) z zastosowaniem tensiometru sterowanego komputerem. Płyny podzielono na 2 grupy: grupa 1. – chorzy na Spa (n=6) i grupa 2. – chorzy na RZS (n=19). W płynach stawowych pochodzącym od chorych na Spa stwierdzono istotnie niższe napięcie powierzchniowe niż u chorych na RZS ($42,42 \pm 7,02$ vs $47,99 \pm 4,59$ mN/m) $p=0,032$. Jednocześnie w tej grupie stwierdzono istotnie wyższe stężenie białka całkowitego ($5 \pm 0,49$ vs $3,9 \pm 0,95$ g/dl) $p=0,021$ i albumin ($2,53 \pm 0,68$ vs $1,92 \pm 0,43$ g/dl) $p=0,015$ w płynie stawowym. Nie wykazano istotnych różnic między dwiema grupami w zakresie całkowitej liczby komórek. Pomiar napięcia powierzchniowego wydaje się wartościową metodą oceny płynów stawowych i może być użyteczny w diagnostyce różnicowej chorób stawów.

Summary

Surface tension (ST), free energy measure in surface layer, results from molecules interactions. Its value is influenced by every macro- and micromolecular substances present in solution, particularly surface active compounds (surfactants). Synovial fluid (SF) contents many such substances. Phospholipids are discussed as surface active substances in SF, protecting joints, improving their movement, lowering friction. The aim of study was the assessment of SF surface tension in 2 groups of inflammatory joint diseases – seronegative spondyloarthropathies (Spa) and rheumatoid arthritis (RA) and its relations with chosen markers of inflammation. SF from 25 patients (16 F, 9 M) with Spa and RA was evaluated for ST and total cell count (TCC), total protein and albumin concentrations. Mean ST was determined by Wilhelmy plate method (10 measurements for each sample) in the computer aided-tensiometer. Fluids were divided into 2 groups: group 1 from patients with Spa (n=6), and group 2 with RA (n=19). SF from patients with spa has significantly lower ST then from patients with RA (42.42 ± 7.02 vs 47.99 ± 4.59 mN/m) $p=0.032$. It was connected with significantly higher concentration of total proteins (5 ± 0.49 vs 3.9 ± 0.95 g/dL) $p=0.021$ and albumins (2.53 ± 0.68 vs 1.92 ± 0.43 g/dL) $p=0.015$. There was no significance in TCC between two groups of patients. ST seems to be valuable method for total assessment of compound of SF and could be suitable for differential diagnosis of type of joint disease.

Adres do korespondencji:

lek. Radostaw Jeleniewicz, Klinika Reumatologii i Układowych Chorób Tkanki Łącznej, Akademia Medyczna, ul. Jaczewskiego 8, 20-090 Lublin, tel. +48 81 724 47 90, faks +48 81 742 51 03, e-mail: radj@esculap.pl

Wstęp

Napięcie powierzchniowe (NP), będące miarą energii swobodnej w warstwie powierzchniowej, jest wynikiem oddziaływań międzycząsteczkowych [1]. Wartość NP płynów biologicznych o złożonym składzie odzwierciedla wszystkie zachodzące w tych płynach zjawiska fizykochemiczne [1–5]. Płyn stawowy zawiera wiele substancji aktywnych powierzchniowo [6–9]. W piśmiennictwie dyskutuje się rolę hydrofobowych związków fosfolipidowych (przede wszystkim fosfatydylocholino) jako substancji o aktywności powierzchniowej. Występują one w połączeniu z hydrofilową częścią białkową. Sugeruje się, że mają one zmniejszać tarcie, poprawiać ruchomość stawów i pełnić rolę ochronną [8–11]. Podobny surfaktant znaleziono także w pęcherzykach płucnych [12] i na powierzchni mezotelium [13–15]. Innym istotnym surfaktantem w płynie stawowym jest kwas hialuronowy [6]. W przebiegu zapalenia dochodzi do istotnych zmian stężeń substancji o aktywności powierzchniowej w płynie maziówkowym. Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) i spondyloartropatie seronegatywne (Spa) należą do grupy przewlekłych postępujących zapaleń stawów o różnej, nie w pełni poznanej patogenezie, różnym przebiegu klinicznym i odmiennej reakcji na stosowaną terapię. W przebiegu obydwu tych grup przewlekłych schorzeń układu ruchu często dochodzi do wysięków w dużych stawach. Płyn stawowy z reguły ma charakter zapalny, o różnym stopniu nasilenia procesu zapalenia [16].

Pomiar napięcia powierzchniowego daje ogólną, syntetyczną informację o składzie badanego płynu. Szczególnie istotnie na wartość napięcia powierzchniowego wpływają zawarte w płynie substancje o charakterze surfaktantów. Można przypuszczać, że ich zawar-

tość w wysiękowym płynie stawowym w artropatiach o odmiennej etiologii będzie się różnić.

Celem pracy była próba oceny, czy w RZS i Spa napięcie powierzchniowe w płynie stawowym jest różne.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w grupie 25 chorych (16 kobiet, 9 mężczyzn) leczonych z powodu zapalnych schorzeń układu ruchu: RZS – 19 chorych i Spa (zesztywniające zapalenie stawów kręgosłupa – ZZSK i łuszczycowe zapalenie stawów – ŁZS) – 6 chorych. Chorych podzielono na 2 grupy. Do grupy pierwszej zakwalifikowano chorych na Spa, w grupie drugiej znaleźli się chorzy na RZS. Próbkę płynu stawowego (PS) do badania pobierano w czasie diagnostycznych i terapeutycznych punkcji stawów kolanowych. Pomiary NP wykonano, wykorzystując metodę oderwania płytki Wilhelmięgo, w aparacie KSV Sigma 770 – tensiometrze, sterowanym komputerem. W każdej próbce dokonywano 10 pomiarów i obliczano wartość średnią NP. Jednocześnie w badanych próbkach płynu oznaczano stężenie białka całkowitego i albumin metodą kolorymetryczną oraz obliczano w nich liczbę komórek. Analizę statystyczną uzyskanych wyników wykonano przy użyciu programu komputerowego Statistica 6.0.

Wyniki

Średnia wartość napięcia powierzchniowego płynu stawowego w obu grupach chorych łącznie wynosiła $46,66 \pm 5,66$ mN/m, białka całkowitego $4,24 \pm 0,96$ g/dl, albumin $2,07 \pm 0,55$ g/dl, a całkowita liczba komórek $12\,127 \pm 8\,090$ /mm³. W tab. I przedstawiono średnie wartości badanych parametrów w PS w każdej z grup chorych. Uzyskane wartości NP u pacjentów chorujących

Tabela I. Średnie wartości wybranych parametrów w płynie stawowym w 2 grupach chorych (grupa 1. – spondyloartropatie seronegatywne, grupa 2. – reumatoidalne zapalenie stawów)

Table I. Mean values of some parameters in synovial fluid in two groups of patients (group 1 - seronegative spondyloarthropathies, group 2 - rheumatoid arthritis)

Grupy Groups	Całkowita liczba komórek Total Cell Count (mm ³)	Białko całkowite Total protein (g/dl)	Albuminy Albumins (g/dl)	Napięcie powierzchniowe Surface tension (mN/m)
grupa 1. (zakres) group 1 (range)	9 119±9 905 (4 000–29 267)	5±0,49 (4,67–5,98)	2,53±0,68 (1,25–3,03)	42,42±7,02 (31,76–47,64)
grupa 2. (zakres) group 2 (range)	13 077±7487 (450–30 400)	3,9±0,95 (2,22–6,15)	1,92±0,43 (1,31–2,98)	47,99±4,59 (31,15–52,61)
poziom istotności p-value	p=0,306	p=0,021	p=0,015	p=0,032

W tabeli podano wartości średnie ± odchylenie standardowe

na Spa były znacząco niższe niż w grupie chorych na RZS. W grupie chorych na RZS w płynie stawowym stwierdzono znacząco niższe stężenie białka całkowitego i albumin. Pleocytoza nie różniła się istotnie w obydwu grupach badanych płynów (tab. I). Analizując zależności między wartością NP a stężeniem białka całkowitego, albumin oraz pleocytozy, nie stwierdzono istotnych zależności między tymi parametrami (tab. II).

Dyskusja

W płynie stawowym, podobnie jak w innych płynach biologicznych, zidentyfikowano wiele substancji powierzchniowo czynnych [6–10]. Najistotniejszą rolę przypisuje się aktywnemu powierzchniowo fosfolipidowi, będącemu częścią glikoproteiny, nazwanej lubrycyną. Głównym składnikiem tego fosfolipidu jest fosfatydylocholina [10]. Fosfolipid aktywny powierzchniowo, w postaci ciał blaszkowatych, jest wytwarzany m.in. przez komórki błony maziowej, komórki mezotelium, płuc, żołądka [7, 8, 10, 13–15]. Obecny w płynie maziówkowym, pokrywa również hydrofobowe powierzchnie stawowe, ułatwiając ruchomość stawów, zmniejszając tarcie, pełni rolę ochronną. Na powierzchni chrząstki stawowej ułożony jest wielowarstwowy. W schorzeniach reumatycznych dochodzi do zmniejszenia ilości zewnętrznej warstwy powierzchniowo aktywnego fosfolipidu, co może być przyczyną zmniejszonej ruchomości stawów [17].

W piśmiennictwie dyskutuje się możliwość poprawienia ruchomości zmienionych chorobowo stawów przez podanie dostawowo substancji fosfolipidowych [9, 10]. Poprawę ruchomości stawów stwierdzano też po dostawowym podaniu steroidów, które zwiększają produkcję substancji powierzchniowo czynnych przez synowocyty [18].

W przebiegu procesu zapalnego w stawach dochodzi do zmian składu chemicznego płynu maziówkowego, co jest uwarunkowane działaniem m.in. licznych mediatorów zapalnych, wytwarzanych przez gromadzące się w maziówce i w płynie komórki. W zależności od postaci zapalnej choroby stawów skład płynu stawowego może być różny. Różnice te mogą wynikać z obecności różnych subpopulacji komórek zapalnych, a co za tym idzie, innych mediatorów zapalenia. Stopień nasilenia reakcji zapalnej również może się różnić w zależności od procesu chorobowego, prowadzącego do powstania wysięku w stawie [16, 19, 20]. W dostępnym piśmiennictwie brak informacji o różnicach w składzie chemicznym płynu stawowego u chorych na RZS i Spa. Zarówno u chorych na RZS, jak i pacjentów chorujących na Spa płyn stawowy ma charakter zapalny, o różnym stopniu nasilenia procesu zapalnego, co nie zawsze ko-

Tabela II. Analiza korelacji. Napięcie powierzchniowe a stężenie wybranych parametrów w płynie stawowym. N=25

Table I. Correlation analysis. Surface tension and concentration of some parameters in synovial fluid. N=25

Parametr Parameter	r	t	p
białko całkowite total protein (g/dl)	-0,236	-1,1656	0,2557
albuminy albumins (g/dl)	-0,363	-1,8674	0,0746
całkowita liczba komórek total cell count (mm ³)	0,269	1,3392	0,1936

reluje z ogólną liczbą komórek w płynie. W płynie stawowym w RZS obecne są białka ostrej fazy, fibronektyna, DNA, immunoglobuliny, składowe dopełniacza, wiele enzymów lizosomalnych [16].

W dostępnym piśmiennictwie znaleziono tylko jedną pracę dotyczącą napięcia powierzchniowego płynu stawowego u ludzi [21], istnieją pojedyncze doniesienia przedstawiające wartość napięcia powierzchniowego płynu maziówkowego w materiale zwierzęcym [9]. Parametr ten wydaje się bardzo czułym markerem wszystkich zmian fizykochemicznych, zachodzących w badanych płynie [1–5]. Na wielkość NP wpływają głównie obecne w badanych płynie substancje powierzchniowo czynne.

W naszych badaniach stwierdziliśmy wyraźnie niższe wartości napięcia powierzchniowego płynu stawowego u chorych na Spa w porównaniu z chorymi na RZS. Było to związane z wyraźnie wyższymi stężeniami białka i albumin u chorych na Spa. Może to sugerować większe nasilenie procesu zapalnego w grupie chorych na Spa. Nie znaleziono jednak istotnej statystycznie różnicy w wartości pleocytozy pomiędzy tymi dwiema grupami chorych. Napięcie powierzchniowe oceniano w odniesieniu do stężenia w płynie białka całkowitego i albumin. Znaczącą rolę w obniżaniu NP mają również inne substancje obecne w płynie stawowym. W piśmiennictwie wymieniane są różne surfaktanty, m.in. fosfolipidy (głównie fosfatydylocholina), kwas hialuronowy, siarczan chondroityny, glikozaminoglikany [6, 9]. Przypuszczamy, że stężenia tych substancji w PS w obu badanych grupach mogą się różnić. Zagadnienia dotyczące roli surfaktantów w patologii stawów wymagają dalszych badań.

Wydaje się, że pomiary NP płynu stawowego mogą być użyteczne w badaniu chorych z zapalnymi schorzeniami układu ruchu, służąc jako czułe narzędzie w dia-

gnostyce różnicowej oraz ocenie stopnia nasilenia procesu zapalnego. Badania na większej grupie chorych, z analizą zależności między NP a stężeniem wielu substancji w płynie stawowym o charakterze surfaktantów, są kontynuowane.

Wnioski

1. Wartość napięcia powierzchniowego płynu stawowego jest wyższa u chorych na spondyloartropatie seronegatywne niż u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów.

2. Pomiar napięcia powierzchniowego wydaje się przydatną metodą oceny płynu stawowego o znaczeniu diagnostycznym.

Praca finansowana z grantu KBN nr 2 P05B 112 27.

Piśmiennictwo

1. Dutkiewicz ET. Fizykochemia powierzchni. PWN, Warszawa 1998.
2. Mottaghy K, Hahn A. Interfacial tension of some biological fluids: a comparative study. *J Clin Chem Clin Biochem* 1981; 19: 267-71.
3. Trukhin DV, Sinyachenko OV, Kazakov VN, et al. Dynamic surface tension and surface rheology of biological liquids. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2001; 21: 231-8.
4. Kazakov VN, Vozianov AF, Sinyachenko OV, et al. Studies of the application of dynamic surface tensiometry of serum and cerebrospinal liquid for diagnosis and monitoring of treatment in patient who have rheumatic, neurological or oncological diseases. *Adv Colloid Interface Sci* 2000; 86: 1-38.
5. Kazakov VN, Sinyachenko DV, Trukhin DV, et al. Dynamic interfacial tensiometry of biologic liquids- does it have an impact on medicine. *Colloids Surf A Physiochem* 1998; 143: 441-59.
6. Belcher C, Yaqub R, Fawthrop F, et al. Synovial fluid chondroitin and keratan sulphate epitopes, glycosaminoglycans, and hyaluronan in arthritic and normal knees. *Ann Rheum Dis* 1997; 56: 299-307.
7. Schwarz IM, Hills BA. Synovial surfactant: lamellar bodies in type B synoviocytes and proteolipid in synovial fluid and the articular lining. *Br J Rheumatol* 1996; 35: 821-7.
8. Hills BA. Synovial surfactant and the hydrophobic articular surface. *J Rheumatol* 1996; 23: 1323-5.
9. Hills BA, Butler BD. Surfactants identified in synovial fluid and their ability to act as boundary lubricants. *Ann Rheum Dis* 1984; 43: 641-8.
10. Schwarz IM, Hills BA. Surface-active phospholipid as lubricating component of lubricin. *Br J Rheumatol* 1998; 37: 21-6.
11. Hills BA, Thomas K. Joint stiffness and "articular gelling": inhibition of the fusion of articular surfaces by surfactant. *Br J Rheumatol* 1998; 37: 532-8.
12. Jouanel P. Les phospholipides du liquide de lavage broncho-alvéolaire. *Ann Biol Clin* 1982; 40: 255-7.
13. Hills BA, Burke JR, Thomas K. Surfactant barrier lining peritoneal mesothelium: lubricant and release agent. *Perit Dial Int* 1998; 18: 157-65.
14. Dobbie JW, Pavlina T, Lloyd J, et al. Phosphatidylcholine synthesis by peritoneal mesothelium: its implications for peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 1988; 1: 31-6.
15. Hills BA. Boundary Lubrication in vivo. *Proc Instn Mech Engrs* 2000; 214, part H: 83-94.
16. Zimmermann-Górska I, Białkowska-Puszczewicz G, Puszczewicz M. Badanie płynu stawowego. Wyd. II uzupełnione. Wydawnictwa Uczelniane Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznań, 1997.
17. Hills BA, Monds K. Deficiency of lubricating surfactant lining the articular surfaces of replaced hips and knees. *Br J Rheumatol* 1998; 37: 143-7.
18. Hills BA, Ethell MT, Hodgson DR. Release of lubricating synovial surfactant by intra-articular steroid. *Br J Rheumatol* 1998; 37: 649-52.
19. Punzi L, Calo L, Plebani M. Clinical significance of cytokine determination in synovial fluid. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2002; 39: 63-88.
20. Swan A, Amer H, Dieppe P. The value of synovial fluid assays in the diagnosis of joint disease: a literature survey. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 493-8.
21. Siniachenko OV, Kazakov VN, Muller H, et al. Dynamic surface tension of blood and synovial fluid in rheumatoid arthritis. *Ter Arkh* 1998; 70: 46-9.