

Е. Ю. Ударцев<sup>1</sup>, Н. Н. Ильинских<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Санаторий «Алтай-WEST»  
ул. Славского, 39, Белокуриха, Алтайский край, 659900, Россия  
E-mail: orthoped2@yandex.ru

<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет  
Московский тракт, 2, Томск, 634050, Россия

## ВЛИЯНИЕ АЛЬФА-ИЗЛУЧЕНИЯ НА СИНОВИОЦИТЫ У БОЛЬНЫХ С ОСТЕОАРТРИТАМИ

Представлены результаты компьютерной морфометрии клеток синовиальной оболочки до и после радонотерапии у 27 больных с остеоартритом коленного сустава I–II стадии. Эквивалентная доза альфа-излучения составила 280 мкЗв. Показано, что после лечения усиливаются апоптотические процессы с возрастанием числа клеток с нормальной формой ядер и уменьшением количества маложизнеспособных клеток с кариопикнозом, кариорексисом, кариолизисом, клеток с лопастными ядрами и микроядрами. Увеличивалась на 69 % площадь и снижался на 55,5 % уровень конденсации хроматина ядер синовиоцитов, возрастала на 75 % пролиферативная активность клеток синовиальной оболочки, на 83,4 % уменьшалось число патологических митозов. Отмеченные изменения указывают на интенсификацию процессов биосинтеза в ядрах синовиоцитов и повышение активности репаративных реакций в синовиальной оболочке под воздействием малых доз альфа-излучения.

*Ключевые слова:* остеоартрит, синовиоциты, радонотерапия, альфа-излучение.

Воспалительный процесс, сопровождающий развитие остеоартрита, приводит к существенному изменению состава клеток синовиальной оболочки [1–3]. Радонотерапия (РТ) на протяжении многих десятилетий является одним из основных лечебных факторов, применяющихся для лечения этого заболевания. Основой лечебного действия РТ является ионизирующее  $\alpha$ -излучение дочерних продуктов радона. Существует гипотеза, согласно которой кратковременное действие РТ может стимулировать репаративные процессы, что в конечном счете, по видимому, оказывает лечебный эффект при остеоартритах [4; 5]. В то же время все данные о влиянии РТ на морфофункциональное состояние клеток синовиальной среды сустава получены визуально, без морфометрии и привлечения компьютерных методов анализа этих клеток [6; 7]. Практически отсутствуют данные и по цитологическому количественному изучению ядерного аппарата синовиоцитов, изменения в котором могут свидетельствовать о внутриклеточных процессах на уровне генетических структур

клетки [8; 9]. Данные такого рода могут представлять особое значение при постановке точного диагноза, степени изменений синовиальной оболочки и планирования эффективной терапии больного с остеоартритом.

**Цель** исследования – на основе данных компьютерного морфологического анализа клеток синовиальной оболочки изучить влияние ионизирующего  $\alpha$ -излучения при радонотерапии на морфофункциональное состояние синовиоцитов у больных с остеоартритами.

### Материал и методы

Под наблюдением находилось 27 больных в возрасте 35–53 лет с остеоартритом (ОА) коленных суставов I–II стадии по классификации Келлгрена – Лоуренса (1957). Больных отбирали методом сплошной выборки, все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено Этическим комитетом Алтайского государственного медицинского университета (протокол № 26 от 30.04.2008).

В санаторных условиях все пациенты получали лечение в виде общих азотно-кремнистых ванн с концентрацией радона 0,19 кБк/л при температуре воды 36 °С и экспозиции 15 мин. Курс составил 14 процедур, эквивалентная доза за процедуру 20 мкЗв.

Синовиальную жидкость получали пункцией коленного сустава в объеме 1–2 мл до лечения и непосредственно после его окончания (в среднем через 20 дней). Изучены одноклеточные клетки синовия больных на препаратах синовиальных клеток, приготовленных по методу толстой капли. Препараты окрашивали двумя способами: по Романовскому – Гимзе и с использованием реакции Фельгена [10]. Исследование осуществляли с помощью метода компьютерной цитографии, разработанной Б. В. Шиловым [11].

Изображение анализировали при помощи светового микроскопа («Reichert GIM-358», Австрия), оснащенного бинокляром и цифровой фотокамерой «Casio QV-100» (Япония), имеющей разрешение 1 640 × 1 480 пикселей. Полученные изображения переносили в программу «QV-Link», поставляемую вместе с фотокамерой. Подготовку и анализ изображения проводили с использованием программы «ImageJ» («Wayne Rasband», США).

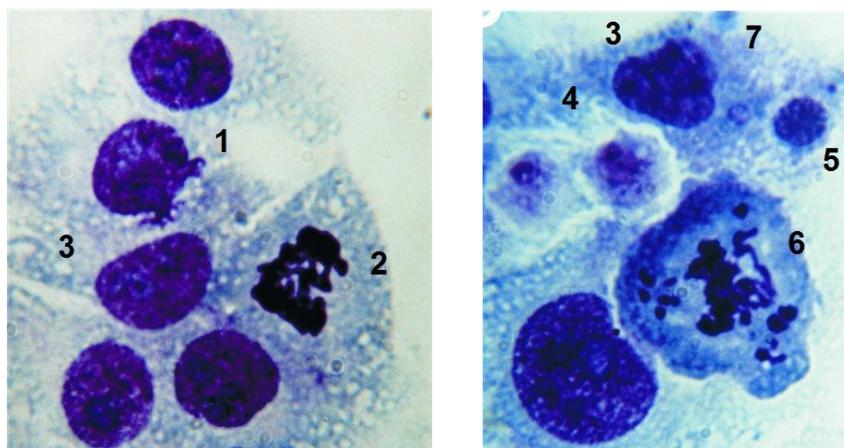
У каждого больного анализировали 250–300 интерфазных клеток. В каждом случае (до и после лечения) визуально на препаратах просматривали не менее 10 000 клеток, отмечая особенности морфологии ядра, наличие апоптотических клеток, митозов, патологически измененных делящихся клеток, согласно критериям, представленным ранее в [12].

Полученные данные подвергнуты статистической обработке с использованием программы Statistica 7.0. При проверке совпадения распределения исследуемых показателей с нормальными в группах пользовались критерием согласия Колмогорова – Смирнова. Для проверки достоверности отличий между исследуемыми группами, в которых данные распределялись по нормальному закону, пользовались *t*-критерием Стьюдента; если распределение исследуемых показателей отличалось от нормального, оценку проводили с помощью *U*-критерия Уилкоксона – Манна – Уитни. Для всех показателей отвергнута нулевая гипотеза на уровне значимости 0,05. Для решения задачи группировки объектов использован вероятностно-статистический подход выделения групп. При проведении кластерного анализа пользовались мерой различия между индивидами, основанной на вычислении расстояния Варда.

### Результаты исследования и обсуждение

Анализ различных морфологических изменений ядра свидетельствовал, что в синовии после лечения радоном у пациентов усиливаются апоптотические процессы. В синовии больных с ОА наблюдалось увеличение числа клеток с кариопикнозом, кариорексисом и кариолизисом, при этом возросло количество клеток с лопастными ядрами и микроядрами (рис. 1), а также клеток с округлой формой ядра, что характерно для синовия коленного сустава здоровых людей.

Рис. 1. Патологические изменения ядер синовиоцитов у больных с ОА: 1 – двухлопастное ядро с выбросом хроматина; 2 – анафаза с мостами и отстаиваниями хромосом; 3 – угловатое ядро; 4 – лизис ядер (апоптотические ядра); 5 – кариопикноз; 6 – многогрупповая метафаза; 7 – микроядро



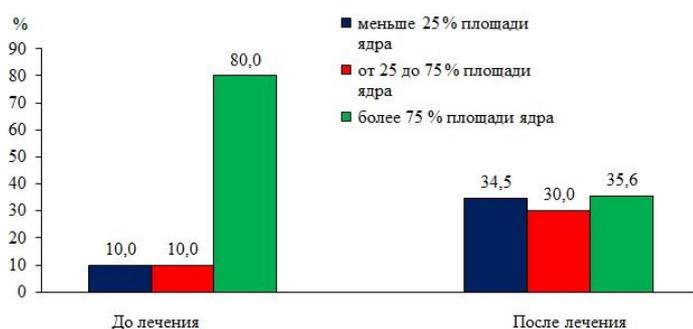


Рис. 2. Число клеток с различным уровнем конденсации хроматина интерфазного ядра в синовии у обследованных больных ( $p < 0,05$  до и после лечения)

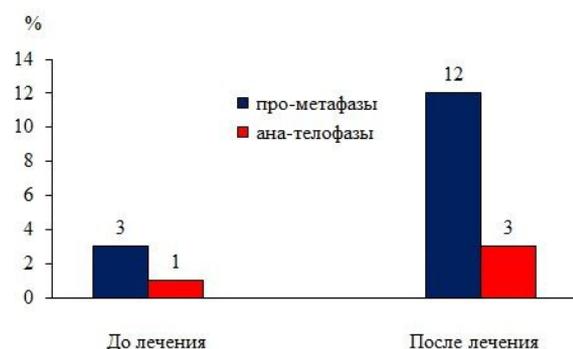


Рис. 3. Число делящихся клеток в синовии у обследованных больных ( $p < 0,05$  до и после лечения)

Морфометрический анализ ядер свидетельствовал, что после РТ среди клеток, не подвергшихся апоптотическим изменениям, наблюдалось резкое увеличение площади и снижение уровня конденсации хроматина ядер синовиоцитов (рис. 2), что свидетельствовало об интенсификации процессов биосинтеза в этих клетках.

Кроме того, после лечения в синовии отмечен подъем пролиферативной активности. Если до лечения число делящихся клеток составило  $0,4 \pm 0,1$  %, то после курса РТ уровень таких клеток достиг  $1,6 \pm 0,4$  % ( $p < 0,05$ ). При этом особенно существенно возросло число клеток на стадии профазы и метафазы (рис. 3).

Также установлено, что ионизирующее  $\alpha$ -излучение в эквивалентной дозе 280 мкЗв способствовало снижению общее число патологических форм митозов (см. таблицу). В то же время полученные данные свидетельствовали о существенных изменениях в частоте различных форм патологических митозов: возросло содержание в синовии таких измененных клеток, как митозы с отставанием фрагментов хромосом, и резко сократилось число других форм патологически измененных клеток.

Полученные результаты свидетельствуют, по нашему мнению, о преждевременном расхождении хроматид, что, возможно, связано с ускорением пролиферативных процессов, наблюдаемых в синовии под воздействием ионизирующего альфа-излучения. Появление клеток с отставшими фрагментами хромосом свидетельствовало о способности РТ индуцировать разрывы хромосом. Поскольку дочерние продукты радона являются альфа-излучателем, глубина проникающего ионизирующего воздействия которого не более нескольких микрон, то вряд ли следует полагать наличие его прямого мутагенного действия на клетки синовия. Более правдоподобной выглядит идея об опосредованном действии, например за счет нуклеаз лизосом, освобождающихся при гибели и разрушении клеток [13]. Как показывают данные, такие изменения кратковременны и клетки с фрагментами и микроядрами быстро устраняются иммунной системой уже через 2–3 нед. [14]. Наряду с этим при РТ существенно уменьшилось число синовиоцитов с нарушениями, связанными с аномалиями клеточного центра и ахроматинового аппарата деления (многополюсные, многогрупповые и колхицино-

Количество патологических митозов в синовиоцитах  
у обследованных больных до и после радонотерапии, %  
( $M \pm m$ )

Тип патологии		Срок наблюдения	
		до лечения ( $n = 27$ )	после лечения ( $n = 27$ )
	Преждевременное расхождение хроматид в профазе	$0,5 \pm 0,2$	$1,9 \pm 0,4^{**}$
	Отставание ацентрических фрагментов в метафазе	$3,1 \pm 0,5$	$8,4 \pm 0,9^*$
	Трех- и многополюсная метафаза	$0,8 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,2^{**}$
	Многогрупповая метафаза	$1,9 \pm 0,3$	$0,2 \pm 0,1^*$
	К-митоз	$4,6 \pm 0,4$	$1,2 \pm 0,5^*$
	Отставание ацентрических фрагментов в анафазе	$0,1 \pm 0,1$	$0,6 \pm 0,4$
	Неравнополюсная анафаза	$0,1 \pm 0,1$	$0,1 \pm 0,1$
	Трех- и многополюсная анафаза	$5,6 \pm 0,5$	$0,6 \pm 0,3^*$
	Анафаза с мостами	$0,3 \pm 0,2$	$0,7 \pm 0,1$
Итого		$17,0 \pm 1,0$	$13,9 \pm 0,7^{**}$

Примечание: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ .

подобные митозы). Возможно, что в этом случае исчезновение такого рода клеток связано со стимуляцией апоптотических процессов в синовии [15]. Не исключено,

что наблюдаемые эффекты (разрушение дефектных клеток, усиление пролиферативных процессов, индукция клеток с микроядрами и фрагментами хромосом) обусловлены

способностью малых доз ионизирующего излучения стимулировать индукцию этих процессов.

### Выводы

1. В синовии у больных с остеоартритами усиливаются апоптотические процессы с увеличением числа мало жизнеспособных клеток с кариопикнозом, кариорексисом, кариолизисом, клеток с лопастными ядрами и микроядрами с возрастанием на этом фоне числа клеток с округлой формой ядер, характерных для синовиальной среды суставов здоровых людей.

2. Продемонстрировано, что увеличивалась на 69 % площадь и снижался на 55,5 % уровень конденсации хроматина ядер синовиоцитов, не подвергшихся апоптотическим изменениям, что свидетельствует об интенсификации в них процессов биосинтеза.

3. Установлено увеличение на 75 % пролиферативной активности клеток синовии с наиболее существенным приростом количества клеток на стадии профазы и метафазы, снижение на 83,4 % числа патологических митозов.

### Список литературы

1. Акбаров С. В., Алиева Д. М. Морфология синовиита при реактивном артрите у детей // Педиатрия. 2000. № 2. С. 108–112.
2. Paus A. C., Pahle J. A. Arthroscopic Evaluation of the Synovial Lining before and after Open Synovectomy of the Knee Joint in Patients with Chronic Inflammatory Joint Disease // Scand. J. Rheumatol. 1990. Vol. 19. P. 193–201.
3. Zschabitz A., Neurath M., Grevenstein J., Chang D. K., Goel A. Correlative Histologic and Arthroscopic Evaluation in Rheumatoid Knee Joints // Surg. Endosc. 1992. Vol. 6. P. 277–282.
4. Erickson B. E. Radioactive Pain Relief: Health Care Strategies and Risk Assessment among Elderly Persons with Arthritis at Radon Health Mines // J. Altern. Compl. Med. 2007. Vol. 13, № 3. P. 375–379.
5. Franke A., Reiner L., Resch K. L. Long-term Benefit of Radon Spa Therapy in the Rehabilitation of Rheumatoid Arthritis: A Randomized, Double-Blinded Trial // Rheumatol. Int. 2007. Vol. 27, № 8. P. 703–713.
6. Yamaoka K., Mitsunobu F., Hanamoto K., Mori S., Tanizaki Y., Sugita K. Study on Biologic Effects of Radon and Thermal Therapy on Osteoarthritis // J. Pain. 2004. Vol. 5, № 1. P. 20–25.
7. Falkenbach A., Kovacs J., Franke A., Jorgens K., Ammer K. Radon Therapy for the Treatment of Rheumatic Diseases – Review and Meta-Analysis of Controlled Clinical Trials // Rheumatol. Int. 2005. Vol. 25, № 3. P. 205–209.
8. Dougados M. Synovial Fluid Cell Analysis // Baillieres Clin. Rheumatol. 1996. Vol. 10. P. 519–534.
9. Базарный В. В. Синовиальная жидкость (клинико-диагностическое значение лабораторного анализа). Екатеринбург, 1999.
10. Shmerling R. H. Synovial Fluid Analysis. A Critical Reappraisal // Rheum. Dis. Clin. North. Am. 1994. Vol. 20. P. 503–512.
11. Шилов Б. В. Компьютерный морфометрический анализ структуры ядер лимфоцитов периферической крови человека в норме и при Эпштейн – Барр-вирусной инфекции в условиях *in vivo* и *in vitro*: Автореф. дис. ... канд. мед. наук, Томск, 2000.
12. Ильинских Н. Н., Новицкий В. В., Ильинских Н. Н., Ильинских И. Н., Ткаченко С. Б. Инфекционная кариопатология. Томск, 2005.
13. Lee S. H., Chang D. K., Goel A., Bolland C. R., Bugbee W., Boyle D. L., Firestein G. S. Microsatellite Instability and Suppressed DNA Repair Enzyme Expression in Rheumatoid Arthritis // J. Immunol. 2003. Vol. 170, № 9. P. 48–69.
14. Ilyinskikh E. N., Novitskiy V. V., Urazova L. N., Isayeva T. M., Ilyinskikh N. N., Ilyinskikh I. N. Assessment of the Relationship of Chronic Opisthorchiasis to Epstein – Barr Virus Infection as well as Some Cytogenetical and Immunological Parameters in Two Comparable Siberian Regions. European // J. Epidemiol. 2000. Vol. 16. P. 993–1002.
15. Wada M., Kawahito Y., Kimura S., Kohno M., Ishino H., Kimura M., Omoto A.,

Yamamoto A., Hamaguchi M., Tsubouchi Y., Tokunaga D., Hojo T., Ashihara E., Maekawa T., Yoshikawa T. siRNA Targeting PLK-1 Induces Apoptosis of Synoviocytes in Rheuma-

toid Arthritis // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2004. Vol. 357, № 2. P. 353–359.

*Материал поступил в редколлегию 09.03.2011*

**E. Yu. Udartsev, N. N. Ilinskikh**

**INFLUENCE ALFA-RADIATION ON MORPHOFUNCTIONAL CONDITION SYNOVIOCYTES OF PATIENTS WITH OSTEOARTHRITIS**

Evidence results of computer morphometry of synovial cells before and after radonotherapy of 27 patients with osteoarthritis. Dose equivalent 280 mkZv are composed. As showed after treatment apoptosis processes are intensifed with increase of number cells with normal form of karyons and reduction of number cells with karyorrexix, karyolysis, karyopyknosis and cells with spadely karyons and with microkaryons, increase on 69 % area and reduction on 55,5 % level of chromatin condensation of karyons synoviocytes, increase on 75 % proliferatively activity cells of synovia and on 83,4 % decrease number of pathological mitosis. Noted change are indicated on increase intensity processes of biosynthesis in karyons synoviocytes and increase activity reparatively reactions in synovial under exposure fellow doses  $\alpha$ -radiation.

*Keywords:* osteoarthritis, synoviocytes, radonotherapy, alfa-radiation.