

СЕРУМНО И СИНОВИАЛНО НИВО НА YKL-40 ПРИ ПСОРИАТИЧЕН АРТРИТ

Мария Казакова¹, Анастас Баталов², Златимир Коларов³, Виктория Сарафян¹

Медицински Университет – Пловдив

1- Катедра „Биология“;

2- Клиника по ревматология;

3- Медицински Университет – София; Клиника по ревматология

e-mail: kazakova25@abv.bg

SERUM AND SYNOVIAL YKL-40 LEVELS IN PSORIATIC ARTHRITIS

M. Kazakova¹, An. Batalov², Zl. Kolarov³, V. Sarafian¹

Medical University - Plovdiv

1- Department of Medical Biology“;

2- Clinic of Rheumatology;

3- Medical University – Sofia; Clinic of Rheumatology

ABSTRACT

Introduction

YKL-40 is a heparin- and chitin-binding glycoprotein with conserved amino acid sequence. In vitro, YKL-40 is expressed and secreted by activated macrophages and neutrophils, arthritic chondrocytes and fibroblast-like synovial cells. It has been suggested that the glycoprotein plays a role in acute and chronic inflammation.

The early and accurate identification of seronegative spondylarthropathies is a major problem in the diagnostic process. The pathogenesis of these diseases remains obscure and autoantigens are not defined. Novel and reliable biomarkers are needed. There are a few data on YKL-40 levels in patients with psoriatic arthritis.

The objective of the present study was to evaluate YKL-40 levels in serum and synovial fluid of patients with psoriatic arthritis in comparison with the immunocytochemical expression of the glycoprotein in the synovial punctuate.

Material and methods

YKL-40 levels were measured by ELISA method in 14 patients with psoriatic arthritis aged 44,14 years and 40 healthy people with mean age 53,69 years. YKL-40 concentrations were determined by kit Quantikine (Cat. № 8210) according to manufacturer's instructions.

Immunocytochemical staining of YKL-40 in synovial punctuate was performed by the indirect immunoperoxidase method using a specific monoclonal antibody Cat. № AF2599, R&D Systems. The study was approved by the University Ethics Committee. Informed consent was achieved from all examined individuals according to the Helsinki Declaration.

Results

We revealed that the mean serum value of YKL-40 in healthy subjects was 84,19 ng/ml, while the mean serum concentration of YKL-40 in PsA patients was 128,06 ng/ml. The level of the glycoprotein in synovial fluid was 353,60 ng/ml and it was strongly elevated compared to the serum level ($P < 0.01$).

The immunocytochemical analysis showed the presence of YKL-40 antigen in the cytoplasm of polymorphonuclear leukocytes. A strong diffuse staining was recorded.

Conclusion

In conclusion, our study is the first to demonstrate significantly elevated YKL-40 levels in serum and synovial fluid of patients with psoriatic arthritis compared to healthy controls. The localization of YKL-40 in polymorphonuclear cells of synovial punctuate supposes that it might be implicated in the inflammatory process and could be regarded as a potential marker for disease activity.

Key words: *YKL-40, psoriatic arthritis, polymorphonuclear cells*

Въведение

YKL-40 е гликопротеин с консервативна аминокиселинна последователност, притежаващ хепарин и хитин-свързващи мотиви (2). *In vitro*, YKL-40 се експресира и секретира от активирани макрофаги и неутрофили (5), увредени хондроцити и фибробластно-подобни синовиални клетки (3). Предполага се, че протеинът играе роля в остро и хронично възпаление (6).

Диференцирането на серонегативните спондилоартропатии в ранните стадии е труден диагностичен процес. Спондилоартропатиите споделят общи клинични черти, рентгеновите находки са често близки, което поставя на дневен ред търсенето на нови и специфични маркери. Данните за експресията и секрецията на YKL-40 при серонегативните спондилоартропатии са частични, а за псориатичен артрит липсват.

Цел и задачи

Целта на настоящото изследване е да се установи количеството на YKL-40 в серум и в синовиална течност при пациенти с псориатичен артрит в паралел с имуноцитохимичната му експресия в ставен пунктат.

Материал и методи

В проучването са включени 14 пациенти на възраст между 19-73 години (средна възраст 44,14 г.). Контролната група се състои от 40 здрави индивиди (24 жени и 16 мъже) на възраст между 18-87 години (средна възраст 53.69 г.). YKL-40 концентрацията в серума и синовиалната течност е определена чрез ELISA метод с кит Quidel Cat. № 8020. Абсорбцията е отчетена на ELISA SUNRISE READER.

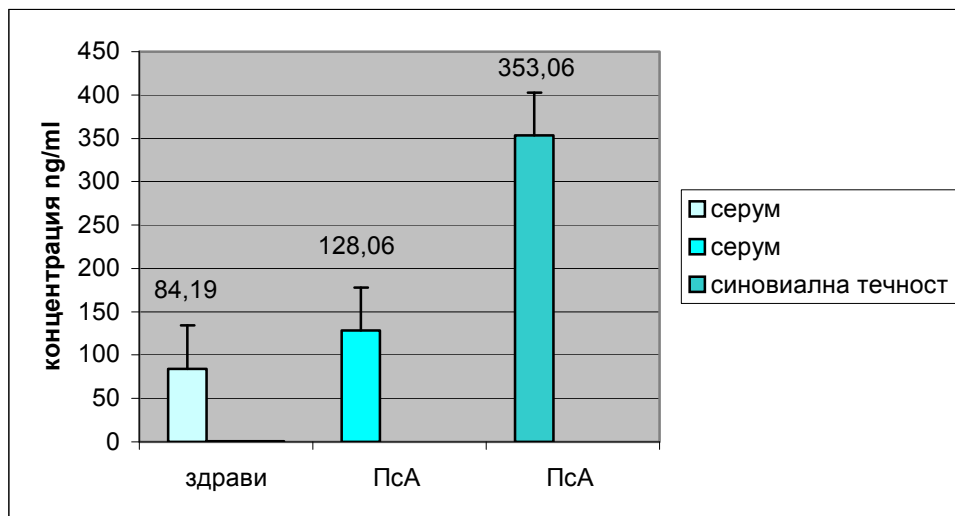
Върху клетъчни натривки от ставен пунктат на пациенти с псориатичен артрит е проведена имуноцитохимична детекция на YKL-40. Детекцията на гликопротеина е извършена със специфично моноклонално антитяло - Cat. № AF2599, R&D Systems.

Проучването е одобрено от Комисията по етика към Медицински Университет – Пловдив. Доброволното участие на лицата е удостоверено с подпис върху писмено информирано съгласие.

Резултати и обсъждане

Нашето проучване установи, че серумната концентрация на белтъка в прицелната група е значително по-висока в сравнение с контролната – 128,06 ng/ml v.s. 84.19 ng/ml (Фиг. 1.).

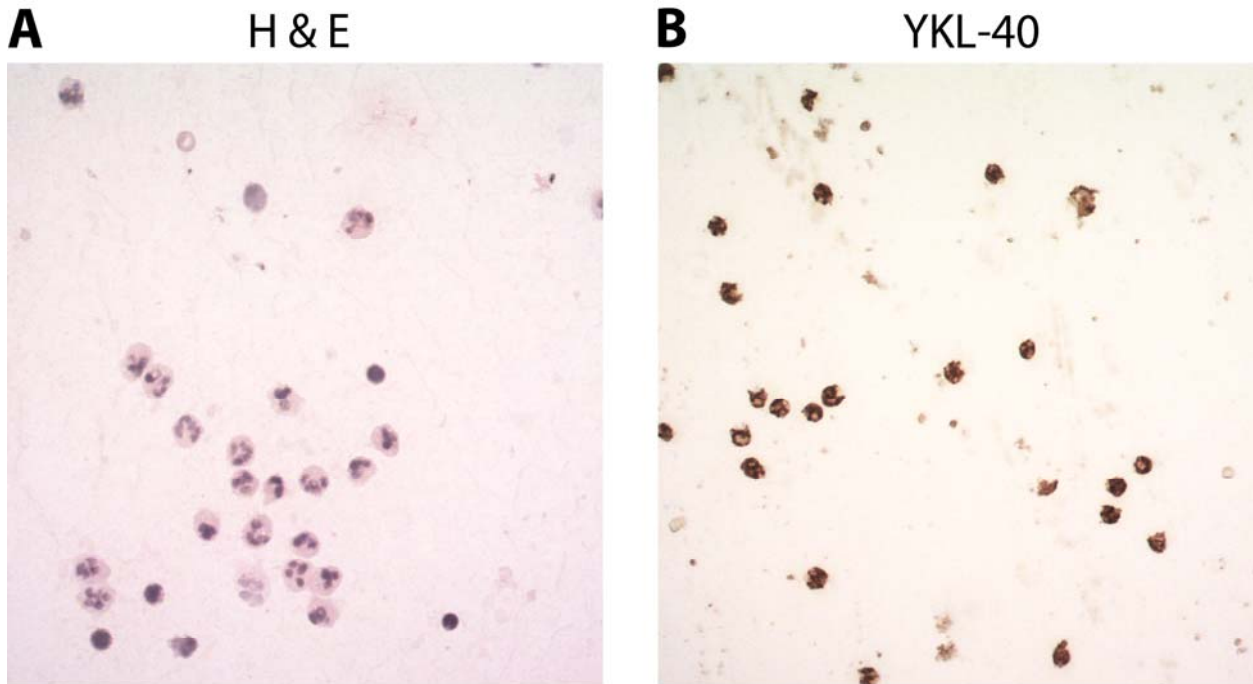
Нивото на YKL-40 в синовиалната течност при пациентите с псориатичен артрит е 353,60 ng/ml и нараства статистически значимо в сравнение с това в серума ($P > 0.01$).



Фиг. 1. YKL-40 концентрация (ng/ml) при здрави индивиди и пациенти с псориатичен артрит

До този момент са публикувани само две изследвания върху серумното ниво на гликопротеина при псориатичен артрит, в които се отчитат по-високи стойности на YKL-40 при пациентите в сравнение с контролната група (1, 4).

В нашето проучване, високата концентрация на белтъка в синовиалната течност се обяснява с протичащото възпаление и васкуларизация на синовиалната мембрана. Чрез имуноцитохимичната детекция се установи клетъчната локализация на YKL-40. (Фиг. 2). Отчете се дифузна интензивна експресия на гликопротеина в цитоплазмата на полиморфонуклеарните клетки от ставен пунктат на пациентите.



Фиг. 2. Полиморфонуклеарни клетки от ставен пунктат, изолиран от пациенти с псориатичен артрит. Биотин-стрептавидин пероксидазна реакция. Увеличение:х40

А. Оцветяване с хематоксилин – еозин;

В. Интензивна цитоплазмена експресия на YKL-40

Резултатите от имуноцитохимичното изследване обясняват локалната секреция на YKL-40 във възпалителното огнище.

Изводи

Нашето изследване за първи път разкрива сигнификантна корелация между стойностите на YKL-40 в серума и синовиалната течност при пациенти с псориатичен артрит. Значителната експресия на гликопротеина в полиморфонуклеарните клетки от ставен пунктат потвърждава ролята му във възпалителния процес и значението му като маркер за активността на заболяването.

Благодарност: Проучването е финансирано от Медицински Университет – Пловдив по проекти Н0-01/2009 и Н0-01/2010.

Литература:

1. Bernardi, D., M. Podswiadek, 2003. YKL-40 as a marker of joint involvement in inflammatory bowel disease, Clin Chem, 10, 1685-1688

2. Hakala, BE., C. White C, 1993. Human cartilage gp-39, a major secretory product of articular chondrocytes and synovial cells, is a mammalian member of a chitinase protein family, *J Biol Chem*, 268, 25803-25810
3. Johansen, JS. Studies on serum YKL-40 as a biomarker in diseases with inflammation, tissue remodelling, fibroses and cancer. *Dan Med Bull* 2006; 53:172-209
4. Pedersen, SJ., 2010. Circulating levels of interleukin-6, vascular endothelial growth, YKL-40, matrix metalloproteinase-3, and total aggrecan in spondyloarthritis patients during 3 years of treatment with TNF α inhibitors, *Clin Rheumatol*, 1301-1309, DOI: 10.1007/s10067-010-1528-x
5. Rehli, M., SW. Krause, 1997. Molecular characterization of the gene for human cartilage gp-39 (CHI3L1), a member of the chitinase protein family and marker for late stages of macrophage differentiation, *Genomics*, 43, 221-225
6. Roslind, A., JS. Johansen, 2009. YKL-40: A novel marker shared by chronic inflammation and oncogenic transformation, *Methods in Molecular Biology*, 511, 159-184