

УДК 616.8.-07:616-001:617.3

## **ОСОБЕННОСТИ СОСТОЯНИЯ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ У ПАЦИЕНТОВ С ОСТЕОАРТРОЗОМ, СОПРОВОЖДАЮЩИМСЯ ОСТЕОПЕНИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ, ПОСЛЕ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА**

**Гладкова Е.В., Карякина Е.В., Пучиньян Д.М., Бабушкина И.В., Мамонова И.А., Царева Е.Е., Белова С.В.**

*ФГБУ «Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Саратов, e-mail: gladckowa.katya@yandex.ru*

У пациентов с остеоартрозом (ОА), сопровождающимся остеопеническим синдромом, изучены показатели клеточного иммунитета и ремоделирования костной ткани в дооперационном периоде и через 3 месяца после эндопротезирования тазобедренного сустава. Выявлены признаки разобщения процессов ремоделирования костной ткани, что проявлялось усилением костной резорбции и угнетением костеобразования. Одновременно наблюдалось увеличение содержания провоспалительных цитокинов и уменьшение противовоспалительных на фоне снижения абсолютного количества Т-лимфоцитов периферической крови пациентов. Эти изменения сохранялись и через 3 месяца после операции. Использование лабораторно-инструментальных предикторов нарушений метаболизма костной ткани, показателей клеточного иммунитета и особенностей цитокинового профиля не позволяют в сроки до 3 месяцев после эндопротезирования крупных суставов осуществлять прогнозирование развития асептической нестабильности имплантата.

Ключевые слова: остеоартроз, остеопенический синдром, эндопротезирование, маркеры метаболизма костной ткани, про- и противовоспалительные цитокины, клеточный иммунитет.

## **THE FEATURES OF BONE TISSUE REMODELING IN OSTEOARTHRITIS PATIENTS WITH OSTEOPENIC SYNDROME AFTER HIP JOINT ENDOPROSTHESIS**

**Gladkova E.V., Karyakina E.V., Puchinyan D.M., Babushkina I.V., Mamonova I.A., Tsareva E.E., Belova S.V.**

*FSBI «Saratov Research Institute of Traumatology and Orthopedics» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saratov, e-mail: gladckowa.katya@yandex.ru*

The indexes of cellular immunity and bone tissue remodeling were studied presurgically and 3 months after hip joint endoprosthesis in osteoarthritis patients with osteopenic syndrome. The signs of bone tissue remodeling disintegration which were manifested in bone resorption intensification and osteogenesis oppression were revealed. At the same time there was proinflammatory cytokines content increase and anti-inflammatory cytokines decrease on the background of T-lymphocytes absolute number reduction in patients' peripheral blood. These changes kept up to 3 months postsurgically. The use of laboratory and instrumental predictors of bone tissue metabolic disorders, cellular immunity indexes and cytokine profile features do not allow forecasting aseptic instability of the implant within 3 months after large joints endoprosthesis.

Keywords: osteoarthritis, osteopenic syndrome, endoprosthesis, bone tissue metabolic markers, pro- and anti-inflammatory cytokines, cellular immunity.

Основной задачей эндопротезирования крупных суставов при их дегенеративно-дистрофических повреждениях является обеспечение стабильности имплантируемой конструкции. Причиной неблагоприятных результатов эндопротезирования может быть микрподвижность и нестабильность имплантата вследствие ятрогенных и физиологических особенностей функционирования эндопротеза в биомеханически неблагоприятных условиях, возникновения металлоза, воспалительных изменений окружающих тканей, развития отрицательного костного баланса. Стрессовое ремоделирование, являющееся результатом адаптационной мультифакторной реакции костной ткани на имплантат, во многом зависит от

состояния клеточных и гуморальных иммунорегуляторных механизмов [3]. Усиление костной резорбции и несостоятельность репарационных процессов нередко лежит в основе развития асептической нестабильности имплантируемой конструкции.

**Цель исследования:** изучить особенности ремоделирования костной ткани у пациентов с остеоартрозом, сопровождающимся остеопеническим синдромом, до и после эндопротезирования тазобедренного сустава.

#### **Материалы и методы исследования**

Под нашим наблюдением находились 49 пациентов (11 мужчин и 38 женщин) в возрасте  $65,2 \pm 3,7$  года с ОА крупных суставов III-IV ст. и длительностью заболевания не менее 6 лет, которые были подвергнуты комплексному клинико-инструментальному обследованию с углубленным изучением состояния костной ткани [1] в динамике (до эндопротезирования и спустя 3 месяца после его проведения). Из исследования исключали пациентов с сопутствующей патологией воспалительного характера, а также заболеваниями, оказывающими влияние на минеральный обмен. Контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц, сопоставимых по возрасту.

У пациентов оценивали минеральную плотность костной ткани (МПКТ) методом двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (DXA) с использованием рентгеновского денситометра «HologicDiscovery QDR» (США). Остеопенический синдром характеризовался величиной Т-критерия  $-1,1$  SD и ниже. Методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием спектрофотометра автоматического многофункционального ЕРОСН<sup>TM</sup> определяли содержание в сыворотке крови маркеров метаболизма костной ткани: С-концевых телопептидов коллагена I типа, составляющего свыше 90 % органического матрикса костной ткани (Serum Cross Laps фирмы «ELISA»), остеокальцина – основного неколлагенового белка, синтезируемого остеобластами и играющим ведущую роль в процессе минерализации костного матрикса путем связывания с гидроксипатитами и кальцием (N-MIDosteocalcin фирмы «NordicBioscienceDiagnosticsA/S»), а также костноспецифического изофермента щелочной фосфатазы (BAP). Тест-системы Остеокальцин и Cross Laps рекомендованы международным фондом изучения остеопороза как маркеры мониторинга антирезорбционной терапии, что позволяет использовать их в составе диагностической системы для оценки костного метаболизма [6].

Кроме того, были изучены некоторые показатели минерального обмена, широко используемые в лабораторной практике для оценки метаболизма костной ткани: содержание в сыворотке крови кальция общего, фосфора неорганического, а также концентрации щелочной фосфатазы фотометрическими методами с использованием биохимического

автоматического анализатора «Sapphire 400» и наборов LiquickCor-ALP, LiquickCor-Calcium, LiquickCor-Phosporus.

С целью оценки активности воспалительного процесса определяли содержание про-(ФНО- $\alpha$ , И-1 $\beta$ , И-6) и противовоспалительных цитокинов сыворотки крови (И-4 и И-10).

Методом лазерной проточной цитофлуориметрии на цитометре FACS Canto II (BD, США) с применением набора BDMultitest6-Color TBNKReagent (BD, США) было осуществлено определение субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с определением абсолютного числа Т-, В-лимфоцитов и NK-клеток (естественных киллеров), участвующих в координации иммунного ответа, в том числе за счет цитокиноопосредованных механизмов.

Основные гематологические показатели: WBC, LYM, RDC, BAS, EOS, MON (абсолютное и относительное содержание), HGB, MCV, MCH, VCHC, RDW, PLT, MPV, PDW, PCT, NEU, включая лазерную дифференцировку лейкоцитов на 5 субпопуляций, были изучены на автоматическом гематологическом анализаторе МЕКК 8222К.

Статистическую обработку полученного материала проводили с предварительным определением размера выборки на основании анализа мощности по O'Brien с использованием «UnifyPow» в «SAS macro». Затем проводили проверку вариационных рядов на нормальность распределения по Колмогорову – Смирнову. Оценку различия вариационных рядов проводили с использованием параметрического метода Стьюдента для независимых выборок с определением средней арифметической (M) и ошибки средней ( $\pm m$ ). Статистически достоверными различия считали при показателе вероятности  $p < 0,05$  («Medstat»).

### **Результаты и обсуждение**

Согласно результатам двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии и показателям биомаркеров метаболизма костной ткани, основную группу составил 31 пациент остеоартрозом, сопровождающимся остеопеническим синдромом. В группу сравнения вошли 18 больных без снижения индекса МПКТ.

При проведении общеклинического исследования клеточного состава периферической крови отмечены эозинофилия и моноцитоз у пациентов группы сравнения и основной групп. Более выраженные изменения отмечались у пациентов основной группы. У пациентов группы сравнения отмечалось снижение количества базофилов. Для больных ОА с остеопеническим синдромом был характерен тромбоцитоз.

Общеклинические показатели периферической крови у больных с ОА,  
сопровождающимся остеопеническим синдромом

| Показатель                 | Контрольная группа<br>n=20 | Группа сравнения<br>n=18      | Основная группа<br>n=31                 |
|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|---|
| WBC, [10 <sup>9</sup> /л]  | 5,0±0,5                    | 6,2±1,2                       | 4,4±0,9                                 |
| NE, [%]                    | 71,3±8,4                   | 62,1±7,3                      | 56,4±6,2                                |
| LY, [%]                    | 32,6±5,5                   | 40,0±6,7                      | 29,6±1,4                                |
| MO, [%]                    | 1,2±0,04                   | 6,6±0,85 <sup>*** (1/2)</sup> | 8,2±0,9 <sup>*** (1/3)</sup>            |
| EO, [%]                    | 0,4±0,02                   | 0,5±0,03 <sup>** (1/2)</sup>  | 6,3±0,41 <sup>*** (1/3), ** (2/3)</sup> |
| BA, [%]                    | 1,3±0,04                   | 0,2±0,01 <sup>*** (1/2)</sup> | 1,1±0,09 <sup>* (1/3), *** (2/3)</sup>  |
| RBC, [10 <sup>12</sup> /л] | 4,7±0,22                   | 4,6±0,69                      | 4,22±0,71                               |
| HGB, [g/л]                 | 141,2±4,7                  | 118,1±6,2                     | 122,6±4,32 <sup>** (1/3)</sup>          |
| HCT, [%]                   | 52,1±7,9                   | 41,2±4,5                      | 37,1±2,28                               |
| MCV, [fL]                  | 92,16±9,31                 | 94,6±10,3                     | 87,9±9,65                               |
| MCH, [Pg]                  | 34,1±0,6                   | 30,4±4,6                      | 28,9±3,4                                |
| MCHC [g/L]                 | 361±10,3                   | 91,6±5,2 <sup>** (1/2)</sup>  | 329±10,11 <sup>* (1/3), ** (2/3)</sup>  |
| PLT [10 <sup>9</sup> /L]   | 265,0±9,4                  | 265±10,1                      | 300±8,6 <sup>*** (1/3)</sup>            |
| PCT [%]                    | 0,73±0,07                  | 0,71±0,06                     | 0,20±0,08 <sup>*** (1/3)</sup>          |
| MPV [fL]                   | 8,2±0,71                   | 7,3±0,9                       | 6,7±0,92                                |
| PDW [%]                    | 17,2±3,4                   | 16,3±2,1                      | 16,6±2,2                                |

Примечание: \* – p<0,05; \*\* – p<0,01; \*\*\* – p<0,001; (1/2) – разница между данными здоровых лиц и пациентов группы сравнения; (1–3) – разница между данными здоровых лиц и пациентов основной группы; (2–3) – разница между данными пациентов основной группы и группы сравнения.

При исследовании субпопуляционного состава периферической крови отмечали, что общее количество Т-лимфоцитов (CD3+) оказалось выше (p<0,05) у пациентов группы сравнения – 1836,93±32,82 клеток/мкл, как по отношению к данным контрольной группы – 1264,82±76,24 клеток/мкл, так и основной – 1178,60±45,17 клеток/мкл. Вместе с тем у пациентов основной группы наблюдалось снижение содержания Т-лимфоцитов за счет популяции Т-супрессоров (CD3+CD8+) (p<0,001)– 274,22±31,17 клеток/мкл (в контрольной группе – 683,60±20,64 клеток/мкл) и увеличение популяции Т-хелперов (CD3+CD4+) (p<0,001)– 832,14±10,12 клеток/мкл (в контрольной группе – 984,54±7,01 клеток/мкл). В группе сравнения содержание Т-супрессоров также было ниже контрольных значений (p<0,001) и составило в среднем – 394,79±41,28 клеток/мкл, в то время как количество Т-

хелперов ( $855,55 \pm 61,64$  клеток/мкл) существенно не отличалось от соответствующего показателя в контрольной группе.

Натуральные киллеры (CD16+CD56+), как в группе сравнения ( $273,05 \pm 34,85$  клеток/мкл), так и в основной группе ( $192,66 \pm 19,82$  клеток/мкл) не отличались от данных, полученных при обследовании практически здоровых лиц ( $234,01 \pm 24,5$  клеток/мкл). Достоверная разница по этому показателю установлена между числом натуральных киллеров у больных группы сравнения и основной группы ( $p < 0,05$ ). Число В-лимфоцитов (CD19+) в основной группе составило  $149,85 \pm 17,31$  клеток/мкл, что значительно отличалось от соответствующих показателей больных группы сравнения  $222,81 \pm 29,01$  клеток/мкл и здоровых лиц –  $325,63 \pm 3,06$  клеток/мкл (соответственно  $p < 0,05$ ;  $p < 0,001$ ).

В основной группе констатировали повышенное содержание по сравнению с группой контроля провоспалительных цитокинов: ФНО- $\alpha$  –  $4,4 \pm 0,5$  пг/мл и  $3,0 \pm 0,2$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), ИЛ-1 $\beta$  –  $6,8 \pm 0,5$  пг/мл и  $4,9 \pm 0,4$  пг/мл ( $p < 0,01$ ), ИЛ-6 –  $5,8 \pm 0,6$  пг/мл и  $2,7 \pm 0,3$  пг/мл ( $p < 0,001$ ). В то же время отмечалось уменьшение концентрации противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в основной группе по сравнению с контрольными значениями ( $p < 0,05$ ) и показателями в группе сравнения ( $p < 0,05$ ), при отсутствии сдвигов в содержании ИЛ-4 в исследуемых группах (соответственно). Относительно биологической роли ИЛ-10 в процессах ремоделирования костной ткани до настоящего времени нет единого мнения: с одной стороны, часть исследователей рассматривает его как сывороточный цитокин, подавляющий остеогенез [5], с другой стороны, несомненно, его участие в регуляторных процессах, направленных на снижение активности иммунного воспалительного ответа, что способствует нормализации метаболических реакций на границе биотической и абиотической сред (кость/имплантат). Именно данному цитокину отводится немаловажная роль в обеспечении гуморального иммунного ответа при активации Т-хелперов 2 типа [7].

Спустя 3 месяца после эндопротезирования у ряда пациентов опытной группы отмечалась тенденция к увеличению активности костного изофермента щелочной фосфатазы, повышение содержания N-mid остеокальцина и снижение содержания фрагментов коллагена 1-го типа в сыворотке крови, что свидетельствует об активизации костеобразования, но статистически значимых различий достигнуто не было. Так же, как и дооперационный период, спустя 3 месяца после эндопротезирования у пациентов основной группы наблюдалось снижение абсолютного содержания Т-лимфоцитов. В то же время у больных основной группы сохранялся сниженный уровень противовоспалительного ИЛ-10, что свидетельствовало, по нашему мнению, либо о наличии признаков функциональной недостаточности иммунокомпетентных клеток, либо о снижении их количества. Одновременно в этой группе отмечалась нормализация количественного состава В-

лимфоцитов. Возникшие изменения, по нашему мнению, возможно, связаны с удалением очага хронического воспаления и деструкции тканей.

При изучении некоторых показателей минерального обмена (содержание общего кальция, фосфора неорганического) и щелочной фосфатазы в сыворотке крови до и через 3 месяца после эндопротезирования статистически достоверных различий между показателями всех трех групп выявлено не было, что не позволяет использовать данный комплекс исследований для констатации наличия и оценки степени выраженности остеопенического синдрома.

Процесс костеобразования и его сбалансированность во многом зависит от регуляции ремоделирования посредством локальных и системных факторов, влияющих и на процесс адаптивной перестройки после эндопротезирования сустава. На состояние остеосинтетического потенциала оказывают влияние материал имплантата и фрагменты его износа, то есть источники абиотических воздействий в зоне установки эндопротеза [2]. Как показали результаты нашего исследования, на итоговое состояние ремоделирования костной ткани после эндопротезирования оказывает существенное влияние не столько материал эндопротеза, сколько факторы биотического происхождения, а именно исходное состояние метаболизма костной ткани, состояние гуморального и клеточного звена иммунной системы.

Следует отметить, что, если у пациентов основной группы и группы сравнения в дооперационном периоде наблюдались структурные нарушения со стороны тканей пораженных суставов, то у больных основной группы эти изменения носили системный характер, который проявлялся снижением МПКТ и признаками нарушения ремоделирования костной ткани, подтверждаемыми изменениями содержания биомаркеров метаболизма костной ткани в биологических средах организма [4].

### **Заключение**

Полученные данные свидетельствуют о наличии признаков несбалансированности процессов ремоделирования костной ткани у пациентов с ОА, сопровождающимся остеопеническим синдромом, и сохранении определенной напряженности иммунопатологических реакций, спустя 3 месяца после эндопротезирования тазобедренного сустава, что не позволяет выявить признаки асептической нестабильности по данным лабораторно-инструментальных исследований в указанные сроки. Для получения объективных данных о состоянии костного метаболизма при эндопротезировании крупных суставов целесообразно проведение комплексного обследования пациентов в более поздние сроки.

## Список литературы

1. Гладкова Е.В., Федонников А.С., Царева Е.Е. Система лабораторно-инструментальной оценки состояния метаболизма костной ткани // *Фундаментальные исследования*. – 2015. – №5. – С.11-13.
2. Загородний Н.В., Ломтатидзе Е.Ш., Сергеев С.В., Карпович Н.И. Учеб. пособие. – М.: РУДН, 2008. – 65 с.
3. Карякина Е.В., Норкин И.А., Гладкова Е.В. [и др.]. // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. – 2014. – Т. 100. – № 2. – С. 238-247.
4. Карякина Е.В., Персова Е.А., Гладкова Е.В. Возможность использования лабораторных предикторов в оценке развития асептической нестабильности при тотальном эндопротезировании тазобедренного сустава // *Саратовский научно-медицинский журнал*. – 2011. – Т. 7, № 2. – С. 437-441.
5. Чепелева М.В., Чегуров О.К., Кузнецова Е.И., Швед Н.С. // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2014. – Вып. 8, Т.59. – С 18-21.
6. IrajNabipour. Reference Database of CrossLaps and Osteocalcin for a Healthy Iranian Population/ NabipourIraj , LarijaniBagher, JafariSeyed-Mojtaba, Mohammad Amiri, Zahra Amiri. – *Arch Iranian Med*. – 2008. – 11 (2). – P. 203–206.
7. Facciotti F., Penatti A.E., Zeni S. [et al]. / Pathogenic Role of IL-10 Producing Helper T Cells in Systemic Lupus Erythematosus // *Ann Rheum Dis* 2014; 73:146 doi:10.1136/annrheumdis-2014-eular.5485.