

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ ПРИ ПЕРИПРОТЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ ПОСЛЕ ТОТАЛЬНОГО ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ КРУПНЫХ СУСТАВОВ

Юлия Юрьевна Чуксина*, Оксана Владимировна Москалец,
Виктор Владимирович Яздовский, Анатолий Васильевич Ерёмин,
Сергей Александрович Ошукков

Московский областной научно-исследовательский клинический институт
им. М.Ф. Владимирского, г. Москва, Россия

Поступила 04.03.2016; принята в печать 29.03.2016.

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2016-514

Цель. Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов и моноцитов периферической крови и оценка синтеза сывороточных аутоантител у пациентов с перипротезной инфекцией после эндопротезирования крупных суставов.

Методы. В исследование включены 40 пациентов с инфекционно-воспалительными осложнениями, разбившимися в разные сроки после эндопротезирования коленного или тазобедренного сустава. Все пациенты были разделены на три группы в соответствии с классификацией Coventry–Fitzgerald–Tsukayama. Оценивали количество клеток, экспрессирующих антигены CD3, CD4, CD8, CD19, CD14, CD16 и CD56, экспрессию активационных маркеров HLA-DR, CD25 на лимфоцитах и моноцитах, количество клеток периферической крови CD4⁺CD45RA⁺, CD4⁺CDRO⁺, а также уровень сывороточных антител к двуспиральной дезоксирибонуклеиновой кислоте (ДНК) и антинейтрофильных антител.

Результаты. Установлено, что при остром развитии инфекционно-воспалительного процесса в периферической крови происходит достоверное увеличение количества и функциональной активности Т-клеток. Для длительного вялотекущего инфекционно-воспалительного процесса характерно достоверное повышение количества В-клеток и Т-клеток памяти, снижение количества наивных Т-клеток. Уровень экспрессии HLA-DR на моноцитах и количество В-лимфоцитов коррелируют с тяжестью воспаления. У 7 больных в сыворотке крови были выявлены повышенные уровни антител к двуспиральной ДНК, у 6 — антинейтрофильные антитела.

Вывод. Оценку субпопуляций лимфоцитов и экспрессии HLA-DR на моноцитах можно использовать в качестве дополнительного лабораторного критерия для диагностики инфекционно-воспалительных процессов после эндопротезирования крупных суставов; роль аутоантител к двуспиральной ДНК и антинейтрофильных антител, которые были обнаружены у части больных, пока остаётся неясной.

Ключевые слова: эндопротезирование, перипротезная инфекция, иммунитет, проточная цитометрия, аутоантитела.

CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL PARALLELS IN PERIPROSTHETIC INFECTION AFTER TOTAL LARGE JOINTS ARTHROPLASTY

Ju.Ju. Chuksina, O.V. Moscaletec, V.V. Jazdovskij, A.V. Eremin, S.A. Oshukov

Moscow Regional Scientific and Research Clinical Institute named after M.F. Vladimirskiy, Moscow, Russia

Aim. To study peripheral blood lymphocytes and monocytes subpopulations and evaluate synthesis of serum autoantibodies in patients with periprosthetic infection after large joints arthroplasty.

Methods. The study included 40 patients with infectious and inflammatory complications that developed at different times after knee or hip arthroplasty. All patients were divided into three groups according to the Coventry–Fitzgerald–Tsukayama classification. The number of cells expressing the CD3, CD4, CD8, CD19, CD14, CD16 and CD56 antigens, the expression of the activation markers HLA-DR, CD25 on lymphocytes and monocytes, the number of peripheral blood CD4⁺CD45RA⁺, CD4⁺CDRO⁺ cells, and the level of serum antibodies to double-stranded deoxyribonucleic acid (DNA) and anti-neutrophil antibodies were evaluated.

Results. It is found that in acute development of infectious and inflammatory process in peripheral blood a significant increase in the number and functional activity of T-cells occur. For long-term low-grade infectious and inflammation process significant increase in the number of B-cells and memory T-cells, decrease in the number of naive T-cells are characteristic. Monocyte HLA-DR expression and the amount of B-lymphocytes correlate with the severity of inflammation. In seven patients elevated levels of antibodies to double-stranded DNA, in six — antineutrophil antibodies were revealed in blood serum.

Conclusion. The assessment of lymphocytes subpopulations and the monocyte HLA-DR expression can be used as additional laboratory criteria for the diagnosis of infectious and inflammatory processes after large joints arthroplasty; the role of autoantibodies to double stranded DNA and anti-neutrophil antibodies, which were found in some patients, remains unclear.

Keywords: arthroplasty, periprosthetic infection, immunity, flow cytometry, autoantibodies.

Тотальное эндопротезирование служит надёжной и успешной операцией, позволяющей купировать болевой синдром и восстановить функции суставов у больных с тяжёлыми проявлениями артроза. Однако,

несмотря на достигнутый прогресс и накопленный опыт, прогноз лечения ухудшает частое и разрушительное осложнение — перипротезное инфицирование, встречающееся от 1,0 до 8,5% случаев [7]. Диагностика этого осложнения представляет достаточно сложную проблему.

Развитие инфицирования в большой степени зависит от продолжительности первичной операции замещения сустава. Вместе с тем, риск возникновения послеоперационных гнойных осложнений повышается после ревизионной артропластики, а также в случаях местного послеоперационного воспаления. При нагноении в области эндопротезов тазобедренного сустава преобладает экзогенная инфекция, в более редких случаях встречается гематогенная инфекция [2].

Катастрофические последствия глубокой суставной инфекции — глобальная проблема ортопедического сообщества. Известно, что медленное прогрессирование хронической инфекции часто характеризуется отсутствием явных признаков воспаления, а продолжающаяся функциональная нагрузка на эндопротез приводит к дестабилизации его компонентов, что требует проведения повторных операций для удаления имплантатов [5]. Кроме того, вялотекущая инфекция нередко сопровождается развитием вторичной иммунной недостаточности, которая может негативно повлиять на результаты последующего хирургического вмешательства. В связи с этим большое значение имеет не только хирургическая санация очага воспаления, но и своевременное выявление и коррекция сопутствующих иммунологических нарушений [3].

Малоизученным механизмом развития хронического воспаления в отдалённом периоде остаются аутоиммунные реакции. Многочисленные экспериментальные модели и клинические исследования убедительно демонстрируют, что различные микробные агенты способны индуцировать развитие аутоиммунной патологии [8]. В свою очередь наличие аутоиммунного компонента может быть одной из причин перехода заболевания в хроническую форму и влиять на исходы лечения [1, 7].

Цель данного исследования заключалась в изучении особенностей фенотипа лимфоцитов и моноцитов периферической крови (ПК) при развитии перипротезной инфекции крупных суставов в зависимости от стадии патологического процесса, а также выявлении аутоиммунного компонента и оценке его роли в развитии патологического процесса.

Обследованы 40 пациентов с глубоким перипротезным инфицированием тазобедренного и коленного суставов после тотального замещения при различных стадиях

перипротезной инфекции в соответствии с классификацией Coventry–Fitzgerald–Tsukayama.

– 1-я стадия перипротезной инфекции характеризовалась острым течением с развитием воспаления в течение 1 мес после оперативного вмешательства.

– 2-я стадия отличалась вялотекущим воспалением с развитием глубокого инфицирования суставов в сроки от 1 мес до 1 года после тотального замещения.

– 3-я стадия сопровождалась хронической рецидивирующей суставной инфекцией в области эндопротезов крупных суставов (в течение нескольких лет), дестабилизацией компонентов эндопротеза и формированием свищевых ходов на фоне длительной антибиотикотерапии с временным положительным эффектом.

Отдельно была обследована группа из 10 пациентов с нестабильностью эндопротезов и наличием асептического воспаления без признаков нагноения.

Пациентам с появлением признаков воспаления в раннем послеоперационном периоде (1-я стадия) проводили хирургическую санацию с сохранением эндопротеза. При 2-й стадии перипротезной инфекции выполняли двухэтапную ревизию с установкой цементного спейсера, импрегнированного антибиотиками. В большинстве случаев хронического рецидивирующего воспалительного процесса была произведена резекционная артропластика (операция Гирдлестоуна).

Исследование фенотипических особенностей лимфоцитов и моноцитов ПК было проведено методом 4-цветной проточной цитометрии (FACSCalibur, Becton Dickinson, США). Оценивали экспрессию антигенов CD3, CD4, CD8, CD19, CD14, CD16, CD56, HLA-DR и CD25, а также определяли содержание наивных (CD4⁺CD45RA⁺) и Т-клеток памяти (CD4⁺CD45RO⁺), Т-регуляторных лимфоцитов (CD25^{hi}/CD127⁻) в пределах CD3-позитивных лимфоцитов в зависимости от стадии воспалительного процесса. Оценку интенсивности экспрессии антигенов проводили по параметру средней интенсивности флюоресценции (MFI — от англ. Mean Fluorescence Intensity).

Антитела к двуспиральной дезоксирибонуклеиновой кислоте (ДНК) и антинейтрофильные антитела (ANCA — от англ. Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies) в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа с помощью тест-систем

Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови у пациентов при перипротезном инфицировании

Показатель	Стадия 1, n=6	Стадия 2, n=15	Стадия 3, n=19	Практически здоровые лица, n=30
CD3 ⁺ , %	81,1±1,6*	73,7±2,6	76,1±1,8	73,9±1,5
CD3 ⁺ CD4 ⁺ , %	50,0±2,7	55,9±4,2*	48,1±1,7	45,9±1,4
CD3 ⁺ CD8 ⁺ , %	33,0±3,1	19,0±3,0*	27,8±1,9	30,3±1,6
Индекс соотношения CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,5±1,1	2,9±0,9	1,7±2,0	1,6±0,1
CD19 ⁺ , %	9,0±1,5	9,4±1,4	14,8±0,9*	10,2±0,7
CD3 ⁺ CD16 ⁺ 56 ⁺ , %	8,3±0,9*	12,6±2,0	10,8±1,4	15,4±1,2
CD3 ⁺ CD16 ⁺ 56 ⁺ , %	5,4±1,0	3,6±1,1	6,8±0,9	5,0±1,2
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	11,4±2,8*	7,5±1,8	9,1±1,0	6,3±0,7
CD4 ⁺ /CD25 ⁺ hi/CD127 ⁻ , %	5,5±1,4	2,8±0,6	6,1±0,8	3,7±2,1

Примечание: *статистически значимые различия по сравнению с практически здоровыми лицами ($p < 0,05$).

фирмы «Orgentec» (Германия) на иммуноферментном анализаторе PC Lab (Adaltis, Италия). В качестве контрольной группы были исследованы 30 практически здоровых человек по аналогичным показателям.

Все больные получали антибактериальную терапию с учётом чувствительности выделенной микрофлоры, кроме того, 17 пациентов дополнительно получали иммуномодулирующую терапию аминоксидингидрофалазиндиомом натрия (галавитом) — 15 инъекций по стандартной схеме.

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием статистической программы Statistica 8.0 с расчётом среднего значения и квадратичной ошибки средней ($M \pm m$). Статистическую значимость различий оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

Данные по оценке субпопуляционного состава лимфоцитов ПК в зависимости от стадии приведены в табл. 1.

Существенное увеличение ($p < 0,001$) содержания популяции Т-клеток (CD3⁺), в том числе активированных Т-лимфоцитов (CD3⁺HLA-DR⁺; $p < 0,05$), достоверное снижение ($p < 0,001$) уровня популяции натуральных киллерных лимфоцитов (NK — CD3⁻CD16⁺CD56⁺) по сравнению с нормальными показателями было выявлено у пациентов с 1-й стадией перипротезного инфицирования.

У пациентов во 2-й стадии выявлен максимально высокий уровень Т-хелперной (CD3⁺/CD4⁺) и низкий уровень Т-цитотоксической (CD3⁺/CD8⁺) субпопуляций лимфоцитов ($p < 0,05$ и $p < 0,001$ соответственно), а также высокий индекс соотношения CD4⁺/CD8⁺ по сравнению с нормальными значениями. При 3-й стадии перипротезного инфицирования было выявлено достоверное ($p < 0,0001$) уве-

личение количества В-лимфоцитов как по сравнению с нормой, так и в сравнении с 1-й и 2-й стадиями.

Содержание минорной субпопуляции NK Т-лимфоцитов (CD3⁺CD16⁺CD56⁺), Т-регуляторных лимфоцитов (CD4⁺CD25⁺hi/CD127⁻) существенно не отличалось от аналогичных показателей практически здоровых лиц, хотя тенденция к увеличению числа Т-регуляторных лимфоцитов зарегистрирована у пациентов с 3-й стадией вялотекущего воспаления.

Были сопоставлены параметры субпопуляционного состава и особенности экспрессии активационных маркёров лимфоцитов и моноцитов ПК у пациентов с развившимся асептическим воспалением и нестабильностью эндопротезов в сравнении с группой пациентов с наличием глубоких нагноительных процессов после протезирования. Данные представлены в табл. 2.

Выявлено достоверное увеличение ($p < 0,01$) содержания Т-хелперной субпопуляции и существенное снижение ($p < 0,005$) содержания NK-лимфоцитов (CD3⁻CD16⁺CD56⁺) у больных с глубокими нагноительными процессами по сравнению с контрольной группой. Отмечено существенное ($p < 0,005$) увеличение содержания популяции В-лимфоцитов при глубоком нагноении по сравнению с асептическим воспалением, для которого также характерным оказалось и более выраженное ($p < 0,001$) увеличение количества активированных Т-лимфоцитов (CD3⁺HLA-DR⁺).

Доля наивных Т-клеток с фенотипом CD4⁺CD45RA⁺CD45RO⁻ была снижена в большей степени при глубоком инфицировании крупных суставов, чем при асептическом воспалении, хотя в обеих группах данные

Показатели субпопуляционного состава и экспрессии активационных антигенов лимфоцитов и моноцитов периферической крови при асептическом воспалении и глубоких нагноительных процессах

Показатель	Асептические воспалительные изменения, нестабильность эндопротезов, n=10	Глубокие нагноительные процессы в области эндопротезов, 1–3-я стадии, n=40	Практически здоровые лица, n=30
CD3 ⁺ , %	69,4±4,6	76,0±1,3	73,9±1,5
CD3 ⁺ CD4 ⁺ , %	48,0±3,4	51,3±1,8*	45,9±1,4
CD3 ⁺ CD8 ⁺ , %	21,4±2,9*	25,3±1,5*	30,3±1,6
CD19 ⁺ , %	6,8±1,3	13,6±3,2**	10,2±0,7
CD3 ⁺ CD16 ⁺ 56 ⁺ , %	16,8±4,3	9,3±1,6*	15,4±1,2
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	12,2±1,4*	9,3±2,4	6,3±0,7
CD4 ⁺ /45RO ⁺ 45RA ⁻ , %	45,3±4,2	40,8±6,7	15,0±10,2
CD4 ⁺ /45RA ⁺ 45RO ⁻ , %	13,2±1,9	6,8±5,2	30,0±9,8
Моноциты CD14 ⁺ HLA-DR ⁺ , %	91,2±2,6	80,6±2,7*	89,0±1,0
MFI HLA-DR ⁺ /CD14 ⁺ , у.е.	190,7±16,8	58,0±3,3**	185,7±10,2

Примечание: *статистически значимые различия с показателями практически здоровых лиц ($p < 0,05$); **статистически значимые различия с показателями группы сравнения (группа с асептическими воспалительными изменениями, нестабильностью эндопротезов; $p < 0,05$); MFI — средняя интенсивность флюоресценции (от англ. Mean Fluorescence Intensity).

показатели были значительно ниже нормальных значений. Количество покоящихся Т-клеток памяти (CD4⁺CD45RA⁻CD45RO⁺), наоборот, было значительно повышено в обеих сравниваемых группах ($p < 0,05$).

Достаточно часто нарушение функциональной активности моноцитов выявляется в критических состояниях, при септическом шоке, в послеоперационном периоде. Моноциты у здоровых людей экспрессируют на своей поверхности молекулы главного комплекса гистосовместимости класса II HLA-DR с высокой плотностью и легко определяются методом проточной цитометрии. Моноциты с уменьшенной или отсутствующей экспрессией молекул HLA-DR не способны выполнять антиген-презентирующую функцию и не могут синтезировать воспалительные медиаторы в ответ на экзогенные или эндогенные стимулы.

В группе пациентов с наличием глубокого нагноения области эндопротезов по сравнению с пациентами с асептическим воспалением обнаружено не только достоверное ($p < 0,05$) снижение числа моноцитов (CD14⁺), экспрессирующих HLA-DR-антиген, но и более выраженное ($p < 0,001$) снижение интенсивности экспрессии данного показателя по параметру MFI.

У 7 больных отмечалось существенное повышение уровня антител к двуспиральной дезоксирибонуклеиновой кислоте (ДНК; более 50 ЕД/мл), у 6 был повышен уровень ANCA.

Послеоперационный период протекал

без особенностей. Мониторинг показателей иммунограммы выявил, что их нормализация или положительная динамика произошла у всех пациентов, получавших галавит, и лишь у 8 из 23 больных, получавших только стандартную терапию. У пациентов с исходно повышенным уровнем аутоантител существенного снижения этого показателя не произошло, что обусловлено коротким сроком между двумя исследованиями.

Таким образом, при 1-й стадии раннего перипротезного инфицирования, развившегося в течение 1 мес после операции, отмечена стимуляция Т-клеточного звена иммунитета, что выражалось в увеличении количества Т-лимфоцитов, в том числе и активированных Т-лимфоцитов. Снижение содержания НК в ПК может свидетельствовать о перераспределении этой популяции в очаги поражения.

С другой стороны, в группах пациентов с более длительным воспалительным процессом в области эндопротезов обнаружено значимое увеличение содержания Т-хелперных и снижение числа Т-цитотоксических лимфоцитов, а также увеличение НК-лимфоцитов. В 3-й стадии перипротезной инфекции отмечено нарастание в ПК уровня В-лимфоцитов, являющихся основными клетками-антителопродуцентами, а также тенденция к увеличению количества Т-регуляторных лимфоцитов.

Преобладание в ПК доли Т-хелперных

лимфоцитов памяти над наивными Т-клетками, особенно при хронической суставной инфекции с вялотекущим рецидивирующим течением свыше 1 года, может служить диагностическим признаком быстрого и усиленного иммунного ответа на специфический антиген.

Выраженное снижение количества моноцитов, экспрессирующих HLA-DR-антиген, а также снижение плотности его экспрессии на поверхности моноцитов и Т-лимфоцитов ПК может свидетельствовать о низкой функциональной активности клеток иммунной системы, в частности процессов презентации антигена и регуляции межклеточных взаимодействий.

Изученные иммунологические показатели могут быть использованы в качестве дополнительных маркеров при диагностике перипротезного инфицирования крупных суставов.

У части больных выявляются аутоантитела к ДНК и ANCA, однако оценить их патогенетическое значение пока не представляется возможным.

ВЫВОДЫ

1. Оценку субпопуляций лимфоцитов и экспрессии HLA-DR на моноцитах можно использовать в качестве дополнительного лабораторного критерия для диагностики инфекционно-воспалительных процессов после эндопротезирования крупных суставов.

2. Роль аутоантител к двуспиральной

дезоксирибонуклеиновой кислоте и антинейтрофильных антител, которые были обнаружены у части больных, пока остаётся неясной.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ковалькова Д.А., Ченцова О.Б., Москалец О.В., Русанова Е.В. Иммуно-микробиологические аспекты экссудативных иридоциклитов и эндофтальмитов при артрафии. *РМЖ. Клин. офтальмол.* 2008; 9 (1): 13–15. [Kovalkova D.A., Chentsova O.B., Moskalets O.V., Rusanova E.V. Immune and microbiologic aspects of exudative iridocyclitis and endophthalmitis in pseudophakia. *RMZh. Klinicheskaya oftal'mologiya.* 2008; 9 (1): 13–15. (In Russ.)]
2. Николаенко В.К., Буряченко Б.П., Давыдов Д.В. Особенности ревизионного эндопротезирования тазобедренного сустава по поводу инфекционных осложнений. *Инфекции в хир.* 2008; (4): 50–55. [Nikolaenko V.K., Buryachenko B.P., Davydov D.V. Features of revision hip replacement for infectious complications. *Infektsii v khirurgii.* 2008; (4): 50–55. (In Russ.)]
3. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Современные иммуномодуляторы: основные принципы их применения. *Иммунология.* 2000; (5): 4–7. [Khaitov R.M., Pinegin B.V. Modern immunomodulators: the basic principles of their application. *Immunologiya.* 2000; (5): 4–7. (In Russ.)]
4. Fairweather De L., Kaya Z., Schellam J.R. et al. From infection to immunity. *J. Autoimmunity.* 2001; 16: 105–110.
5. Guilieri S.G., Graber P., Ochsner P.E., Zimmerli W. Management of infection associated with total hip arthroplasty according to a treatment algorithm. *Infection.* 2004; 32 (4): 222–228.
6. Hanssen A.D., Spangehl M.J. Treatment of the infected hip replacement. *Clin. Orthop.* 2004; 420 (1): 63–71.
7. Lentino J.R. Prosthetic joint infections: bane of orthopedists, challenge for infectious disease specialists. *Clin. Infect. Dis.* 2003; 36 (9): 1157–1161.
8. Wucherpfenning K.W. Mechanisms for the induction of autoimmunity by infectious agents. *J. Clin. Invest.* 2001; 108 (8): 1097–1104.

УДК 616.72-007.248-073.75: 611.018.4

ТЕКСТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СУБХОНДРАЛЬНОЙ КОСТИ ПРИ ОСТЕОАРТРОЗЕ

Максим Александрович Кабалык*

Тихоокеанский государственный медицинский университет, г. Владивосток, Россия

Поступила 10.03.2016; принята в печать 22.03.2016.

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2016-518

Цель. Оценить взаимосвязь текстурных характеристик субхондральной кости с данными стандартной рентгенографии, определить маркёры ремоделирования субхондральной кости при гонартрозе.

Методы. В исследуемую группу включены 92 пациента в возрасте 66,1±10,5 года с остеоартрозом коленных суставов I–IV стадий по Kellgren, в группу сравнения — 24 добровольца в возрасте 29,6±5,96 года без клинических и рентгенологических признаков гонартроза. Выполняли стандартную цифровую рентгенографию коленных суставов. На изображении выбирали область интереса, включавшую участок субхондральной кости размером 48±2×90±4 пиксела. По текстуре участка строили гистограмму полутоновых значений и 3D график распределения интенсивности пикселей по площади.

Результаты. Распределение значений отдельных пикселей относительно среднего полутонового значения показало обратную корреляционную связь со стадией заболевания ($r=-0,52$, $p=0,00004$) и наличием больших остеофитов ($r=-0,40$, $p=0,002$). Экстремум минимального значения 3D гистограммы прямо коррелировал с рентгенологической стадией гонартроза ($r=0,42$, $p=0,0009$), возрастом пациентов ($r=0,33$, $p=0,01$) и количеством остеофитов ($r=0,43$, $p=0,0007$). Этот показатель был выше в группе пациентов с остеоартрозом ($p=0,009$) и ста-