

©Бердюгина, Бердюгин

ИЗМЕНЕНИЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ, ОТРАЖАЮЩИХ КЛЕТОЧНЫЙ И ПРОТЕИНОВЫЙ СОСТАВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ОСТЕОРЕЗОРБЦИИ

О.В. Бердюгина^{1,3*}, К.А. Бердюгин^{2,3}

¹Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии,
620039, Екатеринбург, ул. 22 Партсъезда, 50; эл. почта: berolga73@rambler.ru

²Уральский институт травматологии и ортопедии имени В.Д. Чаклина, Екатеринбург

³Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург

Целью исследования являлось динамическое изучение изменения лабораторных показателей периферической крови, отражающих клеточный и протеиновый состав иммунной системы при остеорезорбции. Обследовано 108 больных с дегенеративно-дистрофическими и посттравматическими заболеваниями тазобедренного сустава до и после операции эндопротезирования. Половина случаев завершилась резорбцией костной ткани. Динамическое наблюдение проведено в сроки до 7,5 лет. Использованы метод проточной цитофлуориметрии (прибор Coulter Epics XL, США) и иммуноферментный анализ для определения количества иммунокомпетентных клеток, иммуноглобулинов классов М, А, G, Е, цитокинов, острофазовых белков (С-реактивный белок, фибриноген, альбумин, церулоплазмин, гаптоглобин), показателей функциональной активности нейтрофилов (лактоферрин, катионные белки, миелопероксидаза, продукция супероксид-аниона). Статистическая обработка результатов выполнена с применением программы Statistica for Windows v.10.0 (USA), включала базовые статистики и множественный регрессионный анализ. Результаты проведенного исследования позволили установить ведущую роль гаптоглобина, альбумина и IL-1 β в остеорезорбции. Применение множественного регрессионного анализа дало возможность выделить критерии прогнозирования остеорезорбции. В частности, концентрация Ig G через месяц после операции при величине 13 и менее г/л с вероятностью 86,8% позволяет предположить высокий риск разрушения костной ткани в области оперированного сустава (диагностическая чувствительность теста – 85,7%, диагностическая специфичность – 86,9%). В качестве критерия прогнозирования также может быть предложено использование тестирования уровня IL-1 β . Его концентрация через шесть месяцев после операции 191,2 и более пг/мл с вероятностью 87,4% позволяет предположить разрушение костной ткани в области оперированного сустава (диагностическая чувствительность – 87,2%, диагностическая специфичность – 88,1%).

Ключевые слова: интерлейкин, гаптоглобин, церулоплазмин, резорбция, костная ткань, эндопротезирование

DOI: 10.18097/PBMC20176305447

ВВЕДЕНИЕ

Иммунологические механизмы остеорезорбции начали изучать в процессе быстрого внедрения в медицинскую практику технологии эндопротезирования в лечении дегенеративно-дистрофических и посттравматических заболеваний тазобедренного сустава [1-4]. Ранее исследовали резорбцию костной ткани на экспериментальных моделях или с использованием клеточных культур [5, 6]. Возникновение и прогрессирование остеорезорбции обусловлено влиянием разных факторов иммунной системы: белков, гликопротеинов, молекулярных комплексов, клеток [7-10]. Целью данного исследования стало динамическое изучение изменения лабораторных показателей периферической крови, отражающих клеточный и протеиновый состав иммунной системы при остеорезорбции.

МЕТОДИКА

Исследование санкционировано комитетом по этике ГБУЗ СО “Центр специализированных видов медицинской помощи “Уральский институт травматологии и ортопедии имени В.Д.Чаклина”, руководствующимся порядком работы, стандартными

операционными процедурами и международными документами, основанными на “Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации” и её последующих редакциях, документах Организации Объединенных Наций и Совета Европы, касающихся прав пациента, руководстве по надлежащей клинической практике (Consolidated Guideline for Good Clinical Practice). Информированное согласие на участие в научно-исследовательском проекте в соответствии с Положением об этическом контроле научно-исследовательских работ и комитете по этике получено у всех обследованных участников данного испытания. Выполнено лабораторное тестирование 108 больных с дегенеративно-дистрофическими и посттравматическими заболеваниями тазобедренного сустава до и после операции эндопротезирования. Половина случаев завершилась резорбцией костной ткани. Динамическое наблюдение проведено в сроки до 7,5 лет. Лабораторные показатели, отражающие клеточный состав иммунной системы, оценивали с использованием метода проточной цитофлуориметрии на приборе Coulter Epics XL (США). Использованы моноклональные антитела фирмы “Beckman Coulter” (США), а также реагенты Burstest и Phagoburst (Германия). Протеиновый состав исследовали на автоматическом иммуноферментном анализаторе

* - адресат для переписки

Personal LAB (Италия) с использованием наборов Serazum Human Ig (иммуноглобулин) M, Ig A, Ig G, Ig E (Германия), лактоферрин, IL-1 β (интерлейкин), TNF- α (фактор некроза опухоли), С-реактивный белок (CRP), фибриноген, альбумин, церулоплазмин, гаптоглобин (Россия). Статистическая обработка результатов выполнена с применением программы Statistica for Windows v.10.0 (USA), включала базовые статистики и множественный регрессионный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Реакция иммунной системы на эндопротезирование тазобедренного сустава характеризовалась следующими изменениями лабораторных показателей. Развивалась стереотипная реакция крови на хирургическое вмешательство, в частности фиксировался нейтрофильный лейкоцитоз с увеличением числа клеток на 29% ($p<0,05$) через 3 суток после операции. Снижение количества лимфоцитов на 17,5% ($p<0,05$), сопровождалось изменением популяционного состава (табл. 1) – увеличением соотношения CD3⁺/CD19⁺ на 32,7% ($p<0,05$) и понижением концентрации иммуноглобулинов классов G и E соответственно на 25,2% ($p<0,05$) и 31,7% ($p<0,05$). Неоднозначное изменение показателей кислородзависимого киллинга – повышение активности миелопероксидазы на 4,4%

($p<0,05$) и метаболической активности нейтрофилов в 1,9 раза ($p<0,05$), наблюдалось на фоне увеличения числа этих клеток на 30,9% ($p<0,05$).

Известно, что активированные клетки, прежде всего моноциты, способны продуцировать цитокины, играющие важную роль в межклеточном взаимодействии. Среди прочих в данном разделе, интересным представлялось изучение уровня IL-1 β , поскольку он занимает одну из ключевых позиций в цитокиновой сети и играет важную роль в регуляции резорбции костной ткани. Полученные данные свидетельствовали о повышении его уровня в раннем послеоперационном периоде в 5,7 раза ($p<0,05$) (табл. 2). Очевидно, такое увеличение являлось стимулом для развития клеточных и гуморальных реакций в ответ на имплантацию эндопротеза тазобедренного сустава. Другим не менее важным регулятором иммунного ответа, участвующим в изменении структуры костной ткани, является TNF- α . В результате исследования также было отмечено повышение уровня TNF- α в раннем послеоперационном периоде в 7 раз ($p<0,05$) (табл. 2).

Операционная травма являлась пусковым механизмом для развития воспалительной реакции, опосредованной рядом медиаторов. Существенная роль в этом процессе принадлежала цитокинам, непосредственно влияющим на функцию гепатоцитов.

Таблица 1. Иммунологические показатели неосложнённого эндопротезирования тазобедренного сустава (M \pm m)

Сроки обследования	CD 3 ⁺		CD 19 ⁺		CD 3 ⁺ / CD 19 ⁺	Иммуноглобулины			
	%	10 ⁹ /л	%	10 ⁹ /л		A, г/л	M, г/л	G, г/л	E, ME/мл
до операции n=54	55,59 \pm 2,41	1,03 \pm 0,08	9,76 \pm 0,36	0,16 \pm 0,01	5,88 \pm 0,15	2,75 \pm 0,18	2,02 \pm 0,15	16,42 \pm 0,75	75,13 \pm 0,21
3 сутки, n=54	61,64 \pm 3,25	0,87 \pm 0,12	9,14 \pm 0,87	0,23 \pm 0,02	7,80 \pm 0,29*	2,39 \pm 0,18	1,78 \pm 0,16	12,28 \pm 0,70*	76,13 \pm 0,14
10 сутки, n=54	59,50 \pm 2,43	0,96 \pm 0,11	9,10 \pm 0,48	0,25 \pm 0,01	6,70 \pm 0,17*	2,99 \pm 0,20	2,20 \pm 0,16	15,35 \pm 0,72	51,31 \pm 0,04*
1 месяц, n=52	51,22 \pm 4,11	0,95 \pm 0,11	9,61 \pm 1,09	0,18 \pm 0,02	5,72 \pm 0,28	2,74 \pm 0,29	2,70 \pm 0,24*	16,75 \pm 1,09	74,36 \pm 0,21
3 месяца, n=43	59,67 \pm 2,40	0,95 \pm 0,18	9,17 \pm 0,60	0,15 \pm 0,02	6,53 \pm 0,09*	3,12 \pm 0,54	2,15 \pm 0,27	14,40 \pm 1,99	73,14 \pm 0,63*
6 месяцев, n=33	55,35 \pm 4,65	0,92 \pm 0,11	6,52 \pm 0,52*	0,11 \pm 0,02*	8,46 \pm 0,14*	2,53 \pm 0,56	1,83 \pm 0,55	12,97 \pm 2,14	74,23 \pm 0,55
9 месяцев, n=36	60,25 \pm 3,54	1,01 \pm 0,14	6,21 \pm 2,01	0,14 \pm 0,02	6,00 \pm 0,25	3,75 \pm 0,15*	1,98 \pm 0,03	13,51 \pm 2,60	73,18 \pm 0,21*
1 год, n=32	59,07 \pm 2,45	0,99 \pm 0,08	7,65 \pm 0,99	0,15 \pm 0,03	6,16 \pm 0,23	2,28 \pm 0,12*	1,71 \pm 0,75	11,92 \pm 0,09*	70,14 \pm 0,98*
1,5 года, n=35	54,18 \pm 2,07	1,02 \pm 0,14	8,11 \pm 0,87	0,14 \pm 0,02	6,21 \pm 0,21	2,11 \pm 0,01*	1,00 \pm 0,10*	12,50 \pm 2,33	62,23 \pm 0,18*
2 года, n=26	56,41 \pm 3,23	1,08 \pm 0,15	8,99 \pm 1,14	0,14 \pm 0,02	6,25 \pm 0,19	3,25 \pm 0,84	0,72 \pm 0,08*	18,16 \pm 2,01	75,16 \pm 0,25
2,5 года, n=28	56,17 \pm 3,64	1,05 \pm 0,15	8,03 \pm 0,79	0,13 \pm 0,04	6,18 \pm 0,24	1,93 \pm 0,35*	1,11 \pm 0,03*	15,10 \pm 1,06	70,54 \pm 0,55*
3 года, n=29	55,12 \pm 2,45	0,98 \pm 0,14	8,02 \pm 0,78	0,15 \pm 0,03	6,14 \pm 0,17	2,40 \pm 0,30	3,27 \pm 2,11	12,57 \pm 1,90	73,54 \pm 0,66*
3,5 года, n=23	56,51 \pm 4,28	0,99 \pm 0,06	8,05 \pm 0,79	0,15 \pm 0,05	6,19 \pm 0,31	3,00 \pm 0,38	1,81 \pm 0,58	16,56 \pm 1,21	72,57 \pm 0,41*

Примечание: M - среднее арифметическое величины, m - стандартная ошибка среднего значения, * - $p<0,05$ в сравнении с дооперационным уровнем.

Таблица 2. Динамика концентрации протеинов при благоприятном исходе эндопротезирования (М±m)

Сроки исследования	IL-1β, пг/мл	TNF-α, пг/мл	СРБ, мг/л	Фибриноген, г/л	Гаптоглобин, г/л	Церулоплазмин, г/л	Альбумин, г/л
до операции, n=54	27,07± 2,71	24,08± 1,74	9,18± 1,03	2,91± 0,21	1,12± 0,10	0,32± 0,02	44,85± 1,82
3 сутки, n=54	153,15± 12,04*	170,12± 14,21*	302,19± 44,53*	3,42± 0,25	1,50± 0,13*	0,34± 0,03	34,35± 0,50*
10 сутки, n=54	90,07± 9,65*	71,03± 2,14*	296,05± 34,07*	4,58± 0,26*	1,41± 0,11	0,43± 0,02*	42,18± 0,48
1 месяц, n=52	74,01± 2,79*	31,52± 3,24	168,67± 24,95*	3,00± 0,14	1,06± 0,26	0,44± 0,05*	42,51± 0,34
3 месяца, n=43	32,09± 3,04	21,56± 1,90	17,25± 8,81	2,81± 0,24	1,16± 0,20	0,29± 0,01	33,23± 1,63*
6 месяцев, n=33	26,53± 1,24	263,21± 20,65*	20,00± 8,43	2,75± 0,26	1,44± 0,06*	0,41± 0,02*	31,59± 1,64*
9 месяцев, n=36	24,15± 3,24	25,61± 2,18	9,32± 1,29	2,03± 0,39	1,18± 0,46	0,31± 0,03	45,54± 1,17
1 год, n=32	32,54± 2,70	30,09± 2,50	8,07± 0,23	2,61± 0,31	1,53± 0,24	0,31± 0,03	48,63± 1,31
1,5 года, n=35	23,18± 0,94	154,02± 24,76*	8,07± 1,24	4,01± 0,26*	1,09± 0,43	0,33± 0,01	44,18± 1,06
2 года, n=26	41,16± 8,47	120,50± 29,75*	5,80± 1,43	3,53± 0,41	1,20± 0,16	0,34± 0,03	44,72± 2,79
2,5 года, n=28	22,61± 0,83	293,35± 37,09*	10,21± 5,46	3,40± 0,21	1,46± 0,16	0,47± 0,11	40,46± 1,70
3 года, n=29	25,72± 2,35	378,06± 91,26*	7,04± 0,59	3,40± 0,48	1,35± 0,09	0,41± 0,09	42,30± 1,74
3,5 года, n=23	22,97± 1,24	33,79± 6,97	7,55± 0,25	3,60± 0,36	1,24± 0,14	0,29± 0,02	39,69± 4,63

Примечание: М - среднее арифметическое величины, m - стандартная ошибка среднего значения, * - $p < 0,05$ в сравнении с дооперационным уровнем.

Под их действием клетки печени повышали синтез белков острой фазы, что и обнаруживалось при исследовании проб больных после имплантации эндопротеза (табл. 2). В раннем послеоперационном периоде отмечалось повышение С-реактивного белка в 33 раза ($p < 0,05$), гаптоглобина – в 1,4 раза ($p < 0,05$). Другие острофазовые белки – фибриноген и церулоплазмин нарастали более продолжительное время: лишь к 10 суткам их дооперационные значения увеличивались соответственно в 1,6 и в 1,3 раза ($p < 0,05$). Концентрация “негативного” реактанта альбумина, напротив, в это время снижалась на 23,4% ($p < 0,05$).

Динамическое наблюдение с 3 месяцев до 3,5 лет показало следующее. Основные изменения данных иммунологических тестов выявлены через 6 месяцев, 1,5 и 3–3,5 года после эндопротезирования. Стандартный план лечения предусматривал снятие двигательных ограничений с оперированной конечности через 6 месяцев наблюдения – на этом этапе возобновлялась полноценная нагрузка на повреждённую конечность, следствием этого было ожидаемое изменение реакций организма на эндопротез (функционирующий имплантат). Этот период характеризовался изменением популяционного состава лейкоцитов (табл. 1) – количество $CD19^+$ клеток увеличивалось на 32,7% ($p < 0,05$), соотношение $CD3^+/CD19^+$ повышалось на 43,9% ($p < 0,05$). Кроме этого, наблюдалось увеличение активности

кислороднезависимых механизмов бактерицидности: активность катионных белков увеличивалась на 8,8% ($p < 0,05$) от дооперационного уровня. Наблюдалось увеличение концентрации Ig A в крови на 36,4% ($p < 0,05$) (табл. 1). Прослеживалось развитие воспалительной реакции (табл. 2) – отмечалось повышение концентрации гаптоглобина на 28,6% ($p < 0,05$), церулоплазмينا – на 28% ($p < 0,05$), и снижение уровня альбумина на 29,6% ($p < 0,05$). Реакция поддерживалась, по-видимому, высоким уровнем TNF-α, увеличение которого отмечалось в этот период более, чем в 10 раз ($p < 0,05$).

Через 1,5 года после операции был зафиксирован реактивный сдвиг лейкопоза: отмечалось снижение относительного количества нейтрофилов на 9% ($p < 0,05$). Лимфоцитарная реакция, проявлявшаяся увеличением числа клеток в 1,5 раза ($p < 0,05$), сопровождалась угнетением антителообразования (табл. 2) – уровень Ig A снижался на 23,3% ($p < 0,05$), Ig M – на 50% ($p < 0,05$), Ig E – на 17,2% ($p < 0,05$). Выявлено повышение числа фагоцитов на 18,1% ($p < 0,05$) со снижением продукции супероксид-аниона и концентрации лактоферрина в 2,1 раза ($p < 0,05$). Концентрация TNF-α (табл. 2) в этот период вновь увеличивалась в 6,4 раза ($p < 0,05$).

Спустя 3–3,5 года после операции было установлено некоторое снижение количества лейкоцитов, в частности, мононуклеаров на 17%

($p<0,05$) и фагоцитов в 2,3 раза ($p<0,05$) с увеличением их функционально-метаболической активности в 1,5 раза ($p<0,05$).

Следующим этапом исследования стал сравнительный анализ результатов группы с благоприятным исходом лечения и группы с остеорезорбцией в области установленного эндопротеза. О реактивных изменениях крови в ней до операции свидетельствовало сниженное на 23% ($p<0,05$) число нейтрофилов. Несмотря на тенденцию к лейкопении, количество лимфоцитов находилось около верхней границы нормы и было выше, чем при благоприятном исходе эндопротезирования на 20,7% ($p<0,05$). Выявлены признаки активности воспалительного процесса – концентрация гаптоглобина была выше на 32,1% ($p<0,05$), а альбумина – ниже на 29,9% ($p<0,05$) и уровень обоих выходил за пределы нормальных значений (табл. 3). Возможно, это стало проявлением нарушенной иммунореактивности, которая также выражалась в снижении количества нейтрофильных фагоцитов на 34% ($p<0,05$) и пониженном на 26,6% ($p<0,05$) уровне Ig G.

Ранний послеоперационный период при резорбции костной ткани имел следующие особенности. Лимфоцитарная реакция развивалась, преимущественно, за счёт увеличения количества $CD3^+$ -клеток, число которых было на 48,4% ($p<0,05$) выше, чем при неосложненном эндопротезировании тазобедренного сустава (табл. 3). Снижение количества $CD19^+$ -клеток в 1,9 раза ($p<0,05$) обуславливало понижение концентрации иммуноглобулинов классов А на 31,4% ($p<0,05$), класса М – на 25% ($p<0,05$),

класса G – на 26,2% ($p<0,05$). Воспалительная реакция была неоднозначной – концентрация альбумина и С-реактивного белка была соответственно на 37,9% ($p<0,05$) и в 2,1 раза ($p<0,05$) ниже, чем при благоприятном течении эндопротезирования тазобедренного сустава (табл. 4). Уровень остеорезорбтивного фактора $TNF-\alpha$ в раннем послеоперационном периоде был повышен в 2 раза ($p<0,05$) в сравнении с неосложнённой имплантацией эндопротеза. Повышение концентрации $IL-1\beta$ в 1,4 раза ($p<0,05$) в раннем послеоперационном периоде также явилось следствием влияния операционной травмы.

Наличие сенсibilизации к компонентам эндопротеза проявлялось повышенными значениями концентрации Ig E в 2,1 раза ($p<0,05$), превышающими нормальные значения.

Наблюдение в период с 1 месяца до 3,5 лет включительно показало следующие отличительные черты изменения иммунологических параметров.

Реакция иммунной системы отмечалась не только через 6 месяцев, 1,5 и 3–3,5 года после операции, но также и в промежуточные сроки – через 3 и 9 месяцев после имплантации искусственного сустава.

Отмечено, что через 3 месяца после операции развивалась воспалительная реакция, о чём свидетельствовали нейтрофильный лейкоцитоз (количество нейтрофилов было выше на 33,3%, $p<0,05$) и увеличение концентрации быстро реагирующих острофазовых протеинов, прежде всего, С-реактивного белка (табл. 4). Концентрация СРБ была в 4,4 раза ($p<0,05$) выше, чем у больных с благоприятным

Таблица 3. Иммунологические показатели при эндопротезировании тазобедренного сустава, осложнённом резорбцией костной ткани ($M\pm m$)

Сроки обследования	CD 3 ⁺		CD 19 ⁺		CD 3 ⁺ / CD 19 ⁺	Иммуноглобулины			
	%	10 ⁹ /л	%	10 ⁹ /л		А, г/л	М, г/л	G, г/л	E, МЕ/мл
до операции, n=54	56,95± 1,88	1,06± 0,08	9,95± 0,47	0,18± 0,02	6,28± 0,29	2,22± 0,24	2,26± 0,22	12,11± 0,82#	100,78± 5,03#
3 сутки, n=54	57,68± 2,32	0,74± 0,08*	9,16± 0,45	0,12± 0,02*#	6,86± 0,32#	1,96± 0,29	1,55± 0,22*	9,33± 0,97*#	163,50± 0,12*#
10 сутки, n=54	59,47± 1,45	1,32± 0,11#	9,43± 0,54	0,21± 0,02	7,82± 0,68*	2,05± 0,28#	1,65± 0,18*#	11,32± 0,89#	157,83± 15,02*#
1 месяц, n=51	60,47± 1,19#	1,41± 0,10*#	10,07± 0,35	0,24± 0,03	6,14± 0,11	2,16± 0,28	1,87± 0,15#	10,25± 1,06#	98,67± 11,21#
3 месяца, n=41	51,11± 2,14*#	1,35± 0,10*	9,39± 0,45	0,27± 0,03*#	5,52± 0,24*#	2,44± 0,52	1,96± 0,38	13,79± 1,76	77,56± 3,65*
6 месяцев, n=33	58,25± 3,26	1,17± 0,13	9,75± 0,86#	0,20± 0,02#	6,22± 0,31#	3,04± 0,29*	2,35± 0,35	16,44± 1,31*	58,85± 6,15*#
9 месяцев, n=36	48,33± 3,58*#	1,10± 0,16	9,33± 0,42	0,22± 0,03#	5,02± 0,15*#	2,86± 0,68	2,97± 1,05	14,89± 1,25	150,03± 12,36*#
1 год, n=32	51,57± 3,59	0,86± 0,05	9,01± 0,98	0,25± 0,03#	6,30± 0,62	3,29± 0,43*#	1,86± 0,32	12,99± 1,95	35,07± 1,12*#
1,5 года, n=35	58,50± 4,57	1,10± 0,04	9,75± 0,32	0,19± 0,02	5,77± 0,24	3,13± 0,37*#	1,60± 0,23#	15,30± 2,19	86,45± 3,69*#
2 года, n=26	62,14± 2,14	0,99± 0,08	9,41± 0,64	0,18± 0,04	6,01± 0,35	3,36± 0,32*	2,02± 0,32#	17,30± 2,22*	75,52± 2,35*

Примечание: М - среднее арифметическое величины, m - стандартная ошибка среднего значения, * - $p<0,05$ в сравнении с дооперационным уровнем, # - $p<0,05$ в сравнении с благоприятным исходом.

Таблица 4. Динамика уровня протеинов крови у больных при резорбции костной ткани ($M \pm m$)

Сроки исследования	IL-1 β , пг/мл	TNF- α , пг/мл	СРБ, мг/л	Фибриноген, г/л	Гаптоглобин, г/л	Церулоплазмин, г/л	Альбумин, г/л
до операции, n=54	25,60 \pm 2,47	26,38 \pm 1,72	7,50 \pm 1,03	4,07 \pm 0,66	1,48 \pm 0,12#	0,32 \pm 0,02	31,44 \pm 3,00#
3 сутки, n=54	158,29 \pm 12,03*	231,20 \pm 20,33*#	142,20 \pm 24,03*#	2,88 \pm 0,37	1,85 \pm 0,13*	0,34 \pm 0,03	25,15 \pm 0,70*#
10 сутки, n=54	129,14 \pm 12,09*#	140,07 \pm 10,42*#	136,63 \pm 12,70*#	4,25 \pm 0,29	1,23 \pm 0,03	0,45 \pm 0,02*	26,41 \pm 1,68#
1 месяц, n=51	39,98 \pm 4,05*#	25,16 \pm 7,81	185,33 \pm 27,84*	2,99 \pm 0,21	1,04 \pm 0,24	0,45 \pm 0,04*	27,39 \pm 0,98#
3 месяца, n=41	28,26 \pm 4,00	51,72 \pm 4,07*#	75,18 \pm 4,07*#	2,96 \pm 0,31	1,18 \pm 0,21	0,31 \pm 0,01	36,52 \pm 1,62
6 месяцев, n=33	191,17 \pm 36,40*#	120,14 \pm 20,18*#	21,04 \pm 2,17*	2,74 \pm 0,31	1,46 \pm 0,11	0,32 \pm 0,03#	37,20 \pm 1,15#
9 месяцев, n=36	65,23 \pm 4,51*#	36,54 \pm 4,56#	52,07 \pm 3,03*#	2,50 \pm 0,36*	1,17 \pm 0,51	0,58 \pm 0,04*#	29,13 \pm 1,62#
1 год, n=32	35,27 \pm 4,15	29,77 \pm 5,41	32,50 \pm 7,75*#	2,00 \pm 0,61*	1,49 \pm 0,34	0,56 \pm 0,03*#	39,58 \pm 1,42*#
1,5 года, n=35	41,18 \pm 6,52*#	33,41 \pm 3,61#	12,51 \pm 2,12*	2,38 \pm 0,36*#	1,08 \pm 0,21	0,31 \pm 0,04	42,74 \pm 2,52*
2 года, n=26	273,14 \pm 31,18*#	28,62 \pm 1,74#	22,01 \pm 3,71*#	3,07 \pm 0,29	0,80 \pm 0,35	0,30 \pm 0,05	42,84 \pm 3,14*

Примечание: М - среднее арифметическое величины, m - стандартная ошибка среднего значения, * - $p < 0,05$ в сравнении с дооперационным уровнем, # - $p < 0,05$ в сравнении с благоприятным исходом.

исходом эндопротезирования. Важную роль в регуляции остеорезорбции играли мононуклеары и, прежде всего, моноциты и CD19⁺-клетки, количество которых было повышенным соответственно в 2,4 раза ($p < 0,05$) и в 1,8 раза ($p < 0,05$). Концентрация TNF- α также была повышена более, чем в 2 раза. Продукция перекисных радикалов нейтрофилами в этот период была снижена в 3,6 раза ($p < 0,05$).

В тот момент, когда больному разрешалось передвигаться в обычном режиме без дополнительной опоры и ограничений, то есть через 6 месяцев после операции, количество CD19⁺-клеток оставалось выше, чем в группе больных с благоприятным исходом в 1,8 раза ($p < 0,05$). Активность лизосомальных катионных белков нейтрофилов была достоверно снижена на 10,6%. Уровень остеорезорбтивного фактора IL-1 β был в 7,2 раза выше ($p < 0,05$), чем при благоприятном исходе эндопротезирования. Можно полагать, что именно это явилось ключевым фактором в развитии остеорезорбции в области имплантата, поскольку в последующем концентрация IL-1 β при резорбции всегда оставалась более высокой, чем при неосложнённом эндопротезировании тазобедренного сустава.

Через 9 месяцев после операции дополнительно к описанным изменениям вновь активировался воспалительный процесс (табл. 3) – концентрация СРБ, церулоплазмينا была повышена соответственно в 5,6 раза ($p < 0,05$), в 1,9 раза ($p < 0,05$), а альбумина – снижена в 1,6 раза ($p < 0,05$). Продолжающийся воспалительный процесс поддерживал резорбцию костной ткани. Уровень Ig E, свидетельствующий о возникновении сенсибилизации организма к компонентам имплантата, оставался высоким

и был в 2 раза ($p < 0,05$) выше, чем при благоприятном исходе эндопротезирования (табл. 1, 3).

Спустя 1,5 года после имплантации эндопротеза тазобедренного сустава обнаруживалось перераспределение соотношения циркулирующих в кровяном русле популяций лейкоцитов, что подтверждалось и снижением количества мононуклеаров: лимфоцитов – на 24,5% ($p < 0,05$), моноцитов – на 33,3% ($p < 0,05$) в сравнении с неосложнённым течением оперативного лечения. В этот период количество фагоцитов было на 26,4% ($p < 0,05$) ниже, чем у больных с благоприятным исходом эндопротезирования. Отмечалось также увеличение концентрации Ig A на 48,3% ($p < 0,05$), Ig M – на 60% ($p < 0,05$), Ig E – на 38,9% ($p < 0,05$) (табл. 3). Об участии гуморальных реакций в резорбции костной ткани, в частности, об увеличении уровня иммуноглобулинов при неблагоприятном исходе эндопротезирования ранее сообщали и другие авторы [12].

И, наконец, непосредственно перед развитием осложнения, то есть через 2 года после операции, отличия касались преимущественно гуморального звена иммунной системы – отмечалось повышение в 2,8 раза Ig M ($p < 0,05$). По результатам исследования получены данные о возобновлении воспалительной реакции (табл. 4) – концентрация СРБ была увеличена в 3,8 раза ($p < 0,05$). Повышенный уровень IL-1 β (табл. 4) мог поддерживать воспалительную реакцию путём влияния на гепатоциты и увеличивая синтез острофазовых протеинов. Концентрация IL-1 β в этот период была повышена в 6,6 раза ($p < 0,05$) в сравнении с неосложнённым течением эндопротезирования и в 5,5 раза в сравнении с верхней границей нормы,

что подтверждало его остеорезорбтивную функцию и важную роль в развитии рассматриваемого патологического процесса – резорбции костной ткани и расшатывании эндопротеза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования позволили установить ведущую роль гаптоглобина, альбумина и IL-1 β в остеорезорбции. Применение множественного регрессионного анализа дало возможность выделить критерии прогнозирования остеорезорбции. В частности, концентрация Ig G через месяц после операции при величине 13 и менее г/л с вероятностью 86,8% позволяет предположить риск разрушения костной ткани в области оперированного сустава (диагностическая чувствительность теста – 85,7%, диагностическая специфичность – 86,9%). В качестве критерия прогнозирования также может быть предложено использование тестирования уровня IL-1 β . При его концентрации через шесть месяцев после операции 191,2 и более пг/мл с вероятностью 87,4% можно предположить разрушение костной ткани в области оперированного сустава (диагностическая чувствительность – 87,2%, диагностическая специфичность – 88,1%).

ЛИТЕРАТУРА

1. Kraft C.T., Agarwal S., Ranganathan K., Wong V.W., Loder S., Li J. (2016) J. Trauma Acute Care Surgery, **80**(1), 156.
2. Hallab N.J., Anderson S., Caicedo M. (2004) J. Arthroplasty, **19**(8), 88-93.
3. Mbalaviele G., Novack D.V., Schett G., Teitelbaum S.L. (2017) J. Clin. Invest., **127**(6), 2030-2039.
4. Hunter D.J., Sambrook P.N. (2000) Arthritis Res. Ther., **2**(6), 441.
5. Yang J., Peng B. (2008) J. Endodontics, **34**(1), 22-25.
6. Alotaibi M.K., Kitase Y., Shuler C.F. (2016) Archives Oral Biology, **71**, 38-45.
7. Ma J., Guo W., Li Z., Wang B., Li S., Wang P. (2017) Mediators of Inflammation, 2017, ID 1732638, doi:10.1155/2017/1732638
8. Holt G., Murnaghan C., Reilly J., Meek R.M. (2007) Clin. Orthop. Relat. Res., **460**, 240-252.
9. Frommer K.W., Neumann E., Lange U. (2016) Zeitschrift für Rheumatologie, **75**(5), 444-450.
10. Naganuma Y., Takakubo Y., Hirayama T., Tamaki Y., Pajarinen J., Sasaki K., Takagi M. (2016) J. Biomedical Materials Research Part A, **104**(2), 435-444.
11. Lin D., Li L., Sun Y., Wang W., Wang X., Ye Y., Xu Y. (2015) Immunology, **144**(3), 472-485.
12. Veronesi F., Tschon M., Fini M. (2017) Int. J. Molec. Sci., **18**(3), 499.

Поступила: 31. 08. 2017.
Принята к печати: 11. 09. 2017.

CHANGES IN LABORATORY PARAMETERS OF PERIPHERAL BLOOD REFLECT CELL AND PROTEIN CONTENT OF THE IMMUNE SYSTEM IN BONE RESORPTION

O.V. Berdugina^{1,3}, K.A. Berdugin^{2,3}

¹Ural Research Institute of Phthisiopulmonology,
50, 22-th Partsyezda str., Yekaterinburg, 620039 Russia; e-mail: berolga73@rambler.ru

²Chaklin Ural Institute of Traumatology and Orthopedics, Yekaterinburg, Russia

³Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia

The aim of this study was to investigate dynamic changes in the laboratory parameters of peripheral blood, reflecting cellular and protein composition of the immune system in bone resorption. The study involved 108 patients with degenerative-dystrophic and posttraumatic disorders of the hip joint before and after joint replacement surgery. Half of the cases resulted in bone resorption. Dynamic monitoring was performed up to 7.5 years. It included flow cytometry (Coulter Epics XL, USA) and enzyme immunoassay to determine the amount of immunocompetent cells, immunoglobulin class M, A, G, E, cytokines, acute phase proteins (C-reactive protein, fibrinogen, albumin, ceruloplasmin, haptoglobin), parameters of neutrophil functional activity (lactoferrin cationic protein, myeloperoxidase, superoxide anion production). The results of the study revealed the leading role of haptoglobin, albumin, and IL-1 β in bone resorption. The use of multiple regression analysis made it possible to propose criteria for prediction of bone resorption. In particular, the Ig G concentration one month after operation at a value of 13 or less g/l with a probability of 86.8% suggests a high risk of bone tissue destruction in the operated area of the joint (diagnostic sensitivity and diagnostic specificity of 85.7% and 86.9%, respectively). Determination of the IL-1 β level also has a good predictive power: its concentration exceeding 191.2 pg/ml six month after surgery with the probability of 87.4% suggests destruction of bone tissue in the operated area of the joint (diagnostic sensitivity and diagnostic specificity of 87.2% and 88.1%, respectively).

Key words: interleukin, haptoglobin, ceruloplasmin, resorption, bone, joint replacement