

**ОЦЕНКА ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМА НА СПЛАВЫ МЕТАЛЛОВ ЭНДОПРОТЕЗА ПО МАРКЕРНЫМ СТРУКТУРАМ СЫВОРОТКИ КРОВИ***S.N. Shatokhina*<sup>1</sup>, *V.V. Zar*<sup>1</sup>, *M.V. Zar*<sup>1</sup>, *V.N. Shabalin*<sup>2</sup><sup>1</sup> Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского», Москва<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва

*С целью выяснения причин воспалительной реакции с последующим фиброзированием во втором оперированном суставе у пациентки с двусторонним гонартрозом проведено исследование твердофазных структур сыворотки крови методами клиновидной и краевой дегидратации (технология «Литос-Система»). Исследование было направлено на выявление специфических морфологических маркеров, характеризующих реакцию организма на материал эндопротеза. При суточной инкубации сыворотки крови со сплавом титана, алюминия и ванадия ее твердофазные структуры свидетельствовали об активации гиперэргической реакции, а при инкубации со сплавом кобальта, хрома и молибдена, напротив, — на подавление иммунологической активности сыворотки крови и трансформацию присутствующих в ней структур в аморфный детрит. Установлено, что характер иммунологической реакции сенсibilизированного организма зависит от вида металлов, входящих в состав эндопротеза. На сплав титана, алюминия и ванадия иммунная реакция вызывает воспаление околоуставной ткани с последующим ее фиброзированием и образованием рубцовой демаркационной оболочки, отделяющей околоуставные ткани от эндопротеза и выполняющей функцию иммунологического барьера. На сплав кобальта, хрома и молибдена иммунологическая реакция вызывает деструкцию воспаленной околоуставной ткани с последующим постепенным разрушением суставной сумки.*

Ключевые слова: сплавы металлов эндопротеза; иммунологическое отторжение эндопротеза; маркерные структуры сыворотки крови.

Конфликт интересов: не заявлен.

Источник финансирования: не заявлен.

**КАК ЦИТИРОВАТЬ:** Шатохина С.Н., Зар В.В., Зар М.В., Шабалин В.Н. Оценка иммунологической реакции организма на сплавы металлов эндопротеза по маркерным структурам сыворотки крови. *Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова*. 2020;27(2):30-34. doi: <https://doi.org/10.17816/vto202027230-34>

**SERUM MARKERS FOR IMMUNOLOGICAL RESPONSE TO METAL ALLOYS OF ENDOPROSTHESES***S.N. Shatokhina*<sup>1</sup>, *V.V. Zar*<sup>1</sup>, *M.V. Zar*<sup>1</sup>, *V.N. Shabalin*<sup>2</sup><sup>1</sup> M.F. Vladimirovsky's Moscow regional research clinical institute, Moscow, Russia<sup>2</sup> The Institute of general pathology and pathophysiology, Moscow, Russia

*A study of solid-phase structures of blood serum using wedge-shaped and marginal dehydration methods (Litos system technology) was conducted in order to find out the causes of an inflammatory reaction followed by fibrosis in the second operated joint in a patient with bilateral knee arthritis. The study was aimed at identifying specific morphological markers that characterize the body's response to the endoprosthesis material. Its solid-phase structures indicated the activation of a hyperergic reaction with daily incubation of blood serum with an alloy of titanium, aluminum, and vanadium. On the contrary, the immunological activity of blood serum can be suppressed and the structures present in it can be transformed into amorphous detritus with the incubation of an alloy of cobalt, chromium, and molybdenum. It was observed from the study that the nature of the immunological reaction of a sensitized organism depends on the type of metals that are part of the endoprosthesis. The immune response causes inflammation of the periarticular tissue, followed by its fibrosation and the formation of a scar demarcation shell that separates the periarticular tissue from the endoprosthesis and performs the function of an immunological barrier on the alloy of titanium, aluminum, and vanadium. On the other hand, an immunological reaction causes the destruction of inflamed periarticular tissue, followed by gradual destruction of the articular bag on the alloy of cobalt, chromium, and molybdenum.*

Key words: metal alloys of endoprotheses; immunological rejection of the endoprosthesis; serum markers.

Conflict of interest: n/a.

Financing source: n/a.

**TO CITE THIS ARTICLE:** Shatokhina SN, Zar VV, Zar MV, Shabalin V.N. Serum markers for immunological response to metal alloys of endoprotheses. *N.N. Priorov Journal of Traumatology and Orthopedics*. 2020;27(2):30-34. doi: <https://doi.org/10.17816/vto202027230-34>

## ВВЕДЕНИЕ

Эндопротезы суставов, компоненты которых изготовлены из металлических сплавов, имплантируются ортопедами на протяжении более полувека. При этом гиперэргическая реакция на металлы присутствует у 10–15 % людей, а у пациентов с неудовлетворительными результатами эндопротезирования она определяется в 60 % случаев [1, 2]. Металлические сплавы выделяют в околосуставные ткани ионы металлов, которые образуют с протеинами комплексы, являющиеся антигенами, способными вызвать сенсibilизацию и последующие иммунологические гиперэргические реакции. Наиболее часто встречается гиперчувствительность к ионам хрома, кобальта и никеля. Клинически это проявляется болью, выпотом в суставную щель, асептическим расшатыванием конструкции [3]. Для диагностики возможной гиперчувствительности к металлам обычно применяются тестовые системы, представляющие собой кожные пластыри с потенциальным аллергеном. Но такой подход позволяет констатировать только наличие у пациента сенсibilизации к металлу без определения возможной реакции тканей на имплантат.

В настоящем сообщении представлен клинический случай больной с двусторонним гонартрозом, позволивший диагностировать иммунологическое отторжение эндопротеза после повторной операции на контрлатеральном суставе и проанализировать причины его развития с помощью новой диагностической технологии «Литос-Система» по морфологическим особенностям твердофазных структур сыворотки крови [4].

*Объект исследований.* Пациентка К., 73 года. В анамнезе: боли в коленных суставах беспокоят около 10 лет. В феврале 2019 г. выполнено тотальное эндопротезирование правого коленного сустава протезом с задней стабилизацией широко известного в России и мире производителя. Послеоперационный период протекал без осложнений, пациентка быстро восстановилась, боли в оперированном суставе исчезли, движения достигли максимума для этой конструкции.

В связи с положительным исходом первого вмешательства было принято решение о проведении операции на левом коленном суставе, варусная деформация которого была выражена больше, чем в правом. Операция была выполнена в сентябре 2019 г. Оперативное вмешательство оказалось более травматичным из-за необходимости резекции значительной части большеберцовой кости. Ранний послеоперационный период протекал без осложнений, рана зажила первичным натяжением. Однако пациентка не прилагала особых усилий для реабилитации, как делала это после первого эндопротезирования и выписалась из отделения с ограничением сгибания в суставе до 45–50°. В течение нескольких недель дома, в связи с прекращением разработки подвижности правого коленного сустава, движения в нем ограничились до качательных, надколенник стал малоподвижным. Несмотря на то что пациент-

ка стала проводить рекомендованные интенсивные занятия, улучшить ситуацию не удалось. При осмотре пациентки спустя 5 мес. после второй операции обнаружено, что движения в левом (оперированном во вторую очередь) суставе остаются качательными, пальпаторно определяется утолщение мягких тканей области коленного сустава, левый сустав несколько теплее правого. При эндопротезировании обоих коленных суставов применялась одна и та же модель протеза: бедренный компонент — сплав кобальт—хром—молибден (CoCrMo), большеберцовый компонент — сплав титан—алюминий—ванадий ( $Ti_6Al_4V$ ) и полиэтиленовые вкладыши.

*Цель исследования:* установить причины функциональной несостоятельности эндопротеза при аналогичной операции на втором коленном суставе.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

С целью выяснения причин воспалительной реакции с последующим фиброзированием во втором оперированном суставе методами клиновидной и краевой дегидратации (технология «Литос-Система», разрешение ФС № 2009/155 от 15 июня 2009 г.) проведено исследование твердофазных структур сыворотки крови пациентки К. Исследование было направлено на выявление специфических морфологических маркеров, характеризующих реакцию организма на материал эндопротеза.

Кровь для исследования забирали из вены строго натощак в количестве 8–10 мл без стабилизатора. Сыворотку крови отделяли путем центрифугирования в течение 15 мин при 1500 об./мин. Затем разливали в 3 пробирки по 1 мл. Одна пробирка с сывороткой крови являлась контрольной — проба 1, во вторую пробирку помещали цилиндр объемом 160 мм<sup>3</sup> со сплавом титана, алюминия и ванадия ( $Ti_6Al_4V$ ) — проба 2, а в третью пробирку — со сплавом кобальта, хрома и молибдена (CoCrMo) — проба 3. Из этих сплавов были изготовлены установленные протезы. Все 3 пробы инкубировали в термостате при 37 °С в течение 18 ч.

*Техника постановки метода клиновидной дегидратации:* на чистую поверхность трех предметных стекол наносили по капле сыворотки крови каждой пробы в объеме 20 мкл. Капли высыхали в стандартных условиях (температура 20–25 °С, относительная влажность 55–60 %, в специальном шкафу при неподвижности окружающего воздуха). В результате дегидратации в течение 18–24 ч формировались твердофазные структуры сыворотки крови — фации (от лат. *facies* — лицо, образ). Поиск маркерных структур в фациях осуществляли с помощью стереомикроскопа MZ12 (фирма Leica) в проходящем свете при разных увеличениях в интервале от  $\times 10$  до  $\times 100$ .

*Техника постановки метода краевой дегидратации:* из тех же 3 пробирок забирали по 3 капли сыворотки крови в объеме 20 мкл, наносили их на поверхность предметного стекла и накрывали покровными стеклами. Так готовились аналитические

ячейки для каждой пробы. Дегидратация проходила в стандартных условиях (см. выше) в течение 5 сут. Твердофазные структуры при краевой дегидратации сыворотки крови были представлены анизоморфонами. Выявление маркерных структур анизоморфонов проводили путем микроскопии в поляризованном свете с помощью микроскопа DM2500 (фирма Leica) при разных увеличениях в интервале от  $\times 100$  до  $\times 800$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

*Метод клиновидной дегидратации.* Фация сыворотки крови пробы 1 (рис. 1, а) характеризовалась гармонией построения (симметрия радиальных трещин), а также наличием маркера воспаления — в виде широкополосных языковых структур белого цвета в краевой зоне фации и маркера склерозирования — в виде структур типа «лист» по ходу трещин.

В фации сыворотки крови пробы 2 (рис. 1, б) определялось небольшое нарушение гармонии построения (частичная потеря симметрии радиальных трещин), присутствовали токсические бляшки, признаки «раздвоения» фации (маркер эндогенной интоксикации) и широкие языковые структуры (маркер воспаления).

Фация сыворотки крови пробы 3 (рис. 1, с) представлена хаотическим расположением трещин. Фация не содержит маркеров воспаления, что указывает на нейтрализацию данным сплавом металлов специфических антител, присутствующих в сыворотке крови. Площадь фации занята, в основном, аморфизированными структурами, имеются маркеры выраженной деструкции и интоксикации (многослойная фация, смазанность внутренних структурных границ).

Таким образом, сравнительный анализ картины фаций сыворотки крови пациентки К. показал, что в контрольной пробе присутствуют маркеры гиперэргической реакции и склерозирования (фиброза) тканей. При суточной инкубации сыворотки крови со сплавом титана, алюминия и ванадия (проба 2) структура фации свидетельствует об активации гиперэргической реакции, а при инкубации со сплавом кобальта, хрома и молибдена (проба 3) напротив, — на подавление иммунологической активности сыворотки крови и трансформацию присутствующих в ней структур в аморфный детрит.

Исследование анизоморфонов трех проб сыворотки крови *методом краевой дегидратации* (аналитические ячейки) показало четкие различия в их структуре. В контрольной пробе (проба 1) изотропные зернистые микросферолиты находились в тесном контакте с макросферолитами, что свидетельствовало о напряжении иммунной реактивности организма (рис. 2, а).

Анизоморфоны сыворотки крови пробы 2 (суточная инкубация со сплавом титана, алюминия и ванадия) представлены множественными россыпями мелких гранул, расположенных изолированно или связанных с макросферолитом. При этом структура макросферолита не имела повреждений

(рис. 2, б). Подобная картина была описана нами ранее в сыворотке крови больных бронхиальной астмой в период обострения заболевания [5] и дает основание полагать, что контакт с этим сплавом вызывает активацию иммунологической реактивности организма пациента, сенсibilизированного к сплаву металлов. Это положение подтверждается выявлением в этой же пробе маркера усиленной пролиферации в виде каскада параллельных анизотропных линий (рис. 3, а).

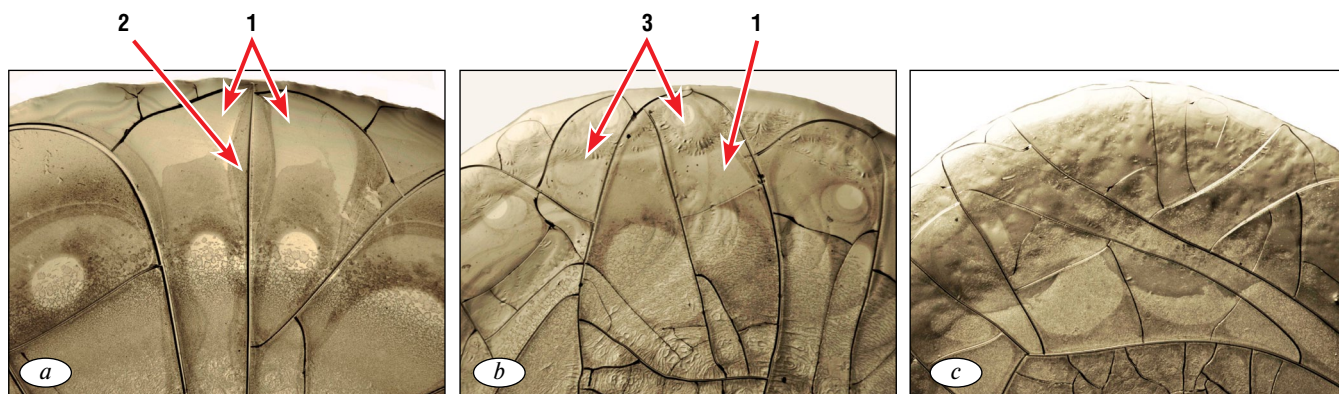
Почти все макросферолиты сыворотки крови пробы 3 (сплав кобальта, хрома и молибдена) имели выраженную деструкцию в виде изъеденности их лучевых элементов, при этом они были импрегнированы микросферолитами и их фрагментами, а также включениями в виде линейных структур (рис. 2, с). В аналитических ячейках сыворотки крови пробы 3 выявлялось небольшое число волнистых микросферолитов (рис. 3, б), которые входили в аномальную агрегацию с деструктивными макросферолитами или оставались изолированными. Известно, что данный маркер свидетельствует об агрессивности протекающего процесса. Так, появление волнистого микросферолита в сыворотке крови онкологических больных в процессе лечения означает прогрессию злокачественного роста в результате трансформации злокачественных клеток в наиболее агрессивный клон [4].

## ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исходя из клинического опыта наблюдения негативных исходов эндопротезирования (нестабильности протеза) при повторных операциях на суставах и полученных результатов лабораторных исследований, проведенных в настоящей работе, мы считаем, что причиной развития неблагоприятного эффекта эндопротезирования левого коленного сустава является гиперэргическая реакция организма на металлорганические агрегаты имплантата. Постановка первого эндопротеза вызывала асептическое воспаление околосуставных тканей и формирование металлотканевых комплексов, сенсibilизирующих организм. При этом воспаленные околосуставные ткани фибрировались с формированием рубцовой демаркационной оболочки, по мере развития которой постепенно снижалось сенсibilизирующее действие металлов эндопротеза на организм. Эти процессы отражают структуры твердой фазы сыворотки крови, выявленные методами клиновидной и краевой дегидратации (проба 1).

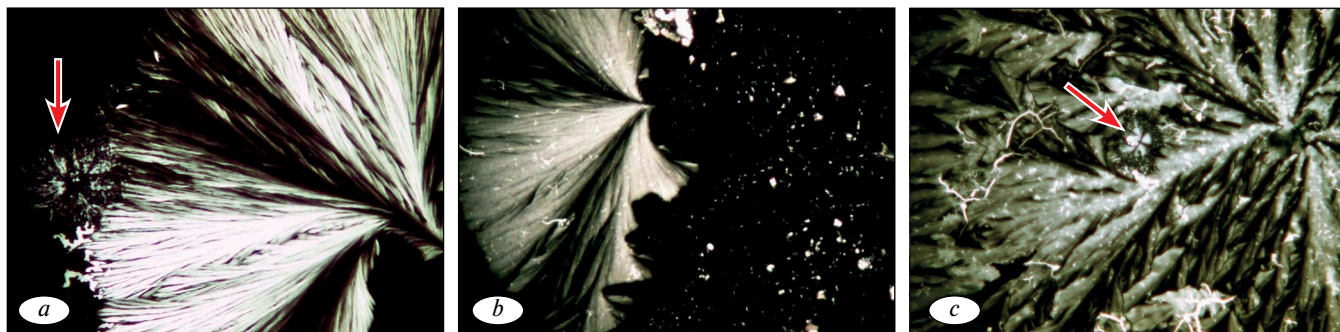
При второй установке эндопротеза в сенсibilизированном организме развивается активная иммунологическая реакция на вновь формирующиеся металлотканевые комплексы. При этом сплав титана, алюминия и ванадия стимулирует иммунную реакцию с последующим фибрированием воспаленных тканей и переходом в рубцовую ткань. Это подтверждается маркерными структурами фации и составом анизоморфонов сыворотки крови (проба 2). Демаркационная оболочка может являться





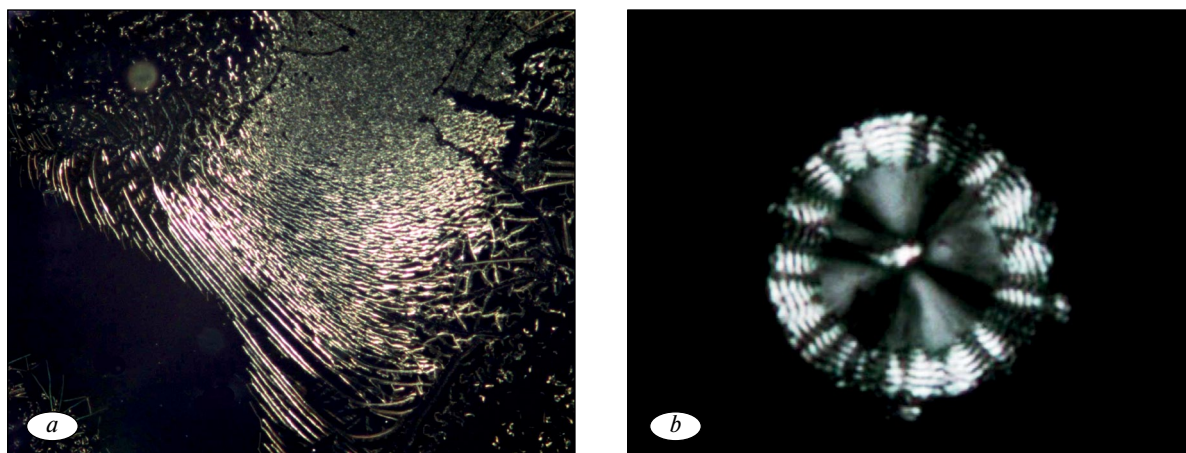
**Рис. 1.** Фрагменты фаций сыворотки крови пациентки К.: *a* (проба 1) — маркеры воспаления (стрелка 1) и склерозирования (стрелка 2); *b* (проба 2) — маркеры воспаления (стрелка 1) и маркеры умеренно выраженной деструкции — двойная фация, токсические бляшки (стрелка 3); *c* (проба 3) — маркеры выраженной деструкции и интоксикации (многослойная фация, смазанность структурных границ, потеря радиальной симметрии трещин). Микроскопия в обычном свете. Увел.  $\times 50$

**Fig. 1.** Fragments of facies in the blood serum of patient K.: *a* (sample 1) — markers of inflammation (arrow 1) and sclerosis (arrow 2); *b* (sample 2) — markers of inflammation (arrow 1) and markers of moderate destruction — double facies, toxic plaques (arrow 3); *c* (sample 3) — markers of severe destruction and intoxication (multilayer facies, blurred structural boundaries, loss of radial symmetry of cracks). Microscopy in ordinary light  $\times 50$



**Рис. 2.** Анизоморфы сыворотки крови пациентки К. в пробах: *a* (проба 1) — слияние изотропного зернистого микросферолита с макросферолитом (стрелка); *b* (проба 2) — россыпи мелких гранул (несформированные микросферолиты), часть из которых связана с макросферолитом без повреждения его структуры; *c* (проба 3) — аномальная импрегнация микросферолитов и их фрагментов в макросферолит (стрелка), выраженная деструкция макросферолита. Микроскопия в поляризованном свете. Увел.  $\times 200$

**Fig. 2.** Anisomorpha blood serum of the patient K. in the samples: *a* (sample 1) — merge isotropic granular microspherulites with microspherulites (arrow); *b* (sample 2) — the scattering of small granules (raw microporosity), some of which are associated with microspherulites without damaging its structure; in (sample 3) — an anomalous impregnation of microspheroidal and their fragments in microspherules (arrow), severe destruction of macroporosity. Microscopy in polarized light  $\times 200$



**Рис. 3.** Анизоморфы сыворотки крови: *a* (проба 2) — каскад параллельных анизотропных линий (маркер пролиферации), увел.  $\times 100$ ; *b* (проба 3) — волнистый микросферолит (маркер агрессии на ксеногенный фактор), увел.  $\times 800$ . Микроскопия в поляризованном свете

**Fig. 3.** SC Anisomorphs: *a* (sample 2) — cascade of parallel anisotropic lines (proliferation marker),  $\times 100$ ; *b* (sample 3) — wavy microspherulite (marker of aggression on xenogenic factor),  $\times 800$ . Microscopy in polarized light

причиной ограничения объема движений и, соответственно, функциональной несостоятельности сустава (отрицательный эффект). В то же время сплав кобальта, хрома и молибдена вызывает деструктивное воспаление околосуставной ткани. В результате, у пациентки К. в тканях левого коленного сустава одновременно протекают и процесс фибрирования, и процесс распада тканей околосуставной сумки. Что касается правого коленного сустава, то за время, прошедшее до второй операции, в нем сформировалась достаточно плотная демаркационная оболочка, способная противостоять агрессивной иммунологической реакции.

### ВЫВОДЫ

1. Методы клиновидной и краевой дегидратации (технология «Литос-Система») позволяют обнаруживать в сыворотке крови пациента морфологические маркеры сенсibilизации организма к металлам, входящим в состав эндопротеза.
2. Установлено, что характер иммунологической реакции сенсibilизированного организма зависит от вида металлов, входящих в состав эндопротеза. На сплав титана, алюминия и ванадия иммунная реакция вызывает воспаление околосуставной ткани с последующим ее фибрированием и образованием рубцовой демаркационной оболочки, отделяющей околосуставные ткани от эндопротеза и выполняющей функцию иммунологического барьера. На сплав кобальта, хрома и молибдена иммунологическая реакция вызывает деструкцию воспаленной околосуставной ткани с последующим постепенным разрушением суставной сумки.

3. При подготовке второй операции эндопротезирования контрлатерального сустава необходимо определять методами клиновидной и краевой дегидратации (технология «Литос-Система») реакцию сыворотки крови пациента на материал, планируемый к эндопротезированию. Следует имплантировать эндопротезы, материал которых при инкубации с сывороткой крови пациента не вызывает аморфизацию структуры фаций, деструкцию анизоморфонов и образование волнистых микросферолитов.

### ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

1. Hallab N, Merritt K, Jacobs JJ. Metal sensitivity in patients with orthopaedic implants. *J Bone Joint Surg Am.* 2001;83(3):428-436. <https://doi.org/10.2106/00004623-200103000-00017>.
2. Granchi D, Cenni E, Giunti A, Baldini N. Metal hypersensitivity testing in patients undergoing joint replacement: a systematic review. *J Bone Joint Surg Br.* 2012;94(8):1126-1134. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.94B8.28135>.
3. Thakur RR, Ast MP, McGraw M, Bostrom MP, Rodriguez JA, Parks ML. Severe persistent synovitis after cobalt-chromium total knee arthroplasty requiring revision. *Orthopedics.* 2013;36(4):e520-e524. <https://doi.org/10.3928/01477447-20130327-34>.
4. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. *Функциональная морфология неклeточных тканей человека*. М.: РАН; 2019. 356 с. [Shabalin VN, Shatokhina SN. *Funktsional'naya morfologiya nekletochnykh tkanei cheloveka*. Moscow: RAN; 2019. 356 p. (In Russ.).]
5. Шатохина С.Н., Шабалин В.Н. *Атлас структур неклeточных тканей человека в норме и патологии*. Т. 2. *Морфологические структуры сыворотки крови*. Тверь: Триада; 2013. С. 74-87. [Shatokhina SN, Shabalin VN. *Atlas struktur nekletochnykh tkanei cheloveka v norme i patologii*. Vol. 2. *Morfologicheskie struktury syvorotki krovi*. Tver: Triada; 2013. P. 74-87. (In Russ.).]

#### Информация об авторах:

**Светлана Николаевна Шатохина** — д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедрой клинической лабораторной диагностики факультета усовершенствования врачей. ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва. E-mail: sv\_n@list.ru.

**Вадим Владимирович Зар** — канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник отделения травматологии и ортопедии, доцент кафедры травматологии и ортопедии факультета усовершенствования врачей. ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва. E-mail: vzar@list.ru.

**Михаил Вадимович Зар** — ординатор кафедры травматологии и ортопедии факультета усовершенствования врачей. ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва. E-mail: vzar@list.ru.

**Владимир Николаевич Шабалин** — д-р мед. наук, профессор, академик РАН, главный научный сотрудник лаборатории биокристалломики. ФГБНУ «НИИОПП», Москва. E-mail: shabalin.v2011@yandex.ru.

#### Information about authors:

**Svetlana N. Shatokhina** — PhD, professor, head of the Department of clinical laboratory diagnostics. M.F. Vladimirsky's Moscow regional research clinical institute, Moscow, Russia. E-mail: sv\_n@list.ru.

**Vadim V. Zar** — MD, leading researcher of the Department of traumatology and orthopedics, associate professor of the Department of traumatology and orthopedics. M.F. Vladimirsky's Moscow regional research clinical institute, Moscow, Russia. E-mail: vzar@list.ru.

**Mikhail V. Zar** — clinical resident of the Department of traumatology and orthopedics. M.F. Vladimirsky's Moscow regional research clinical institute, Moscow, Russia. E-mail: vzar@list.ru.

**Vladimir N. Shabalin** — PhD, professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, chief scientific officer of the biocrystalloamics laboratory. Institute of general pathology and pathophysiology, Moscow, Russia. E-mail: shabalin.v2011@yandex.ru.