

ИССЛЕДОВАНИЕ АУТОАНТИТЕЛ К КОЛЛАГЕНУ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ С ДЕГЕНЕРАТИВНО-ДИСТРОФИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ТАЗОБЕДРЕННЫХ СУСТАВОВ

Т.В. Буйлова, Е.В. Пученкина, М.Ю. Лебедев

Нижегородский институт травматологии и ортопедии

Исследовано содержание аутоантител (ААТ) к коллагену в сыворотке крови у 185 взрослых больных с дегенеративно-дистрофическими заболеваниями тазобедренного сустава: деформирующим коксартрозом I, II, III стадии, асептическим некрозом головки бедренной кости III, IV стадии и кистовидной перестройкой суставных концов II, III стадии. На первом этапе исследования у 123 больных определяли содержание ААТ к общим детерминантам коллагенов с помощью реакции пассивной гемагглютинации. У 24% пациентов выявлены высокие, диагностически значимые титры ААТ к коллагену. Обнаружена зависимость между содержанием ААТ к общим детерминантам коллагена различных типов и характером суставной патологии. На втором этапе у 62 пациентов исследовали уровень ААТ к коллагену I, II, III, IV типа методом твердофазного иммуноферментного анализа. Зарегистрированы высокие значения уровня ААТ к коллагену I и II типа. У больных с асептическим некрозом выявлены достоверное увеличение содержания ААТ к коллагену I («костного») типа и выраженная тенденция к повышению уровня ААТ к коллагену II («хрящевого») типа. У пациентов с кистовидной перестройкой констатируются достоверное повышение уровня ААТ к коллагену II типа и тенденция к увеличению содержания ААТ к коллагену I типа. Выявлена четкая зависимость между уровнем ААТ к коллагену II типа и клинической картиной заболевания. Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования значений уровня ААТ к коллагену II типа в сыворотке крови для оценки компенсаторных способностей организма у больных с асептическим некрозом головки бедренной кости и кистовидной перестройкой суставных концов. Выявленные закономерности и корреляции между клиническими и иммунологическими показателями могут быть использованы при составлении программы лечения больных с дегенеративно-дистрофическими заболеваниями тазобедренного сустава.

The level of autoantibody (AAB) to collagen was studied in serum of patients with degenerative dystrophic hip joint diseases: deforming coxarthrosis of I, II, III degree, aseptic necrosis of femur head of III, IV degree and cystic remodeling of articular ends of II, III degree. In 123 patients level of AAB to general determinants of collagens was detected using reaction of passive hemagglutination. In 24% of patients high diagnostically significant of AAB titers to collagen were determined. Correlation of AAB level and general determinants of various collagen types as well as the type of articular pathology were studied. In 62 patients AAB level to collagen of I, II, III and IV types was detected using solid phase immunoenzyme analysis. High level of AAB to collagen of I, II types was shown. In patients with aseptic necrosis reliable increase of AAB level to collagen of I (osseous) type and marked tendency to the increase of AAB level to collagen of II (cartilagenous) type was detected. In patients with cystic remodeling reliable increase of AAB level to collagen of II type and tendency to the increase of AAB level to collagen of I type was observed. Strong correlation between AAB level to collagen of II type and clinical manifestations of pathology was determined.

На протяжении многих лет дегенеративно-дистрофические заболевания тазобедренных суставов привлекают пристальное внимание врачей разных специальностей (хирургов-ортопедов, терапевтов, ревматологов), что связано как с их распространенностью [3], так и с огромными затратами на диагностику и лечение [12]. Этим определяется и неослабевающий интерес исследователей к морфологическим, биохимическим и иммунным сдвигам, происходящим в организме больных, в первую оче-

редь в хрящевой и костной тканях [3]. Главной структурой этих тканей является коллаген, который в организме человека и животных составляет приблизительно третья часть всего белка. В разных тканях организма присутствуют различные типы коллагена. В настоящее время идентифицировано 19 типов коллагеновых белков, включающих более 30 видов полипептидных цепей. Изоформы коллагена различаются по аминокислотному составу, иммунным свойствам, макромолеку-

лярной организации и распространенности в организме. Наибольшую распространенность имеют: коллаген I типа — преимущественно в костной ткани, II типа — в тканях хряща, стекловидного тела, межпозвонковых дисков, III типа — в сосудах, коже, легких, кишечнике, стромах внутренних органов, IV типа — в базальных мембранах [1].

В суставном гиалиновом хряще в норме представлен коллаген II типа, особенности которого соответствуют высоким механическим нагрузкам. В случае заболевания сустава прежде всего поражаются хондроциты, весьма неустойчивые даже к относительно небольшим неблагоприятным воздействиям. Это вызывает изменения в продукции коллагена: пораженный хондроцит вместо коллагена II типа начинает синтезировать коллагены I и III типа [2]. Коллаген II типа в большей своей части гликозилирован и имеет «сильную» сольватированную оболочку, благодаря чему он связывает значительное количество воды. Это весьма помогает питанию хряща при изменениях механического, осмотического давления и способствует амортизации вертикальных давлений и ударов. Присутствие не характерных в норме коллагенов I и III типа снижает сопротивляемость механическим нагрузкам. Кроме того, эти коллагены существенно легче расщепляются, чем коллаген II типа. Продукты расщепления могут вызывать образование аутоантител (ААТ) к различным типам коллагена, что, в свою очередь, может стать толчком к аутоагрессии по отношению к суставу.

Целью данной работы было исследование ААТ к коллагену в сыворотке крови больных с дегенеративно-дистрофическими заболеваниями тазобедренного сустава.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проведены у 185 больных (124 женщины и 61 мужчина) в возрасте от 19 до 72 лет с дегенеративно-дистрофическими заболеваниями тазобедренных суставов: деформирующим коксартрозом I, II, III стадии, асептическим некрозом головки бедренной кости III–IV стадии и кистовидной перестройкой суставных концов II, III стадии. Все больные находились на консервативном лечении в отделении реабилитации Нижегородского НИИТО. Исследование включало два этапа: на первом этапе (123 больных) изучали содержание в сыворотке крови ААТ к общим детерминантам коллагенов всех типов, на втором этапе (62 пациента) определяли уровень ААТ к коллагену I, II, III и IV типа. В качестве контроля использовали сыворотку крови клинически здоровых доноров.

Кровь для исследования брали из периферической вены (5–6 мл) в сухие чистые пробирки. Для образования сгустка образцы крови выдерживали в течение 30 мин в термостате при температуре 4°C. Свернувшуюся кровь центрифугировали при 2000 g 15 мин. Сыворотку отбирали в сухие чистые пластиковые пробирки и до выполнения анализа хранили при температуре –60°C. Максимальный срок хранения составил 2 мес.

ААТ к общим детерминантам коллагенов различных типов определяли при помощи реакции пассивной гем-агглютинации с использованием диагностической тест-системы «Аутоколлаген» (НПК «Препарат», Н. Новгород). Содержание ААТ к коллагенам I, II, III, IV типа исследовали методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем фирмы «Имтек» (Москва) в соответствии с прилагаемой инструкцией. Приводим краткое описание методики. В сорбированные коллагеном человека лунки полистиролового планшета вносили образцы исследуемых и контрольных сывороток в разведении 1:50. В первый ряд планшета вносили в разведении положительный контроль с исходной концентрацией 0,1 мг/мл. Планшет с растворами контрольных и исследуемых образцов инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч с последующим отмыванием не связавшихся белков. Затем во все лунки планшета вносили раствор очищенных кроличьих моноклональных антител к иммуноглобулину человека, конъюгированных с пероксидазой хрена, и инкубировали в тех же условиях. После отмывания не связавшегося конъюгата для проявления реакции в лунки планшета вносили субстратную смесь (0,1% раствор ортофенилендиамина, содержащего 0,01% перекиси водорода) и инкубировали при комнатной температуре до появления выраженного окрашивания в положительных контрольных образцах, после чего реакцию останавливали 10% раствором серной кислоты. Регистрировали результаты на вертикальном спектрофотометре типа «Мультискан» при длине волны 492 нм. Количественное определение ААТ к коллагену производили с помощью калибровочной кривой, выстраиваемой прибором при введении значений концентраций положительного контроля в различных разведениях и с учетом разведения исследуемых образцов.

Полученные результаты подвергали статистической обработке по методу Стьюдента. При $p < 0,05$ результаты считались достоверными. При статистических расчетах использовали пакет программ «Statistica» («StatSoft», Russia, 1998).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Почти у трети больных с дегенеративно-дистрофическими заболеваниями тазобедренного сустава зарегистрирован достаточно низкий титр ААТ к общим детерминантам коллагенов различных типов (1:20–1:40), что соответствовало аналогичному показателю у здоровых доноров. У 47% больных титр ААТ составлял 1:80 и только у 24% пациентов был высоким, диагностически значимым

Табл. 1. Частота встречаемости различных титров аутоантител к общим детерминантам коллагенов разных типов при дегенеративно-дистрофических заболеваниях тазобедренного сустава (в %)

Вид суставной патологии	Титры аутоантител		
	≤1:40	1:80	≥1:160
Деформирующий коксартроз	60	32	0
Асептический некроз головки бедренной кости	20	28	40
Кистовидная перестройка суставных концов	20	40	60
Всего	100	100	100

Табл. 2. Содержание аутоантител к коллагенам I, II, III и IV типа в сыворотке крови у больных с дегенеративно-дистрофическими заболеваниями тазобедренного сустава ($M \pm m$)

Исследуемая группа	Содержание ААТ (в мг/мл) к коллагену			
	I типа	II типа	III типа	IV типа
Больные	0,0639 $\pm$ 0,019	0,0951 $\pm$ 0,037	0,0241 $\pm$ 0,008	0,0131 $\pm$ 0,007
Здоровые доноры	0,0078 $\pm$ 0,0003	0,0087 $\pm$ 0,0007	0,0072 $\pm$ 0,0001	0,0072 $\pm$ 0,002

(1:160 и 1:320). Обнаружена зависимость между количеством аутоантител к общим детерминантам коллагенов различных типов в сыворотке крови и характером суставной патологии (табл. 1). В частности, у больных с кистовидной перестройкой суставных концов и асептическим некрозом головки бедренной кости высокие титры ААТ к общим детерминантам коллагенов отмечались значительно чаще, чем при деформирующем коксартрозе.

Мы не включили в исследование больных, оперированных на тазобедренном суставе. Опыт показывает, что у подавляющего большинства оперированных наблюдается значительное увеличение количества ААТ к коллагену в сыворотке крови (их титр составляет 1:320–1:640), что, по-видимому, связано с повреждающим действием самого хирургического вмешательства. В дальнейшем содержание ААТ постепенно уменьшается до нормы, причем динамика этого процесса зависит от целого ряда факторов (наличие послеоперационных осложнений, индивидуальные особенности больного и т.д.).

При определении методом иммуноферментного анализа содержания в сыворотке крови ААТ к коллагенам I, II, III и IV типа высокий уровень ААТ к различным типам коллагена выявлен у 20% обследованных больных. При этом содержание ААТ к коллагену I типа было повышено у всех этих пациентов, к коллагену II типа — у 10%, а к коллагену III и IV типа — только у 4%. Средние значения полученных показателей представлены в табл. 2. Из нее видно, что наиболее высоким было содержание ААТ к коллагену I и II типа.

Анализ результатов, полученных у больных с разными дегенеративно-дистрофическими заболе-

ваниями тазобедренного сустава, показал, что у пациентов с асептическим некрозом головки бедренной кости имелось статистически достоверное повышение уровня ААТ к коллагену I типа, а у больных с кистовидной перестройкой суставных концов — к коллагену II типа (табл. 3). Среднее содержание ААТ к коллагену II типа было наиболее высоким у пациентов с асептическим некрозом головки бедренной кости и с кистовидной перестройкой суставных концов. Высокое значение этого показателя зарегистрировано у 33% больных с асептическим некрозом, у 47% пациентов с кистовидной перестройкой и только у 20% больных с деформирующим коксартрозом.

Выявлена зависимость между содержанием ААТ к коллагену II типа и тяжестью клинического состояния пациентов с асептическим некрозом и кистовидной перестройкой суставных концов. В соответствии с тяжестью клинического состояния пациенты были разделены на две группы: с легкими (1-я группа) и с умеренными (2-я группа) статодинамическими нарушениями. Тяжесть поражения тазобедренных суставов (по данным рентгенологического исследования) у всех больных была одинаковой и соответствовала III–IV стадии асептического некроза головки бедренной кости и III стадии кистовидной перестройки суставных концов. При асептическом некрозе головки бедренной кости у всех больных с легкими статодинамическими нарушениями уровень ААТ к коллагену II типа превышал 0,009 мг/мл (от 0,009 до 0,7) и в среднем составлял 0,178 $\pm$ 0,0181 мг/мл (табл. 4). Наиболее высоким этот показатель был у больных с максимально выраженной клинической компенсацией (0,7 мг/мл). У всех пациентов с умеренны-

Табл. 3. Содержание аутоантител к коллагенам I, II, III и IV типа в сыворотке крови у больных с различными дегенеративно-дистрофическими заболеваниями тазобедренного сустава ($M \pm m$)

Исследуемая группа	Содержание ААТ (в мг/мл) к коллагену			
	I типа	II типа	III типа	IV типа
Больные:				
коксартроз	0,0171 $\pm$ 0,006	0,0228 $\pm$ 0,007	0,0245 $\pm$ 0,01	0,0063 $\pm$ 0,0004
асептический некроз головки бедренной кости	0,0468 $\pm$ 0,013*	0,1178 $\pm$ 0,06	0,0212 $\pm$ 0,007	0,0112 $\pm$ 0,005
кистовидная перестройка суставных концов	0,0873 $\pm$ 0,039	0,1127 $\pm$ 0,039*	0,0252 $\pm$ 0,006	0,0155 $\pm$ 0,006
Здоровые доноры	0,0078 $\pm$ 0,0003	0,0087 $\pm$ 0,0007	0,0081 $\pm$ 0,0001	0,0073 $\pm$ 0,0003

* $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

Табл. 4. Содержание аутоантител к коллагену II типа у больных с асептическим некрозом головки бедренной кости и с кистовидной перестройкой суставных концов

Вид суставной патологии	Группа больных	Содержание ААТ, мг/мл ($M \pm m$)	Количество больных (в %) с уровнем ААТ выше 0,009 мг/мл
Асептический некроз головки бедренной кости	1-я	$0,178 \pm 0,0181$	100
	2-я	$0,0078 \pm 0,00002$	0
Кистовидная перестройка суставных концов	1-я	$0,184 \pm 0,0324$	70
	2-я	$0,043 \pm 0,0044$	20

ми статодинамическими нарушениями уровень ААТ к коллагену II типа был ниже 0,009 мг/мл (от 0,006 до 0,0089) и в среднем составлял $0,0078 \pm 0,00002$ мг/мл.

Аналогичная закономерность выявлена и при кистовидной перестройке суставных концов. В частности, содержание ААТ выше 0,009 мг/мл отмечено у 70% больных с легкими статодинамическими нарушениями. Средний показатель в этой группе ($0,184 \pm 0,0324$ мг/мл) был близок к среднему показателю у пациентов 1-й группы с асептическим некрозом головки бедренной кости. Вместе с тем во 2-й группе больных с кистовидной перестройкой суставных концов содержание ААТ ниже 0,009 мг/мл зарегистрировано в 80% случаев, средний показатель составил $0,043 \pm 0,0044$ мг/мл, что значительно выше, чем у больных 2-й группы с асептическим некрозом головки бедренной кости (см. табл. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Вопрос об участии антител к собственным тканям суставов в патогенезе их различных заболеваний рассматривается уже около 100 лет [5], однако устоявшейся точки зрения здесь не существует и по сей день. В отличие от ревматоидного артрита, считающегося «классическим» аутоиммунным заболеванием, такие виды патологии суставов, как деформирующий артроз, асептический некроз головки бедренной кости, кистовидная перестройка сочленяющихся костей, в основе своего патогенеза имеют нарушения обменных процессов, в частности внутрикостного и хрящевого метаболизма [4]. В последнее время показано, что иммунная система играет довольно активную роль на разных этапах развития этих патологических процессов [9, 16], причем ключевыми являются аутоиммунные процессы, связанные с коллагеном II типа [10, 17, 18].

В проведенных нами исследованиях в сыворотке крови пациентов с кистовидной перестройкой суставных концов и асептическим некрозом головки бедренной кости выявлены высокие титры ААТ к общим детерминантам коллагенов, что говорит

о несомненной заинтересованности иммунных механизмов при данной патологии тазобедренного сустава. Это послужило основанием для более детального изучения ААТ по их принадлежности к различным типам коллагена.

Как показал иммуноферментный анализ, у больных с асептическим некрозом достоверно увеличено содержание в сыворотке крови ААТ к коллагену I типа («костный» коллаген) и имеется выраженная тенденция к повышению уровня ААТ к коллагену II типа («хрящевой» коллаген). Вероятно, это объясняется последовательностью патогенетически значимых событий при данной патологии, когда первично в субхондральных отделах эпифизов появляются очаги некроза губчатой кости и вторично поражается суставной хрящ [6]. У больных с кистовидной перестройкой сочленяющихся костей, при которой кистовидные образования возникают в наиболее нагружаемых отделах суставных концов на фоне выраженной деструкции суставных хрящей, напротив, обнаружено достоверное увеличение содержания ААТ к коллагену II типа и только тенденция к повышению уровня ААТ к коллагену I типа.

Все это указывает на то, что образование ААТ при дегенеративно-дистрофических заболеваниях тазобедренного сустава — вновь в отличие от ревматоидного, или коллагениндуцированного, артрита — имеет вторичный характер и представляет собой реакцию на деструкцию заинтересованной (костной либо хрящевой) ткани. Это подтверждается и небольшим процентом больных дегенеративно-дистрофическими заболеваниями тазобедренного сустава с наличием ААТ к коллагену III типа (преимущественно расположенного в сосудах и коже) и IV типа (составляющего основу базальных мембран) и относительно невысоким содержанием этих ААТ.

Отсутствие достоверных изменений содержания ААТ к коллагену I и II типа в сыворотке крови у больных коксартрозом, по-видимому, объясняется менее выраженной деструкцией суставных тканей при данной патологии, особенно на ранних стадиях заболевания. Можно предположить, что иммунные процессы у этих больных происходят на местном уровне и не проявляются в виде изменений показателей аутоенсибилизации в периферической циркуляции.

Выраженность иммунных механизмов при суставной патологии определяется не только наличием (или отсутствием) ААТ к тканям сустава и их структурам, в частности к коллагену II типа. Показано, что кроме гуморальных механизмов, большое значение имеют аутоиммунные процессы, связанные с активацией клеток — в первую очередь Т-лимфоцитов [7, 13, 15]. Однако одновременно получены данные о том, что при артрите, вызванном введением в организм аллогенного коллагена II типа, разрушение хряща и кости может произойти и при отсутствии Т- и даже В-лимфоцитов [14].

Ведущим моментом в выборе иммунной системы гуморального или клеточного аутоиммунного ответа является соотношение Т-хелперов I (Th1) и II (Th2) класса. Считается, что клеточный аутоиммунный ответ протекает более остро, чем гуморальный, когда образуются ААТ. Своевременная диагностика выбора пути аутоиммунной реакции обычно затруднена — отчасти тем, что Th1 лимфоциты, сенсibilизированные к коллагену II типа, накапливаются преимущественно в полости сустава и не идентифицируются в периферическом кровотоке [8].

Анализ содержания ААТ к коллагену II типа в сыворотке крови у больных дегенеративно-дистрофическими заболеваниями тазобедренного сустава с разной выраженностью статодинамических нарушений показал, что при сопоставимой рентгенологической картине тазобедренных суставов имеется довольно четкая зависимость содержания ААТ от клинической картины заболевания. У пациентов с асептическим некрозом головки бедренной кости, которых можно отнести к группе с легкими статодинамическими нарушениями, содержание ААТ к коллагену II типа было достоверно выше, чем у больных с умеренными статодинамическими нарушениями, и всегда повышено по сравнению с контрольной группой. Подобная ситуация, хотя менее четко выраженная, отмечалась и у пациентов с кистовидной перестройкой суставных концов. Отчасти наше наблюдение подтверждает данные, полученные Kim Wan-Uk и соавт. [11] у пациентов с ревматоидным артритом.

Проведенное нами исследование позволяет говорить о том, что показатели аутоиммунной составляющей патогенеза дегенеративно-дистрофических заболеваний тазобедренного сустава могут быть клинически значимыми. При этом важно понимание баланса выраженности клеточного и гуморального ответов. Существенную помощь здесь может оказать исследование суставной жидкости пораженного сегмента, в первую очередь определение различных цитокинов как маркеров Th1 и Th2 лимфоцитов. Кроме того, полученные нами результаты свидетельствуют о возможности ис-

пользования значений уровня ААТ к коллагену II типа в сыворотке крови для оценки компенсаторных способностей организма у больных с асептическим некрозом головки бедренной кости и кистовидной перестройкой суставных концов. Выявленные закономерности и корреляции между клиническими и иммунологическими показателями могут быть использованы хирургами-ортопедами и реабилитологами при составлении программы оперативного и консервативного лечения больных с дегенеративно-дистрофическими заболеваниями тазобедренных суставов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кандурина Т.И. Наследственные коллагенопатии. — СПб, 2000. — С.13–49.
2. Князева М.В. //Ортопед. травматол. — 2001. — N 2. — С. 127–133.
3. Миронов С.П., Омеляненко Н.П., Орлецкий А.К. и др. //Вестн. травматол. ортопед. — 2001. — N 2. — С. 96–99.
4. Некачалов В.В. Патология костей и суставов. — СПб, 2000. — С. 155–158.
5. Розенталь Л.С. Иммунизация и его значение для диагностики и терапии. — М., 1925. — С. 37–39.
6. Шумада И.В., Суслова О.Я., Стецула В.И. и др. //Ортопед. травматол. — 1980. — N 7. — С. 33–37.
7. Goldschmidt T.J., Holmdahl R. //Eur. J. Immunol. — 1991. — Vol. 21. — P. 1327–1330.
8. He Xiaowen, Kang A.H., Stuart J.M. //J. Rheumatol. — 2000. — Vol. 27, N 3. — P. 583–598.
9. Jorgensen C., Noel D., Apparailly F., Sany J. //Br. J. Ophthalmol. — 2001. — Vol. 85, N 4. — P. 305–309.
10. Kakimoto K., Hara H. //Nippon Rinsho. — 1999. — Vol. 57, Suppl. — P. 550–552.
11. Kim Wan-Uk, Yoo Wan-Hee, Park Won et al. //J. Rheumatol. — 2000. — Vol. 27, N 3. — P. 575–581.
12. Lee S. //Clin. Cornerstone. — 1999. — Vol. 2, N 2. — P. 26–34.
13. Matthys P., Vermeire K., Mitera T. et al. //J. Immunol. — 1999. — Vol. 163, N 6. — P. 3503–3510.
14. Plows D., Kontogeorgos G., Kollias G. //Ibid. — 1999. — Vol. 163, N 2. — P. 1018–1023.
15. Seetharaman R., Mora A.L., Nabozny G. et al. //Ibid. — 1999. — Vol. 163 — N 3. — P. 1577–1583.
16. Stambrook P. N. //J. Rheumatol. — 2000. — Vol. 27, N 11. — P. 2541–2542.
17. Stuart J.M., Tomoda K., Yoo T.J. et al. //Arthritis Rheum. — 1983. — Vol. 26. — P. 1237–1244.
18. Yoshino S., Sasatimi E., Mori Y., Sagai M. //J. Immunol. — 1999. — Vol. 163, N 6. — P. 3417–3422.

ВНИМАНИЕ !

Не забудьте подписаться на «Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова» на второе полугодие 2003 года!

Планируемая тематика журнала:

- № 3/2003 — острая травма опорно-двигательного аппарата, политравма
 № 4/2003 — вопросы детской травматологии и ортопедии

Оформить подписку можно в любом почтовом отделении

Наши индексы в Каталоге «ГАЗЕТЫ И ЖУРНАЛЫ» АО «Роспечать»:

для индивидуальных подписчиков 73064
 для предприятий и организаций 72153

