

УДК 616.711+616.72]-007.2-002(045)

DOI: <http://dx.doi.org/10.15674/0030-59872017368-72>

## Оптимизация лечения больных воспалительно-деструктивными заболеваниями позвоночника и суставов с учетом специфических иммунологических показателей

Н. А. Корж<sup>1</sup>, Ф. С. Леонтьева<sup>1</sup>, В. Ю. Делевская<sup>2</sup>, Н. А. Заржецкая<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ГУ «Институт патологии позвоночника и суставов им. проф. М. И. Ситенко НАМН Украины», Харьков

<sup>2</sup> Харьковский национальный медицинский университет. Украина

*Objective: to study general and specific indicators of the immune status in patients with inflammatory and destructive diseases of the spine and joints, to assess relationships of established immunological features and capabilities of their therapeutic correction. Methods: the study involved 20 men and 17 women (average age  $(68.7 \pm 2.61)$  years) with inflammatory-destructive diseases of spine and joints II–III stage (osteochondrosis, coxarthrosis, knee joint osteoarthritis). We determined the levels of CD3+, CD4+, CD8+ lymphocytes, autoimmune lymphocytotoxic and granulocytotoxic antibodies, circulation immune complexes, IgA, IgM, IgG, production of leukocyte migration inhibition factor. Results: reduced levels of cytotoxic T-lymphocytes, increased levels of IgM and leukocyte migration inhibition factor in the presence of bacterial antigens (*St. aureus*, *Str. pyogenes*, *E. coli*, *Ps. aeruginosa*) were detected. We revealed a strong correlation between the levels of leukocyte migration inhibition factor to bacterial antigens and antigens of connective tissue, indicating that while the disease course the immune response against infectious agent contributes to autoimmune reactivity against host tissues. It is noted that the decrease in production of leukocyte migration inhibition factor in the presence of connective tissue antigens in the case of II–III stage of disease is due to the participation of lymphocytotoxic autoimmune antibodies. A method of in vitro selection immunomodulators for sorption of excessive amounts of lymphocytotoxic autoimmune antibodies to suppress autoimmune tissue response by the humoral type causing the inflammatory effects of edema and pain. Conclusions: determination of autoimmune lymphocytotoxic antibodies and leukocyte migration inhibition factor to bacterial antigens, in addition to diagnostic capabilities, is a therapeutic measure of individual selection of drugs in patients with inflammatory and destructive diseases of the spine and joints. Key words: tissue and bacterial sensitization, osteochondrosis, coxarthrosis, gonarthrosis, lymphocytotoxic antibodies.*

*Мета: вивчити загальні та специфічні показники імунного статусу хворих на запально-деструктивні захворювання хребта та суглобів, оцінити взаємозв'язки встановлених імунологічних особливостей та можливості їх терапевтичної корекції. Методи: обстежено 20 чоловіків і 17 жінок, середній вік  $(68,7 \pm 2,61)$  років на запально-деструктивні захворювання хребта та суглобів II–III стадії (остеохондроз, коксартроз, гонартроз). Визначали рівні CD3+, CD4+, CD8+ лімфоцитів, аутоімунних лімфоцитотоксичних та гранулоцитотоксичних антитіл, циркулюючих імунних комплексів, IgA, IgM, IgG, продукцію фактору інгібіції міграції лейкоцитів (LIF). Результати: встановлено зниження рівнів цитотоксичних T-лімфоцитів, підвищення рівнів IgM та LIF на бактеріальні антигени (*St. aureus*, *Str. pyogenes*, *E. coli*, *Ps. aeruginosa*). Виявлені сильні кореляційні взаємозв'язки між рівнями LIF на бактеріальні антигени та антигени сполучної тканини, що свідчить про приєднання аутоімунної реактивності по відношенню до власних тканин під час імунної відповіді на інфекційний агент протягом прогресування захворювання. Відмічено, що зниження продукції LIF за присутності антигенів сполучної тканини в разі II–III стадії захворювання обумовлено участю аутоімунних лімфоцитотоксичних антитіл. Запропоновано спосіб підбору in vitro імунокоректору для сорбції надмірної кількості аутоімунних лімфоцитотоксичних антитіл для супресії аутоімунної тканинспецифічної відповіді за гуморальним типом, що обумовлює явища запального набряку та больового синдрому. Висновки: визначення аутоімунних лімфоцитотоксичних антитіл і продукції LIF на бактеріальні антигени, крім діагностичних можливостей, є терапевтичним заходом індивідуального підбору лікарських препаратів у хворих на запально-деструктивні захворювання хребта та суглобів. Ключові слова: тканинна та бактеріальна сенсibiliзація, остеохондроз, коксартроз, гонартроз, лімфоцитотоксичні антитіла.*

**Ключевые слова:** тканевая и бактериальная сенсibiliзация, остеохондроз, коксартроз, гонартроз, лимфоцитотоксические антитела

## Введение

В настоящее время иммунологические обследования широко применяют в клинической практике. Доказана ведущая роль иммунной системы в устойчивости организма к различным неблагоприятным факторам внешней среды, в течении многих заболеваний и их осложнений. Это обусловило изучение иммунологических изменений и в патогенезе воспалительно-деструктивных заболеваний позвоночника и суставов.

Основное значение в хронизации воспалительного процесса в опорно-двигательной системе имеют иммунологические нарушения. Этому способствует длительная персистенция бактериальных и вирусных возбудителей, токсическое воздействие которых приводит к снижению функциональной активности иммунокомпетентных клеток, нарушению иммунного ответа и хронизации патологического процесса.

В связи с этим все больше работ посвящено поиску специфического дефекта в деятельности ансамбля иммунологических реакций, характерных для патологии опорно-двигательной системы, а также разработке патогенетической терапии [1–3].

*Цель работы:* изучить общие и специфические показатели иммунного статуса у больных воспалительно-деструктивными заболеваниями позвоночника и суставов, оценить взаимосвязь выявленных иммунологических особенностей и возможностей терапевтической коррекции.

## Материал и методы

Обследовано 37 больных (20 (54 %) мужчин и 17 (46 %) женщин) с остеохондрозом, гонартрозом и коксартрозом согласно диагностических критериев ACR и рентгенологической классификации Kellegren-Lawrence, находившихся на стационарном лечении. Выполнение работы одобрено на заседании комитета по биоэтике ДУ «ИППС им. проф. М. И. Ситенко НАМН» (протокол № 145 от 06.07.2015). Больным проводили клинические исследования, общий анализ крови и мочи, рентгенографию позвоночника и суставов, при необходимости — компьютерную томографию. Распространенный остеохондроз позвоночника диагностирован у 10 больных, коксартроз II стадии — у 5, коксартроз III стадии — у 7, гонартроз II стадии — у 10, гонартроз III стадии — у 5. Критерии исключения пациентов из исследования: возраст менее 18 и более 80 лет, беременность и период лактации, алкогольная и наркотическая зависимость, онкопатология, ту-

беркулез, лучевая болезнь. Возраст больных варьировал от 41 до 80 лет и в среднем составил ( $68,7 \pm 2,61$ ) года. В контрольную группу вошли 25 условно здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту без заболеваний опорно-двигательной системы.

Общее количество Т-лимфоцитов, активных Т-лимфоцитов, субпопуляций CD4+ и CD8+ определяли с помощью моноклональных антител. Концентрацию IgA, IgM и IgG измеряли методом твердофазного иммуноферментного анализа, а циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови проводили полиэтиленгликолем с молекулярной массой 6 000 методом осаждения [4]. Миграционную активность лейкоцитов оценивали в реакции ингибирования миграции лейкоцитов (РИМЛ) по модифицированной методике [5]. Для исследования стимулированной миграции лейкоцитов использовали тканевые (пульпозного ядра, фиброзной ткани, хряща, кости и синовиальной оболочки) и бактериальные (*St. aureus*, *Str. pyogenes*, *E. Coli* и *Ps. aeruginosa*) антигены. В качестве тканевых антигенов применяли экстракты гомогенатов соответствующих тканей на 0,9 % растворе NaCl с конечным содержанием белка 100 мкг/мл. Для оценки миграционной активности клеток рассчитывали индекс торможения миграции, соответствующий отношению площади миграции в опытной пробе к таковой в контроле. Уровень аутоиммунных лимфоцитотоксических и гранулоцитотоксических антител определяли по соответствующей методике [6]. Статистическую обработку и анализ результатов проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica 10.0». Для сравнения величин использовали t-критерий Стьюдента. Достоверными считали различия при  $p < 0,01$ .

## Результаты и их обсуждение

Анализ иммунологических данных показал, что у больных воспалительно-деструктивными заболеваниями суставов и позвоночника наблюдается снижение количества активных Т-лимфоцитов и CD8+ (Т-цитотоксических лимфоцитов) на фоне превалирования CD4+ (Т-хелперов), что проявляется в увеличении иммуно-регуляторного индекса —  $3,34 \pm 0,59$  (табл. 1). При этом отмечено достоверное увеличение уровней IgM, аутоиммунных лимфоцитотоксических антител до ( $15,5 \pm 1,26$ ) % и гранулоцитотоксических антител до ( $11,0 \pm 0,83$ ) %, что отражает активацию гуморальных механизмов в иммунном ответе.

Таблица 1

**Специфические и неспецифические показатели иммунного ответа  
при воспалительно-деструктивных заболеваниях суставов и позвоночника**

Показатель		Группы исследования	
		контрольная, n = 25	основная, n = 37
Активные Т-лимфоциты, %		35,0 ± 2,1	23,14 ± 1,9 *
Общее количество Т-лимфоцитов, %		64,2 ± 4,1	57,28 ± 3,53
CD4+, %		39,9 ± 3,1	42,1 ± 3,45
CD8+, %		24,3 ± 2,71	15,1 ± 2,68 *
IgG, г/л		11,4 ± 0,7	10,9 ± 0,4
IgA, г/л		2,1 ± 0,1	2,0 ± 0,07
IgM, г/л		1,24 ± 0,04	1,59 ± 0,05 *
ЦИК, усл. ед.		63,0 ± 3,1	79,51 ± 8,8
Аутолимф. антитела, %		6,1 ± 0,3	15,59 ± 1,26 *
Аутогран. антитела, %		4,4 ± 0,24	11,0 ± 0,83 *
Спонтанный МИ (LIF)		1,02 ± 0,01	0,68 ± 0,05 *
МИ на антигены (M ± m)	пульпозного ядра	1,04 ± 0,01	1,24 ± 0,02 *
	фиброзной ткани	1,02 ± 0,01	1,39 ± 0,02 *
	хряща	1,07 ± 0,01	1,2 ± 0,04 *
	кости	1,02 ± 0,01	1,15 ± 0,05 *
	синовиальной оболочки	1,05 ± 0,01	1,18 ± 0,05
	<i>St. aureus</i>	1,1 ± 0,01	0,97 ± 0,04 *
	<i>Str. pyogenes</i>	1,07 ± 0,01	0,9 ± 0,04 *
	<i>E. coli</i>	1,1 ± 0,01	0,96 ± 0,05 *
	<i>Ps. aeruginosa</i>	1,04 ± 0,01	0,93 ± 0,04 *

\* p < 0,01 по сравнению с контрольной группой.

Анализ специфических показателей позволил выявить достоверно высокий уровень продукции фактора, ингибирующего миграцию лейкоцитов (LIF) — индекс спонтанной миграции  $0,68 \pm 0,05$ , что свидетельствует о высокой активности воспалительного процесса [7, 8]. При этом обращает на себя внимание снижение продукции LIF в присутствии тканеспецифических антигенов. Миграционный индекс (МИ) на антигены костной ткани составил  $1,15 \pm 0,05$ ; пульпозного ядра —  $1,24 \pm 0,02$ ; фиброзной ткани —  $1,39 \pm 0,02$ ; хряща —  $1,2 \pm 0,04$ ; синовиальной оболочки —  $1,18 \pm 0,05$ . Наблюдаемое повышение миграции лейкоцитов в присутствии данных антигенов свидетельствует об усиленной выработке лейкоцитами фактора MstF, ускоряющего миграцию, который достаточно хорошо изучен и имеет большую клиническую значимость в аутоиммунных тканеспецифических процессах наряду с LIF [9, 10]. А определение миграционной активности лейкоцитов к тканевым антигенам в условиях повышенной продукции LIF или MstF позволяет установить характер аутоиммунной

защиты к антигенам соединительной ткани (по торможению или ускорению миграции лейкоцитов) и предупредить повреждающие аутоиммунные эффекты то ли LIF, то ли MstF, тем самым уменьшая выраженность воспалительно-деструктивных процессов.

В присутствии бактериальных антигенов у больных отмечено торможение миграционной активности лейкоцитов: для *Str. pyogenes* МИ равен  $0,9 \pm 0,04$ ; *Ps. aeruginosa* —  $0,93 \pm 0,04$ ; *St. aureus* —  $0,97 \pm 0,04$ ; *E. coli* —  $0,96 \pm 0,05$ . Это свидетельствует о бактериальной сенсibilизации и необходимости проведения иммунокоррекции на фоне антибиотикотерапии с учетом чувствительности данных возбудителей.

Следует отметить выявленные при корреляционном анализе по Спирмену достоверные взаимосвязи наличия бактериальной и тканевой сенсibilизации (табл. 2). Так, определяются корреляции между МИ на антигены пульпозного ядра и антигенами *St. aureus* ( $r = 0,61$ ;  $p < 0,01$ ), *Str. pyogenes* ( $r = 0,55$ ;  $p < 0,01$ ), МИ на антигены фиброзной ткани и *St. aureus* ( $r = 0,49$ ;

Таблица 2

**Взаимосвязи тканевой и бактериальной сенсibilизации  
у больных воспалительно-деструктивными заболеваниями позвоночника и суставов**

Антигены	<i>St. aureus</i>	<i>Str. pyogenes</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>
пульпозного ядра	0,61 *	0,55 *	**	**
фиброзной ткани	0,49 *	0,50 *	**	**
хряща	0,29 *	0,40 *	0,29	0,44
кости	0,32	0,34 *	0,32 *	0,41 *
синовиальной оболочки	0,49 *	0,38 *	0,43 *	0,45 *

\*  $p < 0,01$ .

\*\* Корреляционный анализ не проводился из-за недостаточного количества данных.

$p < 0,01$ ), *Str. pyogenes* ( $r = 0,5$ ;  $p < 0,01$ ), МИ на антигены хряща и *St. aureus* ( $r = 0,29$ ;  $p < 0,01$ ), *Str. pyogenes* ( $r = 0,4$ ;  $p < 0,01$ ), *Ps. aeruginosa* ( $r = 0,29$ ;  $p < 0,01$ ), *E. coli* ( $r = 0,44$ ;  $p < 0,01$ ), МИ на антигены костной ткани и *St. aureus* ( $r = 0,32$ ;  $p < 0,01$ ), *Str. pyogenes* ( $r = 0,34$ ;  $p < 0,01$ ), *E. coli* ( $r = 0,41$ ;  $p < 0,01$ ), *Ps. aeruginosa* ( $r = 0,32$ ;  $p < 0,01$ ), *Str. pyogenes* ( $r = 0,32$ ;  $p < 0,01$ ), МИ на антигены синовиальной оболочки и *St. aureus* ( $r = 0,49$ ;  $p < 0,01$ ), *E. coli* ( $r = 0,45$ ;  $p < 0,01$ ), *Ps. aeruginosa* ( $r = 0,43$ ;  $p < 0,01$ ).

Полученные корреляции свидетельствуют о сходстве в структурах бактериальных и тканевых антигенов и объясняют повреждающее влияние защитных механизмов иммунного ответа по отношению к собственным тканям, что подтверждает необходимость определения индивидуальной сенсibilизации к определенному виду микроорганизма и степени вовлеченности соединительной ткани в аутоиммунный процесс. Это позволяет индивидуально, своевременно и строго специфично воздействовать на микроб-возбудитель с учетом спектра антибактериального действия и уменьшать выраженность аутоиммунного ответа. В этом отношении РИМЛ более точно определяет индивидуальный ответ к целому ряду микробного пейзажа, нежели бактериологическое исследование, при котором не всегда удается выделить и обнаружить причинный патогенный фактор, а тем более характер индивидуального к нему иммунного ответа.

Для оценки возможностей терапевтического воздействия на процессы аутоиммунного тканеспецифического повреждения нами проведен корреляционный анализ специфических показателей и уровня аутоиммунных лимфоцитотоксических и гранулоцитотоксических антител. Так, выявлены корреляционные взаимосвязи между уровнем аутоиммунных лимфоцитотоксических антител и МИ на антигены пульпоз-

ного ядра ( $r = 0,44$ ;  $p < 0,01$ ), МИ на фиброзную ткань ( $r = 0,41$ ;  $p < 0,01$ ), МИ на кость ( $r = 0,30$ ;  $p < 0,01$ ), МИ на хрящ ( $r = 0,30$ ;  $p < 0,01$ ). Присутствие гуморальных факторов в аутоиммунном ответе на тканевые антигены с вовлечением аутоиммунных лимфоцитотоксических антител позволяет предложить способ подбора сорбентов *in vitro* для связывания избыточного количества аутоиммунных лимфоцитотоксических антител и их повреждающего эффекта в отношении соединительной ткани, что клинически выразится в уменьшении воспалительного процесса. В лимфоцитотоксическом тесте в большинстве случаев снижение уровня аутоиммунных лимфоцитотоксических антител наблюдалось в присутствии неогемодеза и реосорбилакта, что позволяет рекомендовать их индивидуальный подбор и применение в случае ускорения миграции лейкоцитов на тканевые антигены в дозе 40–60 мл через день внутривенно № 3–5 с обязательным последующим иммунологическим контролем для оценки характера миграционной активности лейкоцитов и дальнейшего подбора иммунокорректора на стадии перехода активного воспаления в процессы репаративного фиброза.

## Выводы

Результаты исследования свидетельствуют о наличии выраженной тканевой аутосенсibilизации при воспалительно-деструктивных заболеваниях суставов и позвоночника, которая опосредована микробным влиянием согласно полученным корреляционным взаимоотношениям. Присутствие аутоиммунных лимфоцитотоксических антител ассоциировано с аутоиммунным ответом с вовлечением гуморальных факторов на тканевые антигены. Для быстрого и специфического определения причинного микробного пейзажа в инициации воспалительно-деструктивных заболеваний суставов и позвоночника применимы РИМЛ,

а подбор иммуносорбентов с целью связывания аутоиммунных лимфоцитотоксических антител в лимфоцитотоксическом тесте позволяет предупредить гуморальный аутоиммунный ответ, опосредующий явления воспалительного и болевого синдрома.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

### Список литературы

1. Альфакальцидол в регенерации кости / Н. А. Корж, Н. В. Дедух, Л. Д. Горидова [и др.] // Ортопедия, травматология и протезирование. — 2013. — № 1. — С. 73–83. — DOI: 10.15674/0030-59872013173-83.
2. Tanaka T. The biology and medical implications of interleukin-6 / T. Tanaka, T. Kishimoto // *Cancer Immunol. Res.* — 2014. — Vol. 2 (4). — P. 288–293. — DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-14-0022.
3. Делевский Ю. П. Особенности иммунологического статуса при различных формах hip-spine синдрома / Ю. П. Делевский, А. Н. Хвисюк, Н. А. Заржецкая // Ортопедия, травматология и протезирование. — 1999. — № 4. — С. 94–98.
4. Способ определения циркулирующих иммунных комплексов / Б. Б. Шойбонов, В. Ю. Баронец, Л. Ф. Панченко, А. А. Кубатиев // Патогенез. — 2013. — № 11 (1). — С. 74–79.
5. Oxidative stress and leukocyte migration inhibition response in cutaneous adverse drug reactions / P. Verma, S. N. Bhattacharya, B. D. Banerjee, N. Khanna // *Indian J. Dermatology, Venereology and Leprology.* — 2012. — Vol. 78 (5). — Article 664. — DOI: 10.4103/0378-6323.100519.
6. Профилактика и лечение невынашивания беременности и лейкоцитарной несовместимости : методические рекомендации / А. Д. Исаева, Т. М. Новаченко, Ю. П. Делевский [и др.]. — X., 1975. — 19 с.
7. Yukitake H. Macrophage migration inhibitory factor as an emerging drug target to regulate antioxidant response element system / H. Yukitake, M. Takizawa, H. Kimura // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* — 2017. — Vol. 2017. — Article 8584930. — DOI: 10.1155/2017/8584930.
8. Kim K. W. Macrophage migration inhibitory factor: a potential therapeutic target for rheumatoid arthritis / K. W. Kim, H. R. Kim // *Korean J. Intern Med.* — 2016. — Vol. 31 (4). — P. 634–642. — DOI: 10.3904/kjim.2016.098.
9. Florence M. M. Migration Stimulating Factor, the search for inhibitors: doctor of philosophy / M. M. Florence. — University of Dundee, 2013. — 395 p.
10. Tsai T. J. Probing the dose-dependent effect of migration stimulating factor-like drug on fibroblast migration using optical tweezers / T. J. Tsai // *Biophysical Journal.* — 2016. — Vol. 110 (3). — P. 134a. — DOI: 10.1016/j.bpj.2015.11.769.

Статья поступила в редакцию 23.03.2017

## OPTIMIZATION OF TREATMENT OF PATIENTS WITH INFLAMMATORY-DESTRUCTIVE DISEASES OF THE SPINE AND JOINTS, TAKING INTO ACCOUNT SPECIFIC IMMUNOLOGICAL PARAMETERS

N. A. Korzh<sup>1</sup>, F. S. Leontyeva<sup>1</sup>, V. Yu. Dielievskaya<sup>2</sup>, N. A. Zarzhetskaya<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Sytenko Institute of Spine and Joint Pathology, Kharkiv, Ukraine

<sup>2</sup> Kharkiv National Medical University, Ukraine

✉ Mykola Korzh, MD, Prof. in Orthopaedics and Traumatology: mykola.korzh47@gmail.com

✉ Frieda Leontyeva, PhD in Biol. Sci: alwisia@i.ua

✉ Valentyna Dielievskaya, PhD: valentinka\_1987@ukr.net

✉ Nadiia Zarzhetska: dielvn@gmail.com