

И.А. Гольдина, В.В. Павлов, В.М. Прохоренко, И.В. Сафронова,
К.В. Гайдуль, В.А. Козлов

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КОКСАРТРОЗА, АССОЦИИРОВАННОГО С *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*

ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск
ФГУ Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии Росздрава, г. Новосибирск

Проведены исследования частоты выявления ДНК *Chlamydia trachomatis* в синовиальной ткани тазобедренного сустава у больных коксартрозом. Обнаружено, что в 23,8% случаев коксартроз ассоциирован с *Chlamydia trachomatis*. Инфицирование синовиальной ткани тазобедренного сустава сопровождается увеличением количества моноцитов, фибриногена и СОЭ, а также морфологическими признаками хронического инфекционного воспаления.

Ключевые слова: *Chlamydia trachomatis*, синовиальная ткань, коксартроз

Введение

Хламидии являются эволюционно обособленной группой эубактерий, характеризующейся облигатным внутриклеточным существованием и уникальным двухфазным циклом развития, который начинается с проникновения инфекционных, метаболически инертных элементарных телец в клетку — хозяина с последующей дифференцировкой в метаболически активные ретикулярные тельца. После 8-12 раундов бинарного деления ретикулярные тельца вновь превращаются в элементарные тельца, выходящие из клетки и инициирующие следующий цикл развития микроорганизма [14].

Chlamydia trachomatis, атипичная грамотрицательная бактерия, отличающаяся от других эубактерий отсутствием пептидогликанового слоя в клеточной стенке, рассматривается как возбудитель широкого спектра заболеваний, сопровождающихся значительными нарушениями функций различных органов и систем. Серовары *Chlamydia trachomatis* А — С ответственны за развитие заболеваний глаз, в частности трахомы, приводящей к слепоте. Серовары D — K вызывают поражение урогенитального тракта, бесплодие, реактивные артриты и перигепатиты, сопровождающиеся хроническим воспалением, с повреждением ткани и фиброзом [10]. Для *Chlamydia trachomatis* характерна способность к диссеминации от места первичного проникновения инфекции и длительная персистенция в различных анатомических локализациях, с формированием хронического иммунного ответа [4, 12]. Персистенция, модифицированное биологическое состояние микроорганизма, характеризуется изменением нормального цикла

развития и метаболических свойств. Первично *Ch. trachomatis* персистируют в моноцитах/макрофагах синовиальной ткани, в этой стадии микроорганизмы остаются метаболически активными, но морфологически aberrantными [13]. Персистирующие *Ch. trachomatis* значительно снижают продукцию инфекционных экстрацеллюлярных форм (элементарных телец), что свидетельствует об остановке цикла развития на поздних стадиях [3]. В условиях персистенции снижается уровень транскрипции *omp1*, кодирующего основной белок наружной мембраны, в то время как экспрессия *hsp60*, кодирующего высокоиммуногенный протеин теплового шока, значительно усиливается [9, 13].

В настоящее время установлено, что *Ch. trachomatis* ассоциирована с возникновением реактивных артритов, развивающихся у 1-3% больных после перенесенной урогенитальной инфекции, вызванной *Ch. trachomatis*, а также в ряде случаев у пациентов с недифференцированными серонегативными олигоартритами, спондилоартропатией, ревматоидным артритом [6,7]. В то же время, единичные сообщения свидетельствуют о том, что *Ch. trachomatis* обнаруживаются в суставах практически здоровых людей, без каких-либо клинических признаков артрита [5], а также больных остеоартрозом [8].

Учитывая способность *Ch. trachomatis* к длительной персистенции, отсутствие выраженной клинической симптоматики, диагностика хламидиоза представляет значительные трудности, что, в свою очередь, приводит к распространению и хронизации заболевания, а также к возникновению экстрагенитальной патологии, в частности патологии суставов.

Так как экспериментально показана возможность инфицирования хламидиями не только эпителиальных клеток, моноцитов и макрофагов, но и клеток соединительной ткани, в частности фибробластов кожи человека и хондроцитов суставного хряща [2], целью данной работы явилось изучение частоты выявления *Chlamydia trachomatis* в синовиальной ткани больных идиопатическим коксартрозом и клинико-морфологических особенностей коксартроза, ассоциированного с *Chlamydia trachomatis*.

Материалы и методы исследования

Исследования проведены в группе 164 больных идиопатическим коксартрозом, поступивших для первичного эндопротезирования тазобедренного сустава (ТБС) в ФГУ Новосибирский НИИТО Росздрава в период 2002-2005 гг. Больные были представлены 77 мужчинами и 87 женщинами в возрасте от 25 до 68 лет, которым ранее не проводилось каких-либо хирургических манипуляций в области предполагаемого оперативного вмешательства (Таблица 1).

Таблица 1

Распределение больных идиопатическим коксартрозом по полу и возрасту

Больные, включенные в исследование	18-30 лет	31-40 лет	41-50 лет	51-60 лет	Старше 61 года	Всего
<i>Ch. trachomatis</i> позитивные	2	8	11	14	4	39
<i>Ch. trachomatis</i> негативные	13	34	41	23	14	125
Мужчины	8	20	25	18	6	77
Женщины	7	22	27	19	12	87
Всего	15	42	52	37	18	164

Основными критериями отбора больных в группу исследования были:

- установленный диагноз идиопатического коксартроза
- отсутствие клинических и лабораторных признаков реактивного артрита, в том числе данных анамнеза о перенесенной в недавнее время урогенитальной инфекции, симптомов поражения глаз, кожи и слизистых оболочек, повышения температуры тела, поражения сухожильно — связочного аппарата сустава.
- отсутствие в сыворотке крови всех исследованных больных ревматоидного фактора в диагностическом титре и антител к нативной и денатурированной ДНК.

Протокол исследования соответствовал этическим стандартам и был регламентирован этическим комитетом ФГУ Новосибирского НИИТО Росздрава в соответствии с Хельсинкской Декларацией Всемирной ассоциа-

ции «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Министерства РФ № 266 от 19.06.2003 г.

Клиническое обследование проводилось с использованием общепринятых ортопедических методик осмотра.

Рентгенологическое обследование больных заключалось в обзорной рентгенографии таза, а также в прямой и боковой проекциях пораженного тазобедренного сустава. В комплекс лабораторных методов исследования входил общий анализ крови, выполнявшийся в соответствии со стандартными процедурами с расчетом лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИ).

Морфологически исследовали операционный материал (синовиальная оболочка, головка бедренной кости и параартикулярные ткани). После стандартной обработки готовили парафиновые срезы, окрашенные гематоксилином и эозином, а также по Ван Гизону.

Детекция ДНК *Chlamydia trachomatis* проводилась методом полимеразной цепной реакции. Образцы синовиальной ткани, полученные интраоперационно из области переходной складки измельчали и гомогенизировали. ДНК выделяли с использованием тест-системы ВектоДНК — экстракция — 3 (Вектор-Бест, Новосибирск). Амплификацию полученной ДНК осуществляли с использованием пар олигонуклеотидных праймеров, гомологичных консервативным участкам антипараллельных цепей ДНК *Ch. trachomatis*. («ВектоХлами — ДНК — ампли — 100», Вектор-Бест, Новосибирск), в программируемом амплификаторе «Терцик» (ДНК-технологии, Москва) в следующем режиме: 1 цикл: 94° — 1 мин; 94° — 1 мин; 94° — 1 мин. 30 циклов: 94° — 0,6 мин; 58° — 0,6 мин; 72° — 0,6 мин. 1 цикл: 72° — 1 мин; 72° — 1 мин. Продукты амплификации анализировали методом электрофореза в 2% геле агарозы с добавлением бромистого этидия (ВектоДНК — ЭФ, Вектор-Бест, Новосибирск). Полученный сегмент ДНК соответствующего размера выявляли в виде дискретной полосы после электрофоретического разделения молекул ДНК. Положительными считали образцы с наличием в геле видимой полосы ДНК, соответствующей по длине ДНК контрольного образца (501 пара нуклеотидов) [1, 11].

Математическая обработка результатов проводилась методами параметрической и непараметрической статистики на персональном компьютере с использованием программы «Statistica 5.0».

исс
ми
в 1
двх

лис
раа
кли
нар

бол
ны
дов
тка
ван
рос

ТБС
нар
ных
1

мон
чест
ран
тал
trac
31-5
Г

суст
мир
раци
суст
щел
цин
скле
лах
щев
хрящ
имел
слое
ных
— пр
груп
лаку
ние
стро
набл
тонк
мент
боки
микро
эозин
воло
кости

Результаты исследования

Клинически у всех больных, включенных в исследование, были выявлены признаки деформирующего артроза ТБС, которые заключались в выраженном болевом синдроме, ограничении движений, хромоте, укорочении конечности.

Рентгенологически у всех пациентов отмечались признаки гиперплазии костной ткани с параартикулярными оссификатами и центральным клиновидным остеопитом, который приводил к наружному смещению головки бедренной кости.

В ходе оперативного вмешательства у этих больных были выявлены признаки воспалительных изменений в виде синовита, инъекции сосудов, гиперплазии капсулы ТБС, синовии, костной ткани сустава. При бактериологическом исследовании материала из области операционной раны роста патогенных микроорганизмов отсутствовал.

При исследовании синовиальной оболочки ТБС методом полимеразной цепной реакции обнаружена ДНК *Ch. trachomatis* у 39 (23,8%) больных коксартрозом.

Изучение анамнестических данных продемонстрировало, что только у 2 из общего количества *Ch. trachomatis*-позитивных больных был ранее (более 1 года) диагностирован урогенитальный хламидиоз. Наибольшее количество *Ch. trachomatis*-позитивных пациентов — в возрасте 31-50 лет.

При морфологическом исследовании тканей сустава у всех больных отмечены признаки деформирующего артроза, характеризующегося дегенерацией, истончением и локальным разрушением суставного хряща, сопровождающегося щелеобразованием и глубокими трещинами, с развитием субхондрального склероза и появлением в краевых отделах суставной поверхности костно-хрящевых разрастаний. В толще суставного хряща, наряду с очагами оссификации, имело место нарушение архитектоники слоев, пролиферация мелких и крупных хондроцитов, в некоторых случаях — пролиферация гигантских изогенных групп клеток. Субхондрально — явления лакунарной резорбции, кистообразование и элементы костно-хрящевой перестройки. В губчатой кости, как правило, наблюдались хаотично расположенные тонкие, редкие костные балки, с элементами микропереломов. В более глубоких участках кости — остеосклероз, микрокисты, содержащие бесклеточное эозинофильное вещество или рыхло-волокнистую соединительную ткань. В костном мозге — островки фибротиза-

ции, окруженные склерозированными балками. В синовиальной оболочке имели место диффузный склероз и диффузная полиморфноклеточная инфильтрация. В группе *Ch. trachomatis* — позитивных больных в отечной, склерозированной ткани синовии имела место гиперплазия и гипертрофия ворсин в виде массивных сосочковых древовидных разрастаний с выраженной неравномерной диффузно-очаговой пролиферацией синовиоцитов, с усиленным ангиоматозом стромы и преобладанием преимущественно очаговых (фолликулоподобных) лимфоидно-макрофагальных инфильтратов. Перестройка сосудистого русла характеризовалась увеличением числа сосудов субсиновиального слоя, ангиоматозом. В стенках сосудов — склеротические изменения, очаговый гиалиноз с облитерацией просвета, увеличение количества лимфатических сосудов с кистозно расширенными просветами, мононуклеарная инфильтрация сосудистой стенки, очаговая и диффузно-очаговая лимфо-плазмочитарная инфильтрация с формированием фолликулоподобных структур.

При исследовании общеклинических лабораторных показателей в предоперационном периоде и на 5-7-й день после операции у *Ch. trachomatis*-позитивных пациентов было обнаружено достоверное увеличение количества моноцитов, фибриногена и СОЭ в предоперационном периоде (Таблица 2).

Таким образом, обнаружение *Chlamydia trachomatis* в синовиальной ткани у больных идиопатическим коксартрозом позволяет предполо-

Таблица 2.

Основные параметры общеклинических лабораторных показателей в предоперационном и послеоперационном периодах ($M \pm m$)

Исследуемый параметр	До операции		5-7 сутки после операции	
	<i>Ch. trachomatis</i> позитивные	<i>Ch. trachomatis</i> негативные	<i>Ch. trachomatis</i> позитивные	<i>Ch. trachomatis</i> негативные
Гемоглобин, г/л	134,6 $\pm$ 2,83	140,5 $\pm$ 2,66	99,8 $\pm$ 2,66	100 $\pm$ 2,67
Эритроциты, 10 ¹² /л	4,29 $\pm$ 0,08	4,34 $\pm$ 0,07	3,22 $\pm$ 0,08	3,27 $\pm$ 0,06
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	237,2 $\pm$ 5,02	237,7 $\pm$ 4,3	212,7 $\pm$ 7,34	200,2 $\pm$ 4,68
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	6,2 $\pm$ 0,29	5,5 $\pm$ 0,19	7,04 $\pm$ 0,41	6,9 $\pm$ 0,36
Сегментоядерные, %	57,8 $\pm$ 1,5	58,3 $\pm$ 1,5	62 $\pm$ 1,6	64 $\pm$ 1,4
Палочкоядерные, %	3,98 $\pm$ 0,46	4,4 $\pm$ 0,49	9,4 $\pm$ 1,2	9,4 $\pm$ 1,0
Эозинофилы, %	3,08 $\pm$ 0,41	2,57 $\pm$ 0,45	2,5 $\pm$ 0,32	2,15 $\pm$ 0,36
Базофилы, %	0,43 $\pm$ 0,11	0,26 $\pm$ 0,07	0,3 $\pm$ 0,01	0,19 $\pm$ 0,07
Лимфоциты, %	30,2 $\pm$ 1,4	31,2 $\pm$ 1,5	21,9 $\pm$ 1,1	20,5 $\pm$ 1,2
Моноциты, %	4,43 $\pm$ 0,47**	3,0 $\pm$ 0,32	3,7 $\pm$ 0,29	3,6 $\pm$ 0,36
Общий белок, г/л	73,6 $\pm$ 1,2	71,7 $\pm$ 0,99	61,6 $\pm$ 1,3	59,2 $\pm$ 1,2
ЛИИ	1,02 $\pm$ 0,19	1,12 $\pm$ 0,17	1,85 $\pm$ 0,32	2,28 $\pm$ 0,33
СОЭ, мм/ч	21,05 $\pm$ 1,64*	17,65 $\pm$ 1,71	47,2 $\pm$ 2,52	40,6 $\pm$ 2,76
Фибриноген, г/л	3,56 $\pm$ 0,12*	3,31 $\pm$ 0,12	4,1 $\pm$ 0,22	3,8 $\pm$ 0,17

Примечание: Достоверные отличия между сравниваемыми группами, * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$

жить наличие взаимосвязи данного возбудителя с возникновением и развитием патологического процесса в суставе. Это предположение находит подтверждение данными состава периферической крови перед проведением оперативного вмешательства у больных, в частности увеличением количества моноцитов, фибриногена и СОЭ, что свидетельствует о наличии хронического воспаления с вовлечением моноцитов и макрофагов, в которых и происходит персистенция *Chlamydia trachomatis*. Обнаружение морфологических отличий в структуре тазобедренного сустава больных коксартрозом, инфицированных и неинфицированных *Chlamydia trachomatis*, также свидетельствует в пользу наличия ассоциативной взаимосвязи между обнаружением персистирующего возбудителя и развитием патологического процесса в суставе.

Отсутствие роста патогенной микрофлоры при проведении бактериологического исследования материала из операционной раны согласуется с данными о том, что диагностика *Ch. trachomatis* культуральными методами, являющимися золотым стандартом диагностики, неэффективна [3].

Обнаружение ДНК *Ch. trachomatis* методом ПЦР в синовиальной ткани тазобедренного сустава, характерные изменения общеклинических показателей и морфологической картины свидетельствуют о том, что *Ch. trachomatis*, персистируя в эпителии, синовии, хряще ТБС, при наличии стертой клинической симптоматики, вызывает поражение сустава, протекающее как остеоартроз.

Заключение

У больных коксартрозом в 23,8% случаев определяется инфицирование синовиальной ткани сустава *Ch. trachomatis*, что сопровождается увеличением количества моноцитов, фибриногена и СОЭ, а также морфологическими признаками хронического инфекционного воспаления в форме гиперплазии и гипертрофии ворсин, массивных сосочковых древовидных разрастаний, с усилением пролиферации синовиоцитов, ангиоматозом стромы и преобладанием лимфоидно-макрофагальных инфильтратов, а также перестройкой сосудистого русла.

THE CLINICAL AND MORPHOLOGICAL SPECIALITIES OF COXAARTHROSIS, ASSOCIATED WITH CHLAMYDIA TRACHOMATIS

I.A. Goldina, V.V. Pavlov, V.M. Prochorenko, I.V. Safronova, K.V. Gaidul, V.A. Kozlov

The frequency of the detection of *Chlamydia trachomatis* DNA on synovial tissue of coxae arthritis patients were studied. Association of *Chlamydia trachomatis* with coxae arthritis was determined in 23,8% of

cases. Increasing of monocyte's quantity, fibrinogen content, the velocity of erythrocytes precipitation and morphological signs of chronic infectious injury allow the infection of coxae synovial tissue.

Литература

1. Новые генетические технологии / С.Н. Щербо, Н.Ю. Земляной, Л.С. Балевой, и др. — М., 1998. — 119 с.
2. О патогенетических аспектах урогенных артритов, ассоциированных с хламидиями: возможность микроорганизма размножаться в клетках суставного хряща / А.Ф. Панасюк, С.И. Солдатова, С.В. Шубин, Н.И. Колкова // Терапевтический архив. — 1998. — №5. — С. 45-48.
3. Beatty W.L. Persistent Chlamydiae: from cell culture to a paradigm for chlamydial pathogenesis / W.L. Beatty, R.P. Morrison, G.L. Byrne // Microbiol. Rev. — 1994. — Vol. 58. — P. 686-699.
4. Chlamydia-associated arthritis / R.D. Inman, J.A. Whittam — Hudson, H.R. Shumacher, A.P. Hudson // Curr. Opin. Rheumatol. — 2000. — №12. — P. 254-262.
5. Chlamydia trachomatis nucleic acids can be found in the synovium of some asymptomatic subjects / H.R. Shumacher, T. Arayssi, M. Crane et al. // Arthritis rheum. — 1999. — Vol. 42. — P. 1281-1284.
6. Cytokine profile in serum and synovial fluid of arthritis patients with Chlamydia trachomatis infection / M.C. Jendro, E. Raum, S. Schnarr et al. // Rheumatol. Int. — 2005. — Vol. 25. — P. 37-41.
7. Frequency of triggering bacteria in patients with reactive arthritis and undifferentiated oligoarthritis and the relative importance of the tests used for diagnosis / C. Fendler, S. Laitko, H. Sorensen et al. // Ann. Rheum. Dis. — 2001. — Vol. 60. — P. 337-343.
8. Intra-articular co-infection by *Borrelia burgdorferi* and *Chlamydia trachomatis* / N. Putschky, S. Schnarr, J. Wollenhaupt et al. // Ann. Rheum. Dis. — 2001. — Vol. 60. — P. 632-634.
9. Jones M.L. Induction of abnormal *Chlamydia trachomatis* by exposure of interferon — γ or amino acid deprivation and comparative antigenic analysis / M.L. Jones, J.S. Hill Gaston, J.H. Pearse // Microb. Pathogen. — 2001. — Vol. 30. — P. 299-309.
10. Mardh P.A. Tubular factor infertility, with special regard to chlamydial salpingitis / P.A. Mardh // Curr. Opin. Infect. Dis. — 2004. — Vol. 17. — P. 49-52.
11. Sambrook J. Molecular cloning: a Laboratory manual / J. Sambrook, E.F. Fritsch, T. Maniatis. — New York: Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor / — 1989. — 479 p.
12. Stramm W.E. Chlamydia trachomatis infections: progress and problems / W.E. Stramm // J. Infect. Dis. — 1999. — Vol. 179. — P. 380-383.
13. Synovial Chlamydia trachomatis in patients with reactive arthritis / Reiter's syndrome are available but show aberrant gene expression / H.C. Gerard, P.J. Braanigan, H.R. Shumacher, A.P. Hudson // J. Rheumatol. — 1998. — Vol. 25. — P. 734-742.
14. Wolf K. Ultrastructural analysis of developmental events in *Chlamydia pneumoniae*-infected cells / K. Wolf, E. Fischer, T. Hackstadt // Infect. Immunol. — 2000. — Vol. 68. — P. 2379-2385.