

КЛИНИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ВНУТРИСУСТАВНОЙ ТЕРАПИИ ОСТЕОАРТРИТА ЛЕКАРСТВЕННЫМИ СРЕДСТВАМИ НА ОСНОВЕ СЫВОРОТКИ КРОВИ

Гомельский государственный медицинский университет,
Институт механики металлополимерных систем
им. В. А. Белого НАН Беларуси

Остеоартрит (ОА, остеоартроз) является самым распространенным ревматическим заболеванием, основной причиной нарушений функций суставов у 10—12% населения Земли, занимая второе место среди причин временной нетрудоспособности [1]. В индустриально развитых странах более 40% лиц пожилого возраста страдают этим заболеванием. В XXI веке патология суставов стала глобальной проблемой, причиной страданий и потери трудоспособности у миллионов людей, бременем для общества, предметом внимания ВОЗ и ООН [2].

Дегенерация суставов в виде ОА развивается после травм, оперативных вмешательств, при врожденных и приобретенных нарушениях биомеханики суставов, а также в результате перенесенных инфекционных или иммунопатологических заболеваний. Независимо от этиологических факторов, патогенез деструктивно-воспалительных изменений синовиальной среды при ОА связывают с доминированием в гиалиновом хряще катаболических реакций, осуществляемых под действием ферментов — металлопротеиназ (коллагеназа, стромелизин, желатиназа), провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, α -ФНО, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-11), простагландинов, агрегганазы, оксида азота и др. [3]. Анаболические процессы в хрящевой ткани — синтез противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13), коллагена и протеогликанов — напротив, угнетаются. Процесс деструкции хряща усугубляется структурными изменениями и ухудшением смазочной способности синовиальной жидкости (СЖ). Изменения СЖ происходят на молекулярном уровне (снижается молекулярная масса белков и гиалуроновой кислоты), на уровне комплексных соединений (разрушение гидратных оболочек вокруг полярных структур СЖ, перестройки жидкокристаллической фазы), а также на надмолекулярном уровне (перестройка надмолекулярных белково-полисахаридных образований) [4]. Внесенные в сустав инфекционные агенты вызывают иммунологические осложнения вследствие того, что в СЖ накапливаются патологические антитела. Они специфически связываются с белками хряща и синовиальной оболочки таким образом, что измененная СЖ проявляет патологическую агрессивность по отношению к тканям собственного сустава.

Многообразие до конца не выясненных этапов этиопатогенеза ОА обусловило отсутствие в настоящее время эффективной терапевтической стратегии, позволяющей предотвратить прогрессирование заболевания и восстановить функцию суставов у пациентов с ОА. Это усугубляется следующим. Традиционно используемые в артрологии лекарственные средства (ЛС) — нестероидные противовоспалительные, глюкокортикостероидные, антибактериальные и противовирусные, иммуномодулирующие — прежде чем попасть в полость суставов, проходят метаболический путь через желудочно-кишечный тракт, кровь, печень, почки, депонируются в тканях организма [5]. Проникновение ЛС в суставы из крови при ОА затруднено воспалительными, спаечными и дегенеративными изменениями тканей капсулы сустава и синовиальной оболочки, утрачивающей свойства обменной и секреторной мембраны [6]. Это в значительной степени ослабляет эффект медикаментозной терапии суставов.

Одним из направлений комплексной терапии дегенеративных и воспалительных повреждений синовиальной среды суставов является введение ЛС в полость сустава. Оно отвечает тенденции современной ортопедии, состоящей в хондропротекции — защите трения сустава от деструкции и изнашивания методами лечебной коррекции, направленными на поддержание физиологической регенерации хряща и нормализацию структуры компонентов синовиальной среды сустава. Стала актуальной разработка многофункциональных абсолютно совместимых с организмом человека лечебно-смазочных жидкостей, введение которых в сустав решало бы комплекс задач: восстановление нормального режима смазки, подавление воспаления, «оживление» функций синовиальной оболочки, регенерация поврежденных участков поверхностей трения хрящей [7]. Анализ проблемы хондропротекции и экспериментальный поиск биосовместимого заменителя СЖ привел к выводу о возможности использования в качестве смазочной жидкости для суставов сыворотки крови человека [8].

Новым направлением трансфузионно-инфузионной терапии — введения человеку крови, компонентов и препаратов крови, кровезамещающих растворов с лечебной целью — стала интраартикулярная терапия ОА сывороткой крови или трансфузионная хондропротекция [9, 10]. При лечении ОА обнаружилась целесообразность модифицирования собственной сыворотки крови пациента препаратами направленного действия. Такое модифицирование можно осуществить в организме самого пациента. С учетом этиопатогенеза заболевания, основываясь на анамнезе и используя перечень наиболее эффективных для пациента ЛС, выбирают необходимый препарат. В зависимости от лекарственной формы его можно ввести в организм пациента перорально, внутримышечно или внутривенно. Время наступления максимальной концентрации ЛС в крови указано в инструкции по фармакокинетике ЛС. В период, когда концентрация ЛС в плазме крови происходит

дит биосинтез нового транспортного лекарственного комплекса. Избыточное комплексообразование невозможно, так как в сыворотке крови пациента изначально имеется лишь определенное, присущее только ему, количество белковых молекул. Таким образом, организм естественным образом определяет максимально возможную лечебную концентрацию ЛС.

Целью исследования явилась разработка и клиническая апробация индивидуальных биосовместимых ЛС на основе сыворотки крови для интраартикулярной хондропротекции при ОА разной этиологии.

Материал и методы

Сравнительную оценку биохимического и белкового составов СЖ и сыворотки крови проводили методом стандартного лабораторного биохимического анализа и электрофореза по Laemmli в 10% полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия на приборе «Mini Protean II» фирмы «Bio-Rad» (США). Структуру и трибологические (смазочные) свойства изучали методами электретно-термического и трибологического анализа, применяемыми в физике конденсированного состояния [11]. Использование оригинального трибометра маятникового типа позволило создать в зоне трения постоянное магнитное поле напряженностью ~1 кА/м, которое применяют для терапевтического воздействия на синовиальные суставы [12].

Для оценки специфических симптомов и ограничения функции суставов использовали принятую для коленных суставов международную рейтинговую систему HSS (Hospital for Special Surgery, Нью-Йорк) [13]. Согласно этой шкале функцию здорового сустава оценивают в 100 баллов. По системе HSS оценивали функцию коленного сустава до, после каждой из 3 инъекций и спустя 4—6 мес после окончания лечения.

Модифицированную сыворотку крови получали следующим образом. После предварительного перорального или внутримышечного введения целевого ЛС на уровне его максимальной концентрации в крови (до наступления периода полувыведения ЛС) проводили забор 30 мл крови из локтевой вены. Шприц инкубировали при температуре 18—20°C в асептических условиях в течение 5—6 ч в вертикальном положении. В результате фракционирования образовывалось 5—7 мл сыворотки, содержащей комплексы ЛС и белков, сгусток фибрина и осадок из клеток крови. Забор сыворотки осуществляли стерильным шприцем, иглу которого перед инъекцией в сустав вновь меняли на стерильную.

Клинические испытания с участием пациентов-добровольцев проводили с соблюдением этических норм и правил, установленных на 18-й Всемирной медицинской ассамблее в Хельсинки (1964) и адаптированных к современным проблемам медицинского эксперимента на 41-й Всемирной медицинской ассамблее в Гонконге в 1989 г. [14].

Достоверность результатов рядов парных сравнений в малой выборке оценивали разностным методом с расчетом критериев достоверности различий и их оценкой по таблицам Стьюдента.

Результаты и обсуждение

При сравнении биохимического и белкового составов СЖ и сыворотки крови обнаружена их идентичность за исключением отсутствия в сыворотке гиалуроновой кислоты, а в СЖ здорового человека — белка фибрина. Методом электретно-термического анализа путем нагревания проб жидкостей и регистрации температур разрушения молекулярных связей установлена структурная схожесть надмолекулярных образований СЖ и сыворотки крови. С помощью маятникового трибометра обнаружено, что сыворотка крови и СЖ обладают одинаково рекордно низким коэффициентом трения порядка 0,01, экспоненциально снижающимся под действием постоянного магнитного поля в течение 30—40 мин [8].

Группы пациентов (табл.) формировали по мере обращений к врачу с настоятельным требованием провести терапию коленных суставов. Опытную группу составили 12 пациентов (14 суставов) с клинико-рентгенологическими признаками ОА II—III стадии, которым ранее ортопедами была дана установка неизбежности эндопротезирования пораженных суставов и которые согласились с необходимостью операции.

В контрольную группу также вошло 12 пациентов с моноостеоартритами коленных суставов II—III стадии травматической и ревматоидной этиологии, проходившие в 2008—2009 гг. в отделении травматологии Гомельской городской клинической больницы № 1 лечение по стандартной технологии.

Этиопатогенетическую связь ОА с причиной, вызвавшей или отягчающей течение заболевания, устанавливали на основании истории заболевания, результатов анализов СЖ и крови.

У пациентов с посттравматическим ОА ранее были внутрисуставные переломы костей, операции менискэктомии и/или пластики крестообразных связок. Клеточный и биохимический составы СЖ находились в пре-

Характеристика пациентов с ОА коленных суставов

Этиология ОА	Количество пролеченных суставов	Средний возраст пациентов	Оценка функции суставов, средний балл		
			до лечения	после 1, 2 и 3 инъекций	после окончания лечения (мес)
Опытная группа					
Посттравматический	6	56	56	76/78/90	88 (5)
Ревматоидный	4	47	46	64/74/76	76 (4)
Бактериальный	2	51	58	64/83/88	86 (6)
Вирусный	2	43	55	60/71/76	76 (4)
Контрольная группа					
Посттравматический	6	54	57	60/66/76	78 (4)
Ревматоидный	6	46	44	48/56/68	70 (4)

делах нормы. При микроскопическом исследовании мазков СЖ обнаруживали единичные многоядерные клетки. Общий и биохимический анализы крови были в пределах нормы, или в крови обнаруживали слабоположительный С-реактивный белок.

У пациентов с ревматоидным артритом давность заболевания превышала 7 лет, терапия глюкокортикостероидами давала положительный эффект. В мазках СЖ при микроскопическом исследовании содержание нейтрофильных лейкоцитов колебалось в пределах 55—87%, присутствовали рагоциты. Содержание общего белка было увеличено до 53 г/л, преимущественно за счет γ -глобулинов, фибрина и С-реактивного белка. В анализах крови наблюдали увеличение содержания лейкоцитов, лимфоцитов, ускорение СОЭ. Положительные С-реактивный белок и ревматоидный фактор, диспротеинемия в виде увеличения содержания фракций α_2 - и γ -глобулинов в биохимическом анализе, а также обнаружение антигена гистосовместимости HLA DR4, Dw4 и DQ7 подтверждали диагноз.

Два пациента перенесли бактериальные артриты более 5 лет назад на фоне первичного ОА как осложнения внутрисуставных инъекций кеналога. В дальнейшем эти пациенты отмечали обострения болевого синдрома с синовитами 3—4 раза в год. При обострениях объем СЖ в суставах достигал 80 мл, вязкость ее была резко снижена, цитоз превышал $5 \cdot 10^9$ /л за счет нейтрофилов. У одного из пациентов во время последнего обострения из СЖ выделен *St. epidermidis*. Воспалительные изменения СЖ проявились снижением вязкости, мутностью, наличием хлопьев, увеличением числа нейтрофильных лейкоцитов до 71%, снижением концентрации глюкозы, повышением молочной кислоты. В анализах крови при обострениях отмечено увеличение содержания нейтрофильных лейкоцитов, ускорение СОЭ, резко положительный С-реактивный белок.

Вирусные синовиты диагностировали на основании эпидемиологического анамнеза: болевой синдром и синовит в пораженных ОА суставах возникли спустя 1,5 нед после обострения герпетической инфекции у одного из пациентов и через 5 сут после заболевания гриппом у второго. Спустя 1 нед после исчезновения кожных проявлений герпетической инфекции и 2 нед после излечения респираторной инфекции в СЖ из больных суставов и в крови пациентов обнаружили неспецифические умеренно выраженные воспалительные изменения.

Для целевого модифицирования сыворотки использовали разовые дозы препаратов (доксциклин, арбидол, циклоферон, полькортолон), традиционно применяемых при вышеперечисленных заболеваниях перорально или в виде внутримышечных инъекций. Время наступления максимальной концентрации ЛС в крови определяли исходя из информации, изложенной в инструкциях по их применению и руководствах по фармакокинетике [5]. Так, перорально принятая доза доксициклина в 200 мг через 2 ч связывается с белками крови на 93%, а в плазме устанавливается его максимальная терапевтически эффективная концентрация — 2,6 мкг/л, которая обладает не только антибактериальным, но и хондропротекторным эффектом за счет по-

давления матричных металлопротеиназ и синтазы оксида азота.

Максимальная концентрация арбидола в плазме крови устанавливается через 1,5 ч после приема 100 мг препарата. Арбидол образует в сыворотке комплексные соединения с альбумином, препятствующие контакту и проникновению вирусов гриппа А и В в клетки тканей сустава, подавляющие слияние липидной оболочки вируса с клеточными мембранами.

Циклоферон является низкомолекулярным индуктором интерферона, обладающим широким спектром биологической активности — иммуномодулирующей, антивирусной, противовоспалительной и др. Обогащенную циклофероном кровь забирали через 1—2 ч после внутримышечного или внутривенного введения 0,25 г ЛС.

После приема минимальной разовой дозы полькортолона (4 мг) его действующая субстанция триамцинолон легко всасывается из желудочно-кишечного тракта (биодоступность — 20—30%). Через 1—2 ч устанавливается его максимальная концентрация в крови пациента. Связывание триамцинолона с белками сыворотки (преимущественно с глобулинами) составляет 40%.

В опытной группе сыворотку, насыщенную доксициклином, вводили в коленные суставы пациентам с посттравматическим ОА и одному из пациентов с бактериальным синовитом (на основании чувствительности выделенного *St. epidermidis* к доксициклину). Пациентам с ревматоидным ОА интраартикулярно вводили композицию аутосыворотки и полькортолона. Арбидолом модифицировали сыворотку пациента, перенесшего грипп, а циклофероном — обострение герпетической инфекции. Инъекции модифицированной аутосыворотки в коленные суставы осуществляли трехкратно с интервалами 5—7 дней. Объем 1-й инъекции составлял 4—5 мл, 2-й и 3-й — 5—7 мл. Другого лечения, направленного на суставы, пациенты опытной группы не получали. Все пациенты отмечали уменьшение боли в суставах при нагрузках и значительное уменьшение или исчезновение в покое, уменьшение хруста, чувства скованности, возможность более длительного безболезненного пребывания ноги в вынужденном положении. Во время лечения осложнения и аллергические реакции у пациентов не зарегистрированы. Спустя 4—6 мес функция суставов всех пациентов осталась на достигнутом уровне, дозы принимаемых противовоспалительных и анальгезирующих ЛС уменьшились, а мысли о протезировании отвергнуты.

В контрольной группе пациентам с посттравматическим ОА проводили лечение нестероидными противовоспалительными средствами, физиотерапевтическими процедурами и инъекциями дипроспана или кеналога в больные суставы. Режим введения ЛС, сроки наблюдения за пациентами не отличались от таковых в опытной группе. Спустя 4 мес эффект терапии сохранялся на фоне прежних доз поддерживающих ЛС. Пациентам с ревматоидным артритом на фоне стандартной медикаментозной терапии вводили 3-кратно кеналог или дипроспан. Эффект лечения этих пациентов зафиксирован спустя 4 мес при продолжающейся терапии цитостатическими и противовоспалительными препаратами.

При статистическом анализе зависимых рядов разностным методом обнаружена высокая достоверность

(доверительная вероятность $P_{0,99}$ по таблице Стьюдента) улучшения результатов в опытной группе при оценке функции суставов как после каждой инъекции, так и спустя 3—4 мес после лечения. В группе сравнения пациенты после получения курса инъекций субъективно отмечали улучшение. Расчет критериев достоверности функций суставов в этой группе по системе HSS через 7 сут после 1 и 2 инъекций не обнаружил статистически значимых изменений (критерий достоверности различий попарных измерений при 2-й и 3-й стадиях гонартроза составил 1,9 и 2). Оценка функции суставов по окончании курса инъекций и спустя 4 мес достоверно подтвердила положительные результаты традиционного лечения ($P_{0,999}$), что связано с постепенной нормализацией обменных процессов в суставах на фоне общей противовоспалительной терапии.

Клинический эффект интраартикулярных инъекций сыворотки крови обусловлен тем, что ЛС, связанное с белками крови, не разрушаясь, в оптимальной концентрации попадает непосредственно в больной сустав, минуя метаболически активные органы и фиброзно измененную капсулу сустава. Это позволяет минимизировать дозу принимаемого ЛС и снизить риск побочных реакций. Вместо патологически измененной СЖ, содержащей продукты распада тканей, ферменты и т. д., полость сустава заполняется препаратом, богатым белками — носителями биологически активных веществ, благодаря чему трофика тканей сустава, белковый, водный, солевой обмен временно нормализуются. Введенная ауто сыворотка обладала лучшей смазочной способностью, нежели содержащаяся в полости сустава патологически измененная СЖ [15], что приводило к улучшению скольжения дегенеративно измененных хрящевых поверхностей костей. Таким образом, смазка больного сустава осуществлялась жидкостью, близкой по химическому составу СЖ человека, не имеющего проблем с суставами.

Способ лечения ауто сывороткой крови может быть реализован в больницах и поликлиниках по стандартной методике интраартикулярных инъекций. Предварительное насыщение сыворотки целевым ЛС позволяет повысить эффективность лечения при минимальных затратах времени и материальных ресурсов. Первичные результаты лабораторных и клинических исследований свидетельствуют о целесообразности дальнейшего изучения метаболических эффектов лекарственных композиций на основе сыворотки крови. Очевидна необходимость развития работ по трансфузионной хондропротекции с помощью специалистов сложившейся в Беларуси отечественной школы иммунологии, вирусологии и микробиологии [16]. Результатом станет разработка иммунобиологических препаратов для лечения ОА, подавляющих катаболические процессы в

суставах путем регулирования межклеточных и межмолекулярных про- и противовоспалительных взаимодействий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Цурко В. В. // Рус. мед. журн.— 2005.— Т. 13, № 24.— С. 1627—1631.
2. Сорока Н. Ф. // Здоровье.— 2001.— № 5.— С. 2—7.
3. Mort J. S., Billington C. J. // *Arthrit. Res.*— 2001.— Vol. 3 (Suppl. 6).— P. 337—341.
4. Пинчук Л. С., Чернякова Ю. М., Кадолич Ж. В. и др. // *Вестн. травматологии и ортопедии.*— 2005.— № 3.— С. 57—61.
5. Белоусов Ю. Б., Моисеев В. С., Лепахин В. К. *Клиническая фармакология и фармакотерапия: Руководство для врачей.*— М., 1993.
6. Кожевников Е. В. // *Вестн. травматологии и ортопедии.*— 2004.— № 3.— С. 62—66.
7. Пинчук Л. С., Чернякова Ю. М., Гольдаде В. А. // *Трение и износ.*— 2008.— Т. 29, № 3.— С. 293—305.
8. Чернякова Ю. М. *Оптимизация диагностики и лечения синовита путем контроля биофизических свойств синовиальной жидкости (экспериментально-клиническое исследование): Автореф. дис. ... канд. мед. наук.*— Минск, 2006.
9. Федеральный закон РФ «О требованиях к безопасности гемотрансфузионных растворов, биокомпонентов и технических средств, используемых в инфузионной терапии». РТР 08-35 от 24.06.2005.
10. Чернякова Ю. М., Пинчук Л. С. // *Вестн. травматологии и ортопедии.*— 2008.— № 2.— С. 53—56.
11. Белоенко Е. Д., Чернякова Ю. М., Пинчук Л. С. // *Докл. НАН Беларуси.*— 2007.— Т. 51, № 2.— С. 72—75.
12. Пинчук Л. С., Чернякова Ю. М., Кадолич Ж. В. и др. *Способ оценки смазочной способности синовиальной жидкости // Афицыйны бюлетэнь.*— 2007.— № 2.— С. 138.
13. Insall J. N., Ravanat C. S., Aglietti P., et al. // *J. Bone Joint Surg.*— 1976.— Vol. 58A.— P. 754—765.
14. *Recommendations Guiding Physicians in Biomedical Research // 41st World Medical Assembly.*—Hong Kong, 1989.
15. Чернякова Ю. М., Кадолич Ж. В., Пинчук Л. С. и др. // *Трение и износ.*— 2003.— Т. 24, № 6.— С. 636—641.
16. Титов Л. П., Ермакова Т. С., Панышина Е. Ф. // *Здоровье.*— 2008.— № 12.— С. 72—74.

Поступила 10.03.09.

CLINICAL EFFECT OF INDIVIDUAL INTRAARTICULAR THERAPY FOR OSTEOARTHRITIS APPLYING MEDICINAL DRUGS BASED ON BLOOD PLASMA

Yu. M. Tchernyakova, L. S. Pinchuk

The outcomes of elaborating and clinical testing of medicinal drugs based on blood plasma designed for intraarticular chondroprotection under osteoarthritis of various etiologies are presented. Considering the results of comparing the synovial fluid and blood serum compositions and properties it was concluded that it was rational to substitute the synovial fluid with serum under osteoarthritis. The blood serum was pre-modified prescribing efficient drugs doses and after that 30 ml blood samples were taken during the period of the blood maximal saturation. Five—seven milliliters of the serum were injected thrice into knee joints of patients suffering from osteoarthritis. When assessing the treatment results in 4—6 months a stable and prolonged effect was determined in the test group manifesting in the joint tissue trophic normalization, the cartilage smegma improvement and the local inflammation suppression.