

3. Tany, L. X. Effects of additional iron-chelators on Fe²⁺ – initiated lipid peroxidation: evidence to support the Fe²⁺·Fe³⁺ complex as the initiator / L. X. Tany, F. L. Yang // J. of Inorganic Biochemistry. — 1997. — Vol. 68, № 4. — P. 265–272.

4. Sassa, H. Structural basis of potent antiperoxidation activity of the triterpene celastrol in mitochondria: effect of negative membrane surface charge on lipid peroxidation / H. Sassa [et al.] // Free Radic Biol Med. — 1994. — Vol. 17, № 3. — P. 201–208.

5. Gutteridge J. M. Effect of ferritin-containing fractions with different iron loading on lipid peroxidation / J. M. Gutteridge [et al.] // J. Biochem. — 1983. — Vol. 209, № 2. — P. 557–560.

УДК 616.72-08:616.15

СЫВОРОТКА КРОВИ, КАК БАЗОВЫЙ «АНТИАРТРОЗНЫЙ» ПРЕПАРАТ ДЛЯ ИНТРААРТИКУЛЯРНОЙ ТЕРАПИИ

¹Николаев В. И., ²Белецкий А. В., ³Ермаков С. Ф.

¹Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

²Государственное учреждение

Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии

³Учреждение образования

«Институт механики металлополимерных систем им. В. А. Белого

Национальной академии наук Беларуси»

г. Минск, Республика Беларусь

Введение

Остеоартроз, как правило, локальное заболевание, поражающее, преимущественно, суставы нижних конечностей, несущие максимальную опорную нагрузку. В настоящее время признано, что дегенерация суставного хряща возникает вследствие двух основных причин: чрезмерной нагрузки на хрящ и снижения его резистентности к обычным физиологическим нагрузкам. Однако, независимо от этиопатогенетических особенностей основные гистопатологические, биохимические и метаболические изменения при остеоартрозе сходны и, в конечном итоге, ведут к повреждению клеточных структур хряща — хондроцитов [1]. Как следствие, нарушается динамическое равновесие между синтезом и разрушением ткани хряща. Поэтому в условиях дефицита нормального синтеза и избытка патологически измененного хондроциты оказываются неспособными компенсировать недостаток его матрикса в сульфатированных мукополисахаридах (хондроитинсульфат и хитин). При развитии остеоартроза в суставе резко усиливаются процессы расщепления и деполимеризации гиалуроновой кислоты (ГУК), а, поскольку ГУК является природным полимером, ответственным за вязкоупругие свойства, то такие свойства синовиальной жидкости соответственно заметно снижаются. В результате увеличивается механическая нагрузка на суставные хрящи, что приводит к процессам их разрушения и, следовательно, к возникновению боли и ограничению подвижности в суставе.

Таким образом, исторически сложилось, что для приостановления развития и лечения остеоартроза одним из необходимых условий является восполнение дефицита извне, с одной стороны, сульфатированных мукополисахаридов, а с другой — ГУК [1, 3]. Очевидно, что наиболее эффективным является внутрисуставное введение таких препаратов, терапевтический эффект которых связан как с участием их ингредиентов в построении основного вещества хрящевой ткани, так и улучшением вязкоэластичных свойств синовиальной жидкости и восстановлением ее ударопоглощающей функции. Снижение механической нагрузки на пораженный сустав за счет восстановления в нем синовиального гомеостаза, как правило, влечет за собой уменьшение боли и улучшение подвижности, которые могут сохраняться и длиться несколько месяцев после окончания курса лечения.

Жидкокристаллическое состояние присуще живой материи во всех ее проявлениях и представляется идеальной средой для протекания многих биохимических реакций и обес-

печения репродуктивной функции биологических структур. Не исключением является и синовиальная среда суставов, мезоморфное состояние которой, кроме того, играет и существенную роль в снижении внутрисуставного трения [3]. Поэтому очевидно, что для успешной замены синовии необходимо, чтобы ее аналог обладал такими же биохимическими свойствами и имел такой же жирнокислотный состав эфиров холестерина, как и натуральная синовия. С биологической точки зрения в этом плане наиболее подходит сыворотка крови, как абсолютно биосовместимая биологическая среда и во многом обладающая свойствами, сходными с натуральной синовией [3, 5]. Однако следует отметить, что сопоставления ингредиентного состава эфиров холестерина в сыворотке крови с составом таких соединений в натуральной синовии до сих пор не проводилось. Аналогичные выводы могут быть сделаны и по исследованию трибологических свойств, как сыворотки крови, так и известных ЛП, поскольку практически все эти исследования выполнены на металлополимерных парах трения [4]. В тоже время, очевидно, что такие эксперименты необходимо проводить, и они будут наиболее объективными только при исследовании трения естественной пары «хрящ-хрящ». Авторы считают, что такой подход является принципиальным моментом в вопросах создания и исследования лекарственных средств для лечения заболеваний суставов, особенно предназначенных для внутрисуставного применения.

Цель настоящей работы — идентифицировать в сыворотке крови эфиры холестерина и исследовать влияние ЛП, содержащих гиалуроновую кислоту и хондроитин сульфат, на смазочную способность сыворотки крови при фрикционном взаимодействии естественной пары трения «хрящ-хрящ».

Материалы и методы

В исследованиях использовали пунктаты коленного сустава и аутосыворотку крови больных. Жидкокристаллические соединения холестерина в образцах синовиальной жидкости и сыворотке крови изучали методами хроматографии. Тонкослойную хроматографию проводили в проявляющем составе гептан-эфир-уксусная кислота, компоненты которого взяты в соотношении, соответственно, 80:20:1. Эфиры холестерина элюировали с пластины гептаном и идентифицировали их на газовом хроматографе фирмы «Hitachi» по соответствующим карбоновым кислотам.

Трибологические исследования осуществляли на маятниковом трибометре, наиболее приемлемом для этих целей, так как он реализует локомоции, характерные для суставов в живом организме [3, 5]. Образцы для трибометра изготавливали из головки плечевой кости (выпуклая часть) и суставной впадины лопатки (вогнутая часть) порослят через 1–2 ч post mortem. Нагрузку исследуемой пары трения осуществляли изменением массы маятника посредством калиброванных грузов, вес которых выбирался исходя из одной четвертой веса животного и в данных экспериментах составлял 44,8 Н.

В качестве смазочного материала изучали натуральную синовиальную жидкость, сыворотку крови и ее смеси с лекарственными препаратами на основе гиалуронатов: «Стекловидное тело» производства «Белмедпрепараты» (Беларусь) (ЛП₁) и «Остенил» производства «Chemedica AG» (Германия) (ЛП₂), а также на основе хондроитин сульфата (ЛП₃), которые различаются по механизму своего действия и известны, с одной стороны, как препараты восполняющие вязкоупругие свойства синовиальной жидкости и защищающие суставной хрящ от механического и химического повреждений, а с другой — как высокоэффективные препараты, стимулирующие процессы регенерации хрящевой ткани. Первые два ЛП отличаются различным содержанием ГУК, которой в ЛП₂ (10 мг/мл) почти на два порядка больше, чем в ЛП₁ (не менее 0,13 мг/мл). Все эти ЛП широко используются в разных формах для лечения суставов. Выхлобытия в исследуемом опорном узле со смазочным материалом судили по времени затухания колебаний маятника, а также зависимостях коэффициента трения от времени и концентрации ЛП в сыворотке крови.

Результаты и их обсуждение

Хроматографический анализ общих фракций эфиров холестерина, выделенных из образцов синовиальной жидкости и сыворотки крови экстракцией хлороформ-этаноловой смесью, показал, что в состав этих биологических сред входят сложные эфиры холестерина следующих жирных кислот (таблица 1): пальмитолеиновой, пальмитиновой, стеариновой, линолевой, олеиновой и др. Из таблицы видно, что основу общей фракции эфиров холестерина синовиальной жидкости и сыворотки крови составляют холестерилловые эфиры жирных кислот с молекулярной массой 622–650 у. е., среди которых наибольшее содержание как в синовиальной жидкости, так и в сыворотке крови, приходится на эфиры холестерина пальмитиновой и олеиновой кислот. Кроме того, экспериментально выявлено, что содержание эфиров холестерина в синовиальной жидкости составляет $3,8 \pm 0,4$ ммоль/л, а в сыворотке крови — $4,3 \pm 0,3$ ммоль/л, что практически одинаково для данных биологических сред (таблица 1).

Таблица 1. Состав основных эфиров холестерина, идентифицированных в натуральной синовиальной жидкости и сыворотке крови ($M \pm m$, %)

Эфиры холестерина	Молекулярная масса, у.е.	Синовиальная жидкость	Сыворотка крови
Холестерилпальмитолеат	622	3 ± 2	4 ± 1
Холестерилпальмитат	624	24 ± 5	20 ± 2
Холестерилстеарат	636	9 ± 2	8 ± 1
Холестериллинолеат	649	8 ± 4	7 ± 5
Холестерилолеат	650	24 ± 2	$25 \pm 3,0$
Прочие эфиры холестерина	—	до 100	до 100

Таким образом, установлено, что сыворотка крови, также как и естественная смазка суставов — синовиальная жидкость, содержит смесь термотропных жидкокристаллических соединений со структурной организацией холестерического типа и мезоморфным состоянием в области температур, включающем физиологические температуры. Поэтому с учетом ранее проведенных трибологических исследований синовиальной жидкости можно ожидать, что наличие данных жидкокристаллических соединений холестерина в сыворотке крови, по всей видимости, будет оказывать такое же положительное влияние на ее антифрикционные свойства, как и в случае синовиальной жидкости.

Проверка этого предположения осуществлялась экспериментально на маятниковом трибометре при трении естественной пары «хрящ-хрящ» (рисунок 1). Действительно, из результатов исследования видно, что сыворотка крови (рисунок 1) обеспечивает в два-три раза более низкие значения коэффициента трения, чем, например, дистиллированная вода или физиологический раствор (рисунок 1), которые, как известно, не содержат эфиров холестерина.

При этом следует отметить, что сыворотка крови в отличие от натуральной синовии, имеет практически такую же вязкость, как вязкость воды, и относится к ньютоновским жидкостям, т. е. жидкостям, вязкость которых не зависит от скорости сдвига [3]. Однако, все же вероятно, что вязкость исследуемых жидких сред играет не последнюю роль при фрикционном взаимодействии пары трения «хрящ-хрящ».

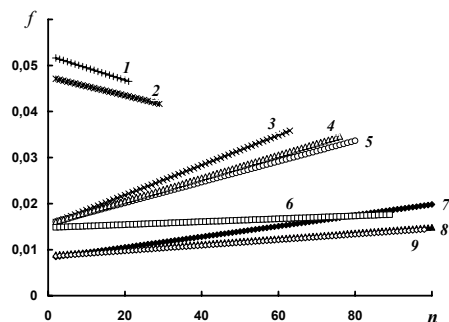


Рисунок 1 — Зависимости значений коэффициента трения f от числа колебаний маятникового трибометра n , полученные при трении естественной пары «хрящ-хрящ» в присутствии:
1 — дистиллированной воды; 2 — физиологического раствора; 3 — сыворотки крови;
4 — сыворотки крови + 50 % ЛП₁; 5, 6 — ЛП, содержащих ГУК, соответственно,
5 — ЛП₁ «Стекловидное тело»; 6 — ЛП₂ «Остенил»; 7 — ЛП₃, содержащего хондроитин сульфат;
8 — сыворотки крови + 50 % ЛП₃; 9 — синовиальной жидкости

Из экспериментальных данных следует, что добавка в сыворотку крови препарата ЛП₁, содержащего ГУК, которая ответственна за вязкость синовиальной жидкости, приводит к улучшению трибологических свойств сыворотки (рисунок 1). В пользу этого свидетельствуют эксперименты по трению пары «хрящ-хрящ» непосредственно в самом лекарственном препарате ЛП₁ (рисунок 1).

Таким образом, наличие ГУК в ЛП₁ посредством образования свойственных ей трехмерных каркасов на поверхности хрящей способствует реализации более прочной разделяющей смазочной пленки при трении хрящей, чем сыворотка крови, что и наблюдается экспериментально. Другим подтверждением такого поведения смазочных сред, содержащих препараты-гиалуронаты, является фрикционное взаимодействие хрящей в ЛП₂ (рисунок 1), который имеет высокую концентрацию ГУК (10 мг/мл). Об этом свидетельствует также менее выраженный наклон полученной для данной среды зависимости коэффициента трения от времени. Последнее, кроме того, подтверждает образование оптимальной при этих условиях испытаний смазочной прослойки, толщина которой остается постоянной при трении и не зависит от времени за счет присутствия в ней повышенного содержания ГУК, характерного для данного препарата-гиалуроната.

Однако оценить трибологическую эффективность таких серийно выпускаемых препаратов-гиалуронатов, т. е. содержащих 10 мг/мл и выше ГУК в комплексе с эфирами холестерина, входящими в состав сыворотки крови, не представлялось возможным из-за достаточно высокой вязкости этих ЛП и, вследствие этого, невозможности их однородного смешивания с сывороткой при обычных условиях. Несмотря на то, что терапевтический эффект таких ЛП на основе производных гиалуронатов связывают с улучшением реологических свойств суставной смазки, производные гиалуроната не способны длительно задерживаться в полости сустава после инъекции и вряд ли могут самостоятельно поддерживать оптимальные реологические свойства синовии в течение длительного времени. К тому же при остеоартрозе они могут быть подвержены энзиматической и свободнорадикальной деградации в полости сустава [1]. Поэтому положительное клиническое действие таких ЛП в значительной степени связывают с ответной реакцией синовиоцитов на их введение и с продуцированием последними более полноценного собственного гиалуроната [2]. Стороны, известно, что ЛП, содержащие хондроитин сульфат, наряду с активным участием в построении основного вещества костной и хрящевой тканей, а также нормализацией продукции суставной жидкости, кроме того, играют роль смазки суставных поверхностей, улучшая подвижность суставов. Проведенные эксперименты полностью подтверждают этот вывод.

Показано, что при трении пары хрящ-хрящ в препарате ЛП₃, т.е. содержащем хондроитин сульфат (рисунок 1), реализуются намного меньшие значения коэффициента трения, чем в препаратах-гиалуронатах ЛП₁ и ЛП₂. При этом отмечено, что в отличие от препаратов-гиалуронатов, ЛП₃ хорошо совмещается с сывороткой крови при любых соотношениях. Установлено, что в комплексе с сывороткой крови препарат ЛП₃ обеспечивает синергетический эффект (рисунок 1), проявляющийся в еще большем улучшении смазочного действия таких составов по сравнению со смазочным действием исходных компонентов, а именно, самого ЛП₃ или сыворотки крови. При определенной концентрации ЛП₃ в сыворотке крови значения коэффициентов трения для этих составов практически совпадают с аналогичными значениями для синовиальной жидкости (рисунок 1). Таким образом, экспериментально методом маятниковой трибометрии при трении пары «хрящ-хрящ» установлено, что влияние на смазочное действие сыворотки крови ЛП на основе гиалуронатов и хондроитин сульфата неодинаково. При этом показано, что сочетанное применение препаратов на основе хондроитин сульфата с сывороткой крови придает им наилучшие трибологические характеристики, практически совпадающие с трибологическими характеристиками натуральной синовиальной жидкости (рисунок 1). Следовательно, данные лекарственные средства могут быть эффективно применены как наиболее оптимальные биологические заменители синовиальной жидкости нового поколения.

Выводы

Результаты проведенных исследований являются реальной основой для разработки новых более эффективных «антиартрозных» препаратов на основе сыворотки крови потенциальной базовой жидкокристаллической синовиальной средой для интраартикулярной терапии остеоартроза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Цветкова, Е. С. Остеоартроз / Е. С. Цветкова; под ред. В. А. Насонова, Н. В. Бунчук. — 1997. — С. 385–396.
2. Felson, D. T. Osteoarthritis of the knee / D. T. Felson // N. Engl. J. Med. — 2006. — Vol. 354. — P 841–848.
3. Жидкие кристаллы в технике и медицине / С. Ф. Ермаков [и др.]. — Мн., М. 2002.
4. Пинчук, Л. С. Трибология суставов и проблемы современной ортопедии / Л. С. Пинчук, Ю. М. Чернякова, В. А. Гольдаде // Трение и износ. — 2008. — Т. 29, № 3. — С. 293–305.
5. Моделирование и оценка процессов трения синовиальных суставов / В. И. Николаев [и др.] // Проблемы здоровья и экологии. — 2008. — Т. 16, № 2. — С. 100–104.

УДК 616.12-005.4:616.151+537.32+541.67:611.018.5

АНАЛИЗ БИОЭЛЕКТРЕТНЫХ СВОЙСТВ КРОВИ — ИНСТРУМЕНТ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ПАТОЛОГИЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Николаева Н. В., Вечерский Г. А., Николаева О. В.

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

Государственное учреждение образования

«Белорусская медицинская академия последипломного образования»

г. Минск, Республика Беларусь

Введение

Физические методы исследования находят все большее применение в медицине для целей диагностики заболеваний. На основе анализа физических параметров и величин нередко удается адекватно оценить изменение состояния пациентов вследствие различных патологи-