

стив авторов, 2008

СЛЕДОВАНИЕ ГРУППОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ — ШАГ НА ПУТИ К ТРАНСФУЗИОННОЙ ХОНДРОПРОТЕКЦИИ СУСТАВОВ

Ю.М. Чернякова¹, Л.С. Пинчук²

¹Гомельский государственный медицинский университет,

²Институт механики металлополимерных систем им. В.А. Белого, Гомель

Для исследования групповой принадлежности синовиальной жидкости использована методика, подобная методике определения групп крови путем прямой гемагглютинации с помощью стандартных гемагглютинирующих сывороток. Изучено реагирование синовиальной жидкости пациентов с I–IV группами крови и Rh+ и Rh– принадлежностью с тестовыми эритроцитами доноров I–IV групп крови с Rh+ и Rh– фактором. Обнаружена идентичность реакций синовиальных жидкостей с тестовыми эритроцитами и стандартных гемагглютинирующих сывороток с эритроцитами крови разных групп. С помощью полиглюкиновой пробы установлено отсутствие противорезусных антител в исследованных образцах синови. Экспериментально доказано присутствие в синовии человека индивидуальных антител, аналогичных антителам сыворотки его крови. Установлено наличие четырех групп синовиальной жидкости человека по системе АВ0. Показано, что группа синовиальной жидкости человека соответствует группе его крови. Критерием биосовместимости хондропротекторов на основе синовиальной жидкости служит совпадение тканевой (групповой) совместимости препарата и синовии реципиента.

Group belonging of synovial fluid was studied using technique similar to one for the detection of blood group by direct hemagglutination with standard hemagglutinative serum. Reaction of synovial fluid of patients with I–IV blood group, Rh+ and Rh– with standard erythrocytes was studied. Reaction identity of synovial fluid and erythrocytes of different blood groups with standard erythrocytes and hemagglutinative serum was noted. In synovial samples the absence of antirhesus antibody was detected using polyglucinic probe. Presence of individual antibodies analogous to antibodies of blood serum in synovia was shown in experiments. The four groups of synovial fluid according to АВ0 system were detected. It was shown that synovial fluid group corresponded to blood group. Criterion of chondroprotectors biocompatibility based on synovial fluid is a coincidence of group compatibility of medical drug and recipient synovia.

еменный уровень профилактики и лече-
неративных заболеваний суставов опре-
два основных направления лечебной по-
нтенсивное развитие хирургического на-
ия в последние полвека было связано пре-
гвенно с эндопротезированием суставов и
астикой [14]. В последние десятилетия в
успехами артрологии [10] в ортопедии
илась тенденция к повышению роли
ативного направления. Осознание роли
ротекции как щадящего, но высокоэфф-
юго метода лечения суставов обусловило
ный рост фармакологической индустрии
ентов, защищающих хрящ от деструк-
знашивания [3].

естве хондропротекторов нашли ограничен-
енение биологически активные синтетичес-
имеры, например 15% водный раствор
илпирролидона [2], обладающий противо-
гельным действием, гидрогели на основе
на и дипальмитойл фосфодиолина [12]
и препараты имеют постоянную вязкость,
е от естественной синовиальной жидкости
зкость которой меняется в зависимости от

нагрузки на сустав, характеризуются невысокой
смазывающей способностью и недостаточной био-
совместимостью (рН растворов ниже 5,2–7,0 ед.
против рН СЖ 7,4–8,2 ед.). В последние десятиле-
тия определилась тенденция к лечению суставов
с помощью хондропротекторов биологического про-
исхождения, содержащих компонент естественной
СЖ — гиалуроновую кислоту, выделенную из греб-
ней петухов [12, 15]. Представители этой группы
заменителей СЖ — «Гиалган» («Hyalgan», фирма
«Fidia», Италия), «Синвиск» («Synvisc», фирма
«Biomatrix», США), «Ортовиск» («Ortovisc», фир-
ма «Anika Therapeutics, Inc.», США) преимуще-
ственно восполняют вязкость жидкостной прослой-
ки в суставе [16]. Эти препараты недостаточно эф-
фективны при лечении артрозов и артритов [13],
так как не всегда устраняют воспалительный и бо-
левой синдромы и обеспечивают период ремиссии
до 6 мес при стоимости 150–170 долларов за ампу-
лу. Фармацевтической промышленностью Белару-
си выпускается препарат «Диасиноп», который со-
держит жидкокристаллические соединения холес-
терина, снижающие трение в суставе. Однако из-
за недостаточной биосовместимости этот препарат

применяют лишь наружно — в виде аппликаций или активной среды при электрофорезе [5].

Поиски заменителей СЖ, максимально идентичных естественной СЖ по химической природе и биосовместимых с организмом человека, привели к использованию в качестве такого лекарственного средства сыворотки собственной крови пациента (ауто-сыворотки) и препаратов на ее основе [1, 11]. Экспериментально установлена идентичность биохимического состава, структуры и биофизических свойств СЖ и заменителей на основе сыворотки крови и гиалуронатов, клинически подтверждена их эффективность. Однако создание абсолютного, идеального заменителя СЖ до сего дня остается нерешенной проблемой. Одним из направлений в ее решении является возможное использование для хондропротекции донорской, при необходимости «исправленной» целевым модифицированием СЖ человека. Развитие подобного метода лечения предполагает создание банков синовио-, которые снабжали бы клиники донорской СЖ.

Предпосылкой для такого решения служит уникальность состава и происхождения СЖ. С одной стороны, она является диализатом крови и наиболее близка по составу и свойствам к сыворотке крови, с другой — содержит гиалуроновую кислоту, вырабатываемую синовиальной оболочкой и клетками хряща [8]. Гиалуроновая кислота — продукт биосинтеза синовио- и хондроцитов, уникальный смазывающий, амортизирующий и питающий ткани хряща компонент СЖ. При осуществлении хондропротекции с помощью донорской СЖ ключевой представляется проблема тканевой совместимости заменителя.

Открытие в 1900 г. венским врачом К. Ландштейнером групп крови легло в основу иммуне-матологии и привело к становлению трансфузиологии, трансплантологии, трансфузионной иммунологии и смежных дисциплин [6]. Индивидуальность тканей и жидкостей организма человека определяют их антигены. В настоящее время обнаружено более 250 антигенов групп крови, объединенных в 25 систем, которые локализованы на интегральных белках и полисахаридах мембраны эритроцита [7]. Молекулы на поверхности эритроцитарных мембран распознаются как антигены с помощью иммунной системы людей, не имеющих на эритроцитах таких структур. Современная медицина использует систему групп крови АВ0, согласно которой на эритроцитах человека различают четыре основных структурных типа полисахаридных цепей-предшественников для формирования антигенов А или В. Вариант группы 0 не несет антигенов благодаря присутствию на эритроцитах преимущественно коротких неактивных макромолекул белков.

Антигены системы резус локализованы в мембране эритроцита в виде макромолекулярных пептидов, пронизывающих ее насквозь. Физиологическая роль белков системы резус остается неизвест-

ной, хотя резус-фактор играет важную роль в трансфузиологии: гетероиммунизация резус-фактором, т.е. выработка в организме реципиента противорезусных антител при переливании резус-положительных эритроцитов или у матери при беременности резус-положительным плодом, может вызвать гемолиз эритроцитов и гибель реципиента (плода). Подобная реакция происходит, как правило, при повторном контакте резус-отрицательного организма с резус-положительными эритроцитами или при повторной беременности резус-положительным плодом.

Групповые антигены А и В обнаружены в таких биологических жидкостях человека, как слюна и желудочный сок. Четвертое место по содержанию групповых антигенов и антител после упомянутых жидкостей и семенной жидкости, находящейся в зародышевой оболочке амниотической жидкости и яичников, занимает кровь (эритроциты и плазма) [4]. Очевидно, что и СЖ должна иметь групповую принадлежность, однако подобной информации мы в литературе не встретили.

Целью настоящей работы было исследование групповой принадлежности СЖ и совместимости СЖ людей, имеющих разные группы крови, с эритроцитами доноров I–IV групп положительной и отрицательной резус-принадлежности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

СЖ для экспериментальных исследований получена при проведении лечебно-диагностических пункций или операций на коленных суставах от пациентов (с их согласия) с травматическими повреждениями и синовитами неиммунного генеза, проходивших обследование и лечение в отделении травматологии Гомельской городской клинической больницы № 1. В процессе стандартного клинико-лабораторного обследования у этих пациентов была определена группа крови по системе АВ0 (с использованием набора стандартных гемагглютинирующих сывороток) и установлена резус-принадлежность [9]. Образцы СЖ получены от пациентов с I–IV группами крови с резус-положительным (Rh+) и резус-отрицательным (Rh-) фактором. В качестве тестовых антигенов применяли эритроцитарные массы доноров I–IV групп крови с Rh+ и Rh- фактором, изготовленные для трансфузий на Гомельской станции переливания крови. Используемые в экспериментах образцы СЖ сохраняли в пластмассовых пробирках при температуре -25 °С не более 3 мес.

Для определения групповой принадлежности СЖ была применена методика, подобная традиционной методике определения групп крови (путем прямой гемагглютинации на плоскости с помощью стандартных гемагглютинирующих сывороток), модифицированная соответственно химической природе и высокой вязкости СЖ. Вместо сывороток использовали образцы СЖ от пациентов с I–IV группами крови Rh+ и Rh- принад-

лежности. В лунки на пластинке белого цвета помещали 2–3 капли образца СЖ, затем добавляли 0,01 мл эритроцитов анализируемой группы, после чего смешивали их стеклянной палочкой. Для уменьшения вязкости в смесь добавляли 2–3 капли изотонического (0,9%) раствора натрия хлорида, после чего периодически покачивали пластину, перемешивая образцы, и наблюдали за реакцией в течение 10 мин.

Для определения совместимости СЖ и эритроцитов по резус-фактору проводили пробу с 33% раствором полиглобулина (аналогично определению совместимости эритроцитов донора и сыворотки крови реципиента [9]). На дно пробирки наносили 2 капли исследуемой СЖ, добавляли 1 каплю полиглобулина и 1 каплю крови анализируемых группы и резуса. Пробирку покачивали в течение 5 мин, перемешивая жидкости, после чего добавляли 5 мл изотонического раствора натрия хлорида и снова смешивали содержимое пробирки покачиванием. Затем оценивали реакцию совместимости компонентов. Все эксперименты проведены при температуре воздуха в помещении 18–22 °С.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При смешивании образцов СЖ с эритроцитами разных групп крови наблюдали положительную или отрицательную реакцию в виде агглютинации или отсутствия агглютинации эритроцитов, содержащих антигены (А, В) или не содержащих их (0) (см. таблицу).

Картина агглютинации при смешивании СЖ и эритроцитной массы имела свою особенность: агглютинаты в СЖ были небольшого (порядка 10–100 мкм) размера и напоминали частицы мелкого песка — в отличие от традиционно наблюдаемых хлопьевидных агглютинатов эритроцитов в сыворотке. Наиболее четко это было видно при покачивании пластины и перетекании смеси в лунке на белом фоне. Отрицательная проба при смешивании СЖ и эритроцитов выглядела на протяжении 10 мин наблюдения как однородная, рав-

номерно окрашенная красноватого цвета жидкость без осадка.

Как видно из таблицы, реакции СЖ с эритроцитами аналогичны реакциям стандартных гемагглютинирующих сывороток с эритроцитами крови разных групп. Для инициирования агглютинации эритроцитной массы определенной группы, содержащей антигены эритроцитов этой группы, в СЖ должны присутствовать соответствующие антитела. Тот факт, что эритроциты II группы крови агглютинируются сывороткой людей с I и III группами крови, свидетельствует о наличии в их СЖ антител — агглютининов α — к антигену А. Агглютинация эритроцитов III группы сывороткой людей с I и II группами крови доказывает присутствие в такой СЖ агглютининов β к антигену В. Следовательно, в СЖ людей I группы крови есть α- и β-агглютинины, у людей II группы — β, а у людей III группы — α-агглютинины. Присутствие антител α или β (или α и β) в СЖ I, II и III групп обуславливает положительную реакцию с эритроцитами IV группы крови, содержащими А и В антигены. Дающая отрицательную реакцию с эритроцитами всех групп сыворотка людей IV группы крови, как и их плазма, не содержит антител к антигенам А и В. Длительное время реагирования (до 10 мин) антител СЖ с антигенами эритроцитов обусловлено прежде всего более вязкой консистенцией СЖ по сравнению с сывороткой.

Обнаружены одинаковые реакции Rh+ и Rh- эритроцитов каждой группы крови с СЖ, взятой у пациентов с одинаковой группой крови, но с разной резус-принадлежностью. Следовательно, резус-принадлежность СЖ и эритроцитов не повлияла на результаты реакций в группах. По-видимому, это вызвано тем, что СЖ, будучи диализатом крови с положительным резус-фактором, не содержит противорезусных антител. Очевидно, что при смешивании такой СЖ как с Rh+, так и с Rh- эритроцитами реакция на резус-антиген должна быть отрицательной. С другой стороны, СЖ людей с отрицательным резус-фактором крови также не

Результат реакции синовиальной жидкости пациентов с эритроцитами I–IV групп крови Rh+ и Rh-

Эритроцитная масса (антигены)		Синовиальная жидкость (антитела)							
		0 (I), αβ		A (II), β		B (III), α		AB (IV), o	
		Rh+	Rh-	Rh+	Rh-	Rh+	Rh-	Rh+	Rh-
0 (I)	Rh+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Rh-	-	-	-	-	-	-	-	-
A (II)	Rh+	+	+	-	-	+	+	-	-
	Rh-	+	+	-	-	+	+	-	-
B (III)	Rh+	+	+	+	+	-	-	-	-
	Rh-	+	+	+	+	-	-	-	-
AB (IV)	Rh+	+	+	+	+	+	+	-	-
	Rh-	+	+	+	+	+	+	-	-

Обозначения: «+» — наличие, «-» — отсутствие агглютинации эритроцитов.

имеет противорезусных антител, в результате чего реагирование СЖ таких людей и Rh+ крови было отрицательным. Можно предполагать, что только в случае ранее произошедшей иммунизации Rh-человека Rh+ кровью в его СЖ (как и в сыворотке крови) будут присутствовать противорезусные антитела, и только тогда следует ожидать положительной реакции Rh- СЖ с Rh+ эритроцитами в одной группе. Полиглобулиновая проба подтвердила отсутствие противорезусных антител в исследованных образцах СЖ.

В эксперименте на совместимость СЖ и эритроцитов по резус-фактору во всех случаях образцы оказались совместимы. Об этом свидетельствовал вид содержимого пробирки: жидкость светлокрасного цвета без осадка и хлопьев, равномерно окрашенная, опалесцирующая.

Были проведены сравнительные эксперименты со свежей СЖ и СЖ, подвергнутой неоднократной (до 5 раз) криоконсервации. При прочих равных условиях различий в качестве и интенсивности реакций агглютинации в зависимости от времени хранения СЖ и числа ее размораживаний не обнаружено.

Заключение. Результаты реакций по определению групповой принадлежности синовии свидетельствуют о том, что СЖ человека содержит набор индивидуальных антител, аналогичных таковым сыворотки его крови, и подобно сыворотке может участвовать в тканевом иммунном ответе. Установлено наличие четырех групп СЖ человека по системе АВ0, идентичных четырем группам его крови. Экспериментально показано, что группа СЖ человека соответствует группе его крови. Критерием биосовместимости хондропротекторов на основе СЖ человека, а также возможности использования при лечении суставов донорской СЖ является совпадение тканевой (групповой) совместимости препарата и СЖ реципиента, которая мо-

жет быть установлена с помощью проб на их совместимость.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Белоенко Е.Д., Чернякова Ю.М., Пинчук Л.С. // Доклады НАН Беларуси. — 2007. — Т. 51, N 2. — С. 72-75.
2. Василенкайтис В.В. // Ортопед. травматол. — 1989. — N 10. — С. 11-15.
3. Вырва О.Е. // Там же. — 2002. — N 2. — С. 146-150.
4. Донсков С.И. // Гематол. трансфузиол. — 2001. — Т. 46, N 5. — С. 32-33.
5. Ермаков С.Ф., Родненков В.Г., Белоенко Е.Д., Купчинов Б.И. Жидкие кристаллы в технике и медицине. — Минск, 2002.
6. Зотиков Е.А. // Гематол. трансфузиол. — 2001. — Т. 46, N 5. — С. 25-28.
7. Оловникова Н.И., Николаева Т.Л. // Там же. — 2001. — Т. 46, N 5. — С. 37-45.
8. Павлова В.Н. Синовиальная среда суставов. — М., 1980.
9. Переливание донорской крови и ее компонентов: Инструкция по применению № 118-1103 МЗ РБ от 01.12.2003 г.
10. Сорока Н.Ф. // Здоровоохранение. — 2001. — N 5. — С. 2-7.
11. Чернякова Ю. М. Оптимизация диагностики и лечения синовита путем контроля биофизических свойств синовиальной жидкости (экспериментально-клиническое исследование). — Дис. ... канд. мед. наук. — Минск, 2006.
12. Pat. 0185179 WO. Biological lubricant composition and method of applying lubricant composition. IPC A 61 K 31/721, 31/685; A 61 L 27/20, 27/52; A 61 P 41/00. — Publ. 2001.
13. Peyron J. // J. Rheumatol. — 1993. — Vol. 20, Suppl. 39. — P. 10-15.
14. Pinchuk L.S., Nikolaev V.I., Tsvetkova E.A., Goldade V.A. Tribology and biophysics of artificial joints. — London, 2006.
15. Richter W., Ryde E.M., Zatterstran E.O. // Int. Arch. Immunol. — 1979. — Vol. 59. — P. 45-55.
16. Scale D., Wobig M., Wolpert W. // Curr. Ther. Res. — 1994. — Vol. 55. — P. 220-232.

ВНИМАНИЕ !

Подписаться на «Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова» можно в любом почтовом отделении

Наши индексы в Каталоге «ГАЗЕТЫ И ЖУРНАЛЫ» АО «Роспечать»:
для индивидуальных подписчиков **73064**
для предприятий и организаций **72153**

В розничную продажу «Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова» не поступает

