

## Оценка групповой принадлежности синовиальной жидкости

Е.А. ЦВЕТКОВА<sup>1</sup>, Ж.В. КАДОЛИЧ<sup>2</sup>, Т.В. АРАСТОВИЧ<sup>1</sup>, К.С. ПИСЬМЕННИКОВА<sup>1</sup>

Представлена методика определения групповой принадлежности синовиальной жидкости по системе АВО крови. Показано, что СЖ человека обладает тем же набором групповых антител, что и сыворотка крови, и подобно сыворотке может участвовать в тканевом иммунном ответе. Представленные результаты можно использовать для разработки методов диагностики и лечения заболеваний синовиальных суставов.

**Ключевые слова:** синовиальная жидкость, сыворотка крови, антиген, эритроцит, агглютинация.

Methodology of identifying group of the synovial fluid for system ABO blood is presented. It is shown that SF has the same set of group antibodies as serum blood and they may participate in tissue immune response. The results can be used to develop methods of diagnosis and treatment of diseases of the synovial joints.

**Keywords:** synovial fluid, blood serum, antigen, red blood cell, agglutination.

Современные узлы трения эндопротезов суставов имеют свойства кибернетических систем, т. е. приспособляются к условиям эксплуатации путем изменения физико-химической структуры материалов трения и смазочного материала, режимов смазки, напряженного, зарядового или магнитного состояния деталей трения и т. д., а посредством обратной связи регулируют степень такого приспособления. Эта концепция, возникшая в конце 1970-х гг. [1], в настоящее время служит критерием совершенства технических изделий.

Структуру синовиального сустава можно представить в виде герметичной трибосистемы, снабженной подсистемами образования и циркуляции смазочной жидкости, утилизации продуктов износа и обратной связью с нервным центром, управляющим ее работой (рисунок 1).

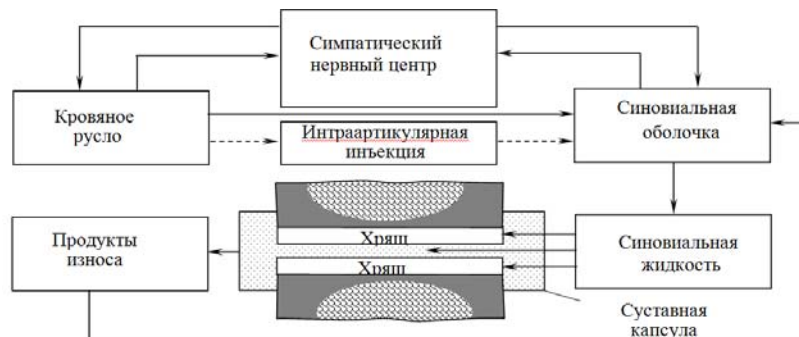
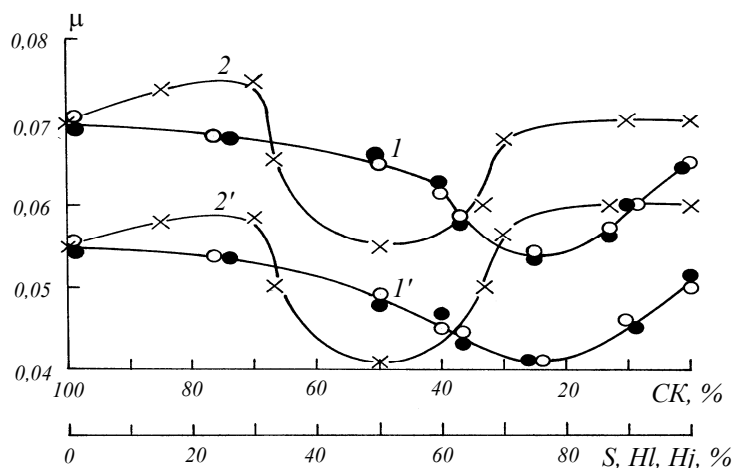


Рисунок 1 – Структурная схема синовиального сустава [2]

Естественные и искусственные суставы человека работают *in vivo* при смазке синовиальной жидкостью (СЖ). Своими псевдоупругими свойствами СЖ обязана высокому содержанию гиалуроновой кислоты и гиалуронатов, а необычными смазочными характеристиками – производным эфиров холестерина, которые являются термотропными жидкокристаллическими соединениями [3]. Такая система имеет специфические электрофизические свойства, т. е. проявляет спонтанный «квази-электретный» эффект, обусловленный координационным характером связей их надмолекулярной структуры, которые определяют ее чувствительность к действию биопотенциалов и механизмы смазывания сустава [4]–[6]. Это дает основания для моделирования СЖ как трехмерного молекулярного комплекса, который образован структурно координированными и функционально взаимосвязанными компонентами. Представляется, что структурные характеристики такого комплекса могут быть критерием при оценке функционального состояния СЖ, для создания заменителей СЖ или высокоэффективных лекарственных средств (ЛС) с минимальным числом побочных действий. Эти аргументы обусловили принципиально новый подход к созданию современного поколения заменителей СЖ на основе сыворотки крови (СК) [7]–[9]. Главное достоинство таких заместителей

лей состоит в следующем. Самым слабым звеном в структуре «умного» сустава является снабжение синовиальной оболочки сывороткой крови, которая служит основой СЖ. Когда это звено отказывает, работоспособность хряща как материала трения сустава можно поддержать путем инъекции аутосыворотки в сустав. Их смазочная способность, подобно здоровой СЖ, улучшается под действием электромагнитного поля [8], [10]. В смеси с гиалуроновыми заменителями СЖ они демонстрируют концентрационные минимумы коэффициента трения при смазке опорного узла маятникового трибометра (рисунок 2).



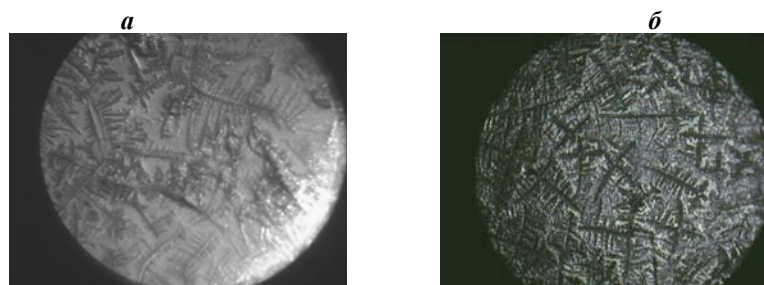
Составы смазочных жидкостей: 1, 1' – сыворотка крови + «Hyalgan» (HI, светлые точки) и сыворотка крови + «Hya-ject» (Hj – темные точки); 2, 2' – сыворотка + «Synvisc» (S). 1, 2 – поле отсутствует; 1', 2' – поле  $H = 1$  кА/м включено, время действия поля – 50 мин

Рисунок 2 – Зависимость коэффициента трения от состава смазочных жидкостей и наличия магнитного поля в узле трения СВМПЭ-сталь

Чувствительность СЖ к воздействию физических полей подтверждена анализом текстуры проб СЖ, высушенных в электрическом или магнитном полях (рисунок 3). Видно, что высушивание СЖ в магнитном поле обуславливает более регулярное распределение солевых дендритных кристаллов в белковой матрице СЖ.

Высказана гипотеза [11], что после инъекции таких заменителей в смазочном слое сустава под действием биополя и трения образуются комплексные соединения на основе протеинов, ГУК и жидкокристаллических производных холестерина, аналогичные структурам, существующим в здоровой естественной СЖ. Они формируют смазочный слой, способный к «самозалечиванию» дефектов, насыщенный вакансиями, которые обеспечивают его кинетически активное состояние. Именно такое «третье тело» по мнению И.В. Крагельского не подвергается усталостному разрушению [12].

Развивается направление, связанное с модифицированием донорской сыворотки антигенами и антителами, свойственными организму пациента. Модификаторами сыворотки могут быть противовоспалительные цитокины – семейство подобных белкам молекул, которые секретируются клетками иммунной системы. Такой заменитель СЖ стабилизирует аутоolerантность суставов (иммунологическую невосприимчивость антигенов собственных клеток и тканей к инфекционным агентам, проникшим в суставы) и представляет собой индивидуальное ЛС для лечения заболеваний суставов. Это предполагает целесообразность использования для хондропротекции донорской СЖ человека и необходимость создания банков для ее хранения. В связи с этим актуальна задача определения биологической совместимости донорской СЖ с тканями и биологическими жидкостями пациента, т. е. разработки метода определения в донорской СЖ антител к антигенам эритроцитов пациента. Применяемые в медицине методы анализа СЖ [13] позволяют оценить преимущественно ее химический и клеточный состав, но не дают информации о групповой принадлежности СЖ. В связи с этим целью работы было получение информации о групповой принадлежности СЖ.



*a* – проба высушена без воздействия внешних полей; *б* – проба высушена в магнитном поле напряженностью  $H = 1,2$  кА/м

Рисунок 3 – Текстура проб СЖ

Индивидуальность тканей и жидкостей организма человека определяют их антигены. В настоящее время известно более 250 антигенов групп крови, объединенных в 25 систем, локализованных на сложных белках и полисахаридах мембраны эритроцита [14]. Молекулы на поверхности эритроцита 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 коротким неактивным макромолекулам белков.

Антигены системы резус локализованы в мембране эритроцита в виде макромолекулярных петель, пронизывающих ее насквозь. Физиологическая роль белков системы резус остается неизвестной, хотя резус-фактор играет важную роль в трансфузиологии: гетероиммунизация резус-фактором, т. е. выработка в организме реципиента (человека, которому переливают кровь) противорезусных антител при попадании с донорской кровью резус-положительных эритроцитов может вызвать гемолиз (разрушение) эритроцитов и гибель реципиента. Как правило, такая реакция происходит при повторном контакте резус-отрицательного организма с резус-положительными эритроцитами.

Групповые антигены А и В обнаружены в биологических жидкостях организма – слюне, желудочном соке, семенной жидкости, а также в крови, в том числе в ее эритроцитах и плазме [15]. Очевидно, что и СЖ должна иметь групповую принадлежность, однако подобная информация в современной медицинской литературе отсутствует. Ниже приведены результаты проведенного экспериментального исследования групповой принадлежности и совместимости СЖ.

Пробы СЖ для экспериментальных исследований забирали во время проведения лечебно-диагностических пункций или операций на коленных суставах от пациентов (с их согласия) с травматической патологией и синовитами неиммунного генеза. В процессе стандартного клинико-лабораторного обследования у этих пациентов были определены группы крови по системе АВ0 (с использованием набора стандартных гемагглютинирующих сывороток) и резус-принадлежность. Эксперименты выполнены с образцами СЖ, полученными от пациентов с I–IV группами крови и резус положительными и резус-отрицательными (Rh+ и Rh–) организмами. В качестве тестовых антигенов использовали эритроцитные массы доноров I–IV групп крови с Rh+ и Rh– фактором, изготовленные для трансфузий на станции переливания крови.

Для определения групповой принадлежности СЖ применили методику, подобную определению групп крови путем прямой гемагглютинации на плоскости с помощью стандартных гемагглютинирующих сывороток. Вместо сывороток использовали образцы СЖ от пациентов с I–IV группами крови с Rh+ и Rh– принадлежностью. На пластинку белого цвета в лунки помещали 2–3 капли образца СЖ, затем добавляли 0,01 мл эритроцитов анализируемой группы, после чего жидкости смешивали. Смешение затрудняла высокая вязкость СЖ, для уменьшения которой в смесь добавляли 2–3 капли изотонического (0,9 %) раствора хлорида натрия и после перемешивания наблюдали за реакцией в образцах.

Для определения совместимости СЖ и эритроцитов по резус-фактору проводили пробу с 33 % раствором полиглюкина (аналогично определению совместимости эритроцитов донора и сыворотки крови реципиента [16]). В пробирку помещали капли исследуемой СЖ, полиглюкина и крови анализируемой группы и резуса. После перемешивания жидкостей добавляли в смесь изотонический раствор хлорида натрия, затем оценивали реакцию совместимости компонентов. Все эксперименты проведены при температуре воздуха в помещении 18–22 °С.

Результаты иммунологических реакций СЖ с эритроцитами разных групп крови приведены в таблице 1 [17]. Положительная реакция происходила в виде агглютинации эритроцитов. Агглютинация – склеивание и выпадение в осадок из однородной взвеси клеток, несущих антигены, под действием специфических антител – агглютининов. Отрицательную реакцию при смешивании СЖ и эритроцитов определяли, если проба выглядела как однородная, равномерно окрашенная красноватого цвета жидкость без осадка.

Агглютинация при смешивании СЖ и эритроцитомассы отличается от агглютинации эритроцитов сывороткой тем, что агглютинаты в СЖ имеют небольшие (порядка 10–100 мкм) размеры и напоминают частицы мелкого песка, в отличие от хлопьевидных скоплений эритроцитов в сыворотке.

Таблица 1 – Результат реакции СЖ исследованной группы 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), 0	
		Rh+	Rh–	Rh+	Rh–	Rh+	Rh–	Rh+	Rh–
0 (I)	Rh+	–	–	–	–	–	–	–	–
	Rh–	–	–	–	–	–	–	–	–
A (II)	Rh+	+	+	–	–	+	+	–	–
	Rh–	+	+	–	–	+	+	–	–
B (III)	Rh+	+	+	+	+	–	–	–	–
	Rh–	+	+	+	+	–	–	–	–
AB (IV)	Rh+	+	+	+	+	+	+	–	–
	Rh–	+	+	+	+	+	+	–	–

Примечание: «+» и «–» – положительная и отрицательная реакции

Из таблицы 1 следует, что реакции СЖ с эритроцитами аналогичны реакциям стандартных гемагглютинирующих сывороток с эритроцитами разных групп. Для того чтобы инициировать агглютинацию эритроцитомассы определенной группы, в СЖ должны присутствовать антитела против антигенов эритроцитов этой группы. Тот факт, что эритроциты II группы крови агглютинируются синовией людей с I и III группами крови, свидетельствует о наличии в их СЖ антител – агглютининов α – против антигена A. Агглютинация эритроцитов III группы синовией людей с I и II группами крови доказывает присутствие в такой СЖ агглютининов β против антигена B. Следовательно, в СЖ людей I группы есть α- и β-агглютинины, у людей II группы – β, а у III – 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 A и B антигены. Дающая отрицательную реакцию с эритроцитами всех групп синовия людей IV группы крови, как и их плазма, не содержит антител к антигенам A и B. Длительное реагирование (до 10 минут) антител СЖ с антигенами эритроцитов обусловлено прежде всего большей вязкостью 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. Причина в том, что СЖ, будучи диализатом крови с положительным резус-фактором, не содержит противорезусных антител, поэтому при смешивании как с Rh+, так и с Rh– эритроцитами реакция СЖ на резус-антиген должна быть отрицательной. С другой стороны, СЖ людей с отрицательным резус-фактором крови также не имела 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 крови. Полиглокиновая проба подтвердила отсутствие противорезусных антител в исследованных образцах СЖ.

В эксперименте на совместимость СЖ и эритроцитов по Rh-фактору во всех случаях образцы были совместимы. Об этом свидетельствовал вид содержимого пробирки: жидкость светло-красного цвета без осадка и хлопьев, равномерно окрашенная, опалесцирующая. Приведенные результаты свидетельствуют о том, что СЖ человека обладает тем же набором групповых антител, что и сыворотка крови, и подобно сыворотке может участвовать в тканевом иммунном ответе. Установлено наличие четырех групп СЖ по системе АВ0, идентичных четырем группам крови. Показано, что группа СЖ человека соответствует группе его крови. Критерием, во-первых, биосовместимости хондропротекторов на основе СЖ человека, и, во-вторых, возможности использования СЖ доноров при лечении суставов является совпадение тканевой (групповой) совместимости синовиальной жидкости донора и реципиента.

**Заключение.** СЖ представляет собой не имеющую аналогов конденсированную среду с многоуровневой коллоидной структурой, в которой протекают процессы метаболизма, и обладающая обширным комплексом иммунологических свойств. Как конденсированное тело СЖ реагирует на биофизическое поле сустава изменением своей структуры. Как клеточная культура, СЖ участвует в регуляции обмена веществ в тканях сустава и в защитных реакциях синовиальной среды сустава, накапливая антитела. Представленные результаты можно использовать для разработки методов диагностики и лечения заболеваний синовиальных суставов.

### Литература

1. Smart materials and structures / С.М. Friend. – London : Chapman and Hill, 1994. – 197 p.
2. Пинчук, Л.С. Трибофизика синовиальной жидкости / Л.С. Пинчук, Ю.М. Чернякова, С.Ф. Ермаков. – Минск : Беларус. навука, 2010. – 382 с.
3. Жидкие кристаллы в технике и медицине / С.Ф. Ермаков [и др.]. – Мн. : ООО «Асар», 2002. – 412 с.
4. Кадолич, Ж.В. Физическое модифицирование сопряжений полимер-металл для повышения их износостойкости на основе моделирования биофизических свойств естественных суставов: автореф. дис. ... канд. техн. наук : 01.04.07 / Ж.В. Кадолич ; ИММС им. В.А. Белого НАН Беларуси. – Гомель, 2002. – 19 с.
5. Tsvetkova, E.A. Physical properties of synovial fluids as a joint lubricating medium / E.A. Tsvetkova // Biophysics. – 2005. – Vol. 50, № 2. – Pp. 320–325.
6. Pinchuk, L.S. Tribology and biophysics of artificial joints / L.S. Pinchuk, V.I. Nikolaev, E.A. Tsvetkova, V.A. Goldade. – Kidlington, Oxford Joints : Elsevier Ltd., 2006. – 350 p.
7. Чернякова, Ю.М. Оптимизация диагностики и лечения синовита путем контроля биофизических свойств синовиальной жидкости (экспериментально-клиническое исследование): дис. ... канд. мед. наук : 14.00.20 / Ю.М. Чернякова. – Минск, 2006. – 91 л.
8. Искусственная синовиальная жидкость: пат. 9146 Респ. Беларусь, МПК А61К 35/16 / Ю.М. Чернякова, Л.С. Пинчук, Ж.В. Кадолич, В.И. Николаев, Е.А. Цветкова, Е.Д. Белоенко ; заявитель Институт механики металлополимерных систем НАН Беларуси им. В.А. Белого – № а 20040667 ; заявл. 14.07.04 ; опубл. 11.01.07 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2006. – № 1. – С. 8.
9. Способ лечения деформирующего артроза: пат. 10230 Респ. Беларусь, МПК А61К 35/16 / Л.С. Пинчук, Ю.М. Чернякова, В.И. Николаев, Е.А. Цветкова, Ж.В. Кадолич ; заявитель Институт механики металлополимерных систем НАН Беларуси им. В.А. Белого – № а 20050858 ; заявл. 01.09.05 ; опубл. 24.10.07 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2008. – № 1. – С. 64.
10. Tsvetkova, E. Joint biomechanics and problems of orthopedics / E.A. Tsvetkova, L.S. Pinchuk // Mechanika w medycynie: materialy 9 seminarium naukowego, Rzeszow (Poland), 19–20 Sept. 2008 / Politech. Rzes. ; M. Korzynskiego [pod red.]. – Rzeszow, 2008. – P. 237–244.
11. Белоенко, Е.Д. Трибологическое обоснование метода хондропротекции с помощью аутосыворотки крови и гиалуронатов / Е.Д. Белоенко, Ю.М. Чернякова, Л.С. Пинчук // Доклады НАН Беларуси. – 2007. – № 2, Т. 51. – С. 72–75.
12. Крагельский, И.В. Фрикционное взаимодействие твердых тел / И.В. Крагельский // Трение и износ. – 1980. – № 1, Т. 1. – С. 12–29.
13. Чернякова, Ю.М. Синовиальная жидкость: состав, свойства и лабораторные методы исследования / Ю.М. Чернякова, Е.А. Сементовская // Медицинские новости. – 2005. – № 2. – С. 9–14.
14. Оловникова, Н.И. Антигены эритроцитов человека / Н.И. Оловникова, Т.Л. Николаева // Гематология и трансфузиология. – 2001. – № 5, Т. 46. – С. 37–45.
15. Донсков, С.И. Группы крови в биологии человека – факты и предположения / С.И. Донсков // Гематология и трансфузиология. – 2001. – № 5, Т. 46. – С. 32–33.
16. Переливание донорской крови и ее компонентов: Инструкция по применению / Э.Л. Свирновская, В.С. Бондаренко, И.В. Бровко [и др.]. – Мн., 2003. – 70 с.
17. Способ определения групповой принадлежности синовиальной жидкости: пат. 2350958 РФ, МПК8 G 01N 33/53 / Ю.М. Чернякова, Л.С. Пинчук, Е.А. Цветкова ; заявитель Институт механики металлополимерных систем НАН Беларуси им. В.А. Белого – № 2008100658; заявл. 09.01.08 ; опубл. 27.03.09 // Официальный бюл. изобрет. – 2009. – № 9. – С. 82.

<sup>1</sup>Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины

<sup>2</sup>Белорусский торгово-экономический университет потребительской кооперации