© Группа авторов, 2005

Минеральный обмен и фосфатазная активность сыворотки крови в процессе репаративной регенерации костной ткани при замещении дефектов берцовых костей в эксперименте (часть 2)

С.Н. Лунева, М.В. Стогов, Д.Ю. Борзунов, Н.В. Петровская

The mineral metabolism and phosphatase activity of blood serum in the process of bone tissue reparative regeneration for experimental filling leg bone defects (part 2)

S.N. Luniova, M.V. Stogov, D.Y. Borzounov, N.V. Petrovskaya

Федеральное государственное учреждение науки
«Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова Росздрава», г. Курган
(директор — заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАМН, д.м.н., профессор В.И. Шевцов)

Представлены результаты исследования ферментативной активности щелочной и тартратрезистентной кислой фосфатазы в сыворотке крови собак в динамике замещения дефекта большеберцовой кости двухуровневым удлинением.
Ключевые слова: щелочная фосфатаза, тартратрезистентная фосфатаза, замещение дефекта, чрескостный остеосинтез.

The results of studying fermentative activity of alkaline and tartrate-resistant acid phosphatase of canine blood serum are given in the dynamics of tibial defect filling by two-level lengthening.
Keywords: alkaline phosphatase, tartrate-resistant phosphatase, defect filling, transosseous osteosynthesis.

Данное исследование является продолжением представленного ранее сообщения, в котором были продемонстрированы результаты изменения показателей минерального обмена сыворотки крови собак при замещении дефектов берцовых костей. Во второй части представлена динамика фосфатазной активности сыворотки крови в тех же экспериментальных условиях.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выполнено четыре серии опытов на 54 взрослых беспородных собаках. Экспериментальной моделью были выбраны дефекты дистальных (I, II серия опытов) и проксимальных (III, IV серия опытов) метадиафизов берцовых костей, составлявшие 20,9±0,3 % от исходной длины большеберцовой кости. В I и II серии опытов кортикотомии проксимального отломка выполняли на уровне нижнего края бугристости большеберцовой кости и в его диафизарной части на 1,0-1,5 см дистальнее входа в костномозговую полость питательной артерии (a. nutricia). В III и IV серии опытов кортикотомии выполняли в метадиафизе и диафизе дистального отломка. Таким образом, удлинение проксимального отломка осуществляли в условиях сохраненного внутрикостного кровообращения, дистального – при нарушенном магистральном кровотоке в удлиняемом отломке. Перемещение сформированных фрагментов в межотломковом диастазе выполняли с суточным темпом 1 мм за 4 приема. В I и III серии опытов дополнительные кортикотомии выполняли на этапе остеосинтеза, т.е. пострезекционные дефекты берцовых костей замещали последовательным удлинением отломков большеберцовой кости. Во II и IV серии опытов – одновременным двухуровневым удлинением одного из отломков большеберцовой кости.

Объектом исследования явилась сыворотка крови собак. Исследование сыворотки крови проводили до операции, перед дистракцией, на этапах дистракции, фиксации и после снятия аппарата. Активность ферментов определяли на автоматическом биохимическом анализаторе Stat Fax 1904 Plus (США), используя наборы реактивов фирмы «Vital Diagnostic» (Россия).

Для исследований особенностей скелетного гомеостаза, соотношения объемов остеогенеза и резорбции, оценки продолжительности фаз репаративного костеобразования дополнительно

нами рассчитывался системный индекс – фосфатазный индекс (ИФ), равный отношению щелочной и костного изоэнзима тартратрезистентной кислой фосфатаз ИФ=ЩФ/КФ.

Для нахождения достоверности различий с нормой использовали непараметрические критерии: рандомизации (для малых выборок, n<12) и Вилкоксона для независимых выборок (выборки умеренной численности, n≥12). Достоверность межгрупповых различий определяли с помощью непараметрического критерия Крускала-Уоллиса. Множественное сравнение проводили с применением критерия Данна.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Динамика активности ЩФ представлена в таблице 1. Согласно полученным данным видно, что во всех сериях опытов наблюдали значительное увеличение активности энзима перед дистракцией и к седьмым суткам дистракции. К концу этапа активность ЩФ снижалась также одновременно во всех опытах. К концу дистракции отмечали статистически значимые межгрупповые отличия (p<0,025): активность фермента в I и II сериях была выше, чем в III и IV сериях опытов. Наибольшие отличия зафиксированы между I и III сериями (p<0,05). В периоде фиксации активность фермента в I и II серии продолжала снижаться, а в I серии ко второму месяцу она уже не отличалась от дооперационного уровня. В III серии уровень ЩФ значительно возрастал в начале фиксации и снижался к концу этапа. В IV серии рост ЩФ наблюдался к концу фиксации, при этом с помощью статистического анализа удалось выявить на этом сроке значимые межгрупповые отличия, которые состояли в отличиях между значениями IV и I-II серий опытов. В I и II сериях значения активности ЩФ оставались повышенными после снятия аппарата.

Таблица 1

Динамика ферментативной активности ЩФ сыворотки крови собак экспериментальных серий на этапах исследования

Этапы исследования	Серии опытов			
	I серия	II серия	III серия	IV серия
До операции	63,1 (56,0-93,4), 26			
Начало дистракции	136,8 (126,0-162,0), 13 p=0,0001	133,5 (127,0-147,0), 10 p=0,0001	74,8 (72,8-160,4), 3	192,0 (113,6-220,8), 7 p=0,0004
7-е сутки дистракции	162,6 (120,0-186,0), 11, p=0,0004	130,2 (121,8-165,0), 7 p=0,0002	155,4 (106,7-162,0), 5 p=0,004	215,4 (136,9-245,7), 6 p=0,0003
14-е сутки дистракции	136,2 (126,6-154,8), 11 p=0,0006	117,6 (115,8-148,8), 3 p=0,02	134,0 (120,8-145,5), 6 p=0,0006	124,9 (98,4-114,0), 3 p=0,021
Конец дистракции*	134,1 (127,3-197,2), 12, p=0,0001	126,6 (112,6-133,0), 8 p=0,0007	103,1 (75,5-121,2), 5	102,0 (67,5-114,0), 5
14-е сутки фиксации	123,0 (99,7-136,5), 4	122,7 (119,4-126,0), 6 p=0,0006	246,0 (219,0-272,9), 2 p=0,01	110,1 (97,0-123,1), 2 p=0,05
30-е сутки фиксации	132,0 (74,7-156,0), 7 p=0,01	123,6 (118,5-153,0), 6 p=0,0006	181,2 (132,3-207,6), 3 p=0,01	116,4 (87,6-121,7), 3
60-е стуки фиксации	112,2 (108,9-115,5), 2	119,7 (109,6-123,0), 6 p=0,002	130,7 (130,0-146,3), 3 p=0,003	223,2 (199,8-234,6), 3 p=0,003
1 месяц без аппарата	58,8 (53,4-87,6), 3	81,0 (75,6-86,4), 2	240,0 (199,5-249,7), 3 p=0,003	-
2 месяц без аппарата	124,5 (123,7-125,2), 2 p=0,02	116,4 (116,4-141,0), 3 p=0,01	106,4 (94,0-109,5),6 p=0,03	-
4 месяц без аппарата	114,0 (109,5-122,1), 3 p=0,02	120,6 (106,5-122,5), 4 p=0,02	52,4 (51,3-53,4), 2	65,3 (52,6-128,6), 3

Примечание: Здесь и далее данные представлены в виде медианы (25-й и 75-й процентили), объем выборки. Подчеркнуты значения, достоверно отличающиеся от дооперационного уровня с указанным уровнем значимости. * – достоверные межгрупповые отличия на указанном сроке при p<0,05.

Полученные данные позволяют сделать вывод об изменениях остеобластической активности в экспериментальных сериях, то есть косвенно оценить процесс формирования органического матрикса при возмещении костных дефектов. Общим признаком для всех групп было значительное увеличение ЩФ в послеоперационный период и на первой неделе дистракции, что может являться следствием активной пролиферации остеобластов в этот период. Наиболее схожей была динамика активности ЩФ для I и II серий, III и IV, а различия максимальны для I и III, II и IV. Так, в I и II сериях опытов мы наблюдали один пик повышения активности фермента на начале дистракции, а в III и IV – два, в начале дистракции и на этапе фиксации. Это свидетельствует о том, что во втором случае остеобластический пул пополнялся дважды. В I и II сериях формировались условия для постоянного поддержания уровня пролиферативной активности остеобластов, тогда как для животных III и IV серий созданный на начале дистракции пул остеобластов постепенно расходовался и не пополнялся. На этапе фиксации снова создавались условия для их пролиферации, в результате чего отмечали второе повышение уровня ЩФ.

Активность ТрКФ в течение дистракции возрастала постепенно во всех группах. Статистически значимых межгрупповых отличий не обнаруживалось (табл. 2). На фиксации во всех группах происходил подъем активности энзима в сыворотке, при этом для III и IV серий она достигала максимально высоких значений в ходе всего эксперимента. После снятия аппарата уровень ТрКФ оставался повышенным во всех группах. Для животных всех 4 серий опытов была выявлена интересная особенность: у тех животных, для которых активность ТрКФ возрастала сразу в начале дистракции, в дальнейшем постепенно снижалась и возрастала еще раз на фиксации, а у тех собак, у которых рост ТрКФ происходил к концу дистракции, второго пика активности не наблюдалось.

Сравнительный анализ динамики изменения активности обоих фосфатаз (ЩФ и КФ) показал, что, с одной стороны, отмечалось четкое чередование процессов остеогенеза и остеолиза, с другой – одновременное развитие этих процессов. Поэтому для более точного описания механизмов развития процесса репаративного остеогенеза в условиях проведенного эксперимента мы рассчитывали соотношение ЩФ к ТрКФ, так называемый индекс фосфатаз (ИФ), динамика которого представлена в таблице 3.

Таблица 2

Динамика ферментативной активности ТрКФ сыворотки крови собак экспериментальных серий на этапах исследования

Этапы исследования	Серии опытов			
	I серия	II серия	III серия	IV серия
До операции	2,9 (2,4-3,3), 22			
Начало дистракции	4,7 (4,0-5,2),11 p=0,006	4,0 (3,0-4,4), 10 p=0,05	4,6 (4,2-5,2), 4 p=0,02	4,4 (4,2-5,3), 7 p=0,004
7-е сутки дистракции	4,0 (3,2-4,3), 8 p=0,03	4,7 (4,1-5,0), 7 p=0,02	4,2 (4,0-4,2), 5 p=0,03	4,9 (4,3-5,6), 6 p=0,003
14-е сутки дистракции	4,4 (4,2-4,7), 8 p=0,002	6,7 (6,3-6,7),3 p=0,004	5,8 (4,3-7,6), 6 p=0,002	5,9 (5,1-7,1), 4 p=0,004
Конец дистракции	6,2 (4,2-6,7), 12 p=0,0004	3,8 (3,1-4,0), 8	5,3 (5,3-9,3), 5 p=0,005	7,4 (5,3-9,3), 6 p=0,01
14-е сутки фиксации	5,3 (5,3-6,0), 3 p=0,007	6,9 (6,2-7,1), 6 p=0,0002	8,1 (7,5-8,7),2 p=0,01	7,8 (7,7-7,9), 2 p=0,01
30-е сутки фиксации	6,0 (4,8-7,3), 6 p=0,001	6,7 (5,1-7,1), 6 p=0,0007	8,4 (7,2-8,7), 3 p=0,004	4,2 (3,5-5,4),3
60-е сутки фиксации	4,8 (4,7-4,8), 2 p=0,04	6,0 (6,0-6,7), 6 p=0,0003	8,7 (6,1-14,0), 3 p=0,009	6,4 (5,7-7,9), 3 p=0,007
1месяц без аппарата	6,1 (5,7-6,5), 2 p=0,02	4,9 (4,1-5,7), 2	5,5 (4,8-6,2), 3 p=0,01	-
2 месяц без аппарата	6,7 (6,3-7,0), 2 p=0,01	7,1 (7,0-7,9), 3 p=0,003	4,0 (3,5-4,1), 6 p=0,03	-
4 месяц без аппарата	6,9 (6,8-6,9), 3 p=0,003	6,8 (6,3-7,6), 4 p=0,001	6,0 (5,9-6,2), 2 p=0,02	4,9 (3,7-6,9), 3

Примечание: см. табл. 1

Таблица 3

Динамика ИФ сыворотки крови собак экспериментальных серий на этапах исследования

Этапы исследования	Серии опытов			
	I серия	II серия	III серия	IV серия
До операции	23,4 (16,6-31,5), 21			
Начало дистракции	33,3 (25,8-37,5), 11 p=0,007	35,7 (31,3-44,1), 10 p=0,002	15,4 (14,3-40,2), 4	31,7 (23,5-49,4), 7 p=0,04
7-е сутки дистракции	36,6 (30,7-45,2), 8 p=0,004	28,3 (26,5-32,5), 7	35,6 (24,3-38,3), 5	48,2 (25,2-52,6), 6 p=0,02
14-е сутки дистракции	30,5 (27,2-33,5), 8	17,6 (17,4-23,8), 3	20,6 (19,4-27,6), 6	29,0 (20,1-29,8), 3
Конец дистракции	27,1 (21,1-30,9), 12	33,9 (24,2-35,4), 8 p=0,04	13,5 (10,9-14,2), 5, p=0,05	12,7 (11,7-31,9), 5
14-е сутки фиксации	23,6 (20,8-27,5), 3	19,2 (16,8-22,9), 6	32,0 (26,3-37,8), 2	14,3 (12,4-16,1), 2
30-е сутки фиксации	19,1 (14,7-25,2), 6	22,5 (17,7-25,8), 6	21,4 (17,8-23,9), 3	30,3 (19,5-35,3), 3
60-е сутки фиксации	23,5 (22,6-24,5), 2	19,3 (17,5-20,2), 6	18,7 (12,7-27,5), 3	34,6 (30,5-35,3), 3
1 месяц без аппарата	14,0 (12,5-15,4), 2	19,2 (15,0-23,4), 2	34,8 (31,9-49,8), 3 p=0,03	-
2 месяц без аппарата	18,9 (17,8-19,9), 2	16,9 (16,6-18,0), 3	27,5 (19,8-30,3), 6	-
4 месяц без аппарата	16,6 (15,9-18,0), 3	15,4 (11,8-19,6), 4	8,7 (8,7-8,8), 2 p=0,01	16,0 (14,6-18,8), 3

Примечание: Обозначения как в табл. 1

Рост индекса фосфатаз отмечался в первые две недели эксперимента, на начале дистракции и через неделю дистракции, за счет значительного увеличения ЩФ. Высокие значения индекса на дистракции сохранялись для I и II серий, тогда как в III и IV сериях происходила тенденция к снижению этого показателя. Особенно четко это различие наблюдалось к концу дистракции. Такое снижение ИФ было связано с резким подъемом в этот период активности ТрКФ в сыворотке крови животных III и IV серий. На фиксации соотношение фосфатаз во всех группах от нормы отличалось незначительно. После снятия аппарата ИФ во всех группах относительно дооперационного уровня был снижен.

В целом, изучение активности ферментов позволило выявить особенности участия клеточных элементов костной ткани при репаративной регенерации ткани в условиях проведенного эксперимента. Для всех групп отмечали одновременное повышение активности как остеобластического элемента, так и остеокластического, с преобладанием на отдельных этапах одного из этих двух звеньев. Так, на этапе дистракции, особенно в первые две недели эксперимента, значительно увеличивалась остеобластическая активность, что связано с участием этих клеточных элементов в формировании органического матрикса костной ткани. При этом, однако, процесс минерализации наступал не сразу. Формирование костного минерала, судя по показателям минерального обмена, наступало лишь к концу дистракции, когда из сыворотки крови происходила резкая элиминация кальция. На фиксации начинался процесс ремоделирования сформированной костной ткани, причем процесс этот нарастал через месяц фиксации, когда, по-видимому, масса межклеточного вещества новой костной ткани в дефекте заметно увеличивалась. По данным минерального обмена, этот процесс сопровождался извлечением из кровотока фосфата сыворотки. Особенностью данного эксперимента являлось еще и то, что процессы минерализации и деминерализации продолжались длительное время после снятия аппарата. Представленные в исследовании данные указывают еще на одно обстоятельство – интенсивность костеобразования на этапах дистракции и фиксации во всех сериях зависела от интенсивности пролиферации остеобластов в послеоперационный период до начала дистракции. Поэтому создание оптимальных условий для увеличения пула остеобластов в эти сроки может существенно повлиять на исход репаративных процессов в костной ткани.

Сравнение динамики репаративного костеобразования в проведенном исследовании позволило отметить некоторые различия между экспериментальными сериями. Наибольшие различия, как это представлено выше, наблюдали между I-

II и III-IV сериями эксперимента. Особенностью репаративного процесса для III и IV серий являлась двухфазность процесса с двумя пиками костеобразования в начале дистракции и к месяцу фиксации, при этом наиболее явно этот процесс наблюдался у животных III серии. Для первых двух групп была характерна более четкая и последовательная смена фаз роста остеобластической активности, минерализации и ремоделирования новообразованной ткани, что говорит о естественном протекании процесса репарации в данных условиях эксперимента.

Результаты представленного исследования позволили сделать следующие выводы.

ВЫВОДЫ

1. Процесс репаративной регенерации костной ткани в условиях замещения пострезекционных дефектов большеберцовой кости двухуровневым удлинением отломка носил стадийный характер: фаза роста клеточных элементов костной ткани (после операции – начало дистракции), фаза минерализации (конец дистракции – середина фиксации), фаза ремоделирования новообразованной костной ткани (середина фиксации – безаппаратный период).

2. По данным исследования минерального обмена для двухуровневого удлинения отломка большеберцовой кости был характерен длительный период ремоделирования новообразованной костной ткани. Процессы минерализации и деминерализации костной ткани продолжались до года безаппаратного периода.

3. Выявленные повышенные значения активности ТрКФ на этапе фиксации у животных III, IV серий опытов, свидетельствовали о преобладании в фазе ремоделирования процессов резорбции костной ткани при замещении дефектов берцовых костей двухуровневым удлинением дистального отломка большеберцовой кости.

4. При двухуровневом удлинении дистального отломка (III, IV серии опытов) была характерна двухфазность процесса с двумя пиками костеобразования в начале дистракции и к месяцу фиксации, что свидетельствовало о напряжении протекающих процессов регенерации ткани.

5. Для процесса замещения дефекта берцовых костей двухуровневым удлинением проксимального отломка (I, II серии опытов) была характерна более четкая и последовательная смена фаз роста остеобластической активности, минерализации и ремоделирования новообразованной костной ткани, что свидетельствовало о гармоничном протекании процессов восстановления костной ткани.

Рукопись поступила 23.04.04.

Предлагаем вашему вниманию

В.И. Шевцов, А.Т. Худяев, С.В. Люлин

НАРУЖНАЯ ТРАНСПЕДИКУЛЯРНАЯ ФИКСАЦИЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С ПЕРЕЛОМАМИ ГРУДНОГО И ПОЯСНИЧНОГО ОТДЕЛОВ ПОЗВОНОЧНИКА

Курган, 2003 – 207 с.

ISBN 5-89506-019-6

Книга посвящена одной из актуальных проблем нейрохирургии и травматологии.

В ней рассматриваются современные принципы лечения повреждений позвоночника в условиях применения аппарата наружной транспедикулярной фиксации.

Книга будет представлять большой интерес для нейрохирургов, ортопедов-травматологов, неврологов, нейрофизиологов и рентгенологов.