

**Влияние низкомолекулярных неколлагеновых белков костной ткани с инсулиноподобными свойствами на содержание компонентов протеогликанов в сыворотке крови собак в динамике при заживлении переломов вертлужной впадины**

С.Н. Лунева, И.В. Шипицына

***The effect of bone tissue low-molecular non-collagen proteins with insulin-like properties on the content of proteoglycane components in canine blood serum dynamically for healing of acetabular fractures***

S.N. Luneva, I.V. Shipitsyna

Федеральное государственное учреждение «Российский научный центр  
"Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова» Минздравсоцразвития РФ, г. Курган  
(директор — доктор медицинских наук А.В. Губин)

В эксперименте изучено изменение содержания компонентов протеогликанов в сыворотке крови после перорального и внутриакулярного введения препарата, обладающего инсулиноподобными свойствами, при заживлении переломов вертлужной впадины. Исходя из полученных данных, была проведена сравнительная характеристика двух способов введения препарата. Механизм действия препарата с инсулиноподобными свойствами при внутриакулярном введении отличался от перорального способа введения, что подтверждалось различной динамикой изменения концентрации сульфатов и уоновых кислот в сыворотке крови.

Ключевые слова: протеогликаны, перелом вертлужной впадины, внутриакулярное и пероральное введение.

The change in the content of blood serum proteoglycane components has been studied experimentally after peroral and intraarticular infusion of a preparation possessing insulin-like properties during healing of acetabular fractures. Based on the data obtained, comparative characteristic of two ways of the preparation infusion was done. The action mechanism of the preparation with insulin-like properties in case of intraarticular infusion differed from the peroral way of infusion, that was confirmed by different dynamics of changes in serum sulfate and uronic acid concentration.

Keywords: proteoglycans, acetabular fracture, intraarticular and peroral infusion.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что матрикс костной ткани содержит низкомолекулярные полипептиды неколлагеновой природы [1, 2]. Показана потенциальная возможность использования наноконструктов костного матрикса для регуляции остео- и хондрогенеза [6, 9, 10]. Вместе с тем, в научной литературе отсутствуют сведения о применении подобных препаратов с целью лечения внутрисуставных повреждений. В качестве оценочных критериев течения патологического процесса при скелетной травме в лабораторной диагностике используется определенный набор биохимических тестов, среди которых особое место занимают определение содержания компонентов протеогликанов (ПГ) [3]. Качественные изменения в молекулах протеогликанов (ПГ) наступают значительно раньше, чем воз-

никает болевой синдром [5, 7]. Продукты тканевого метаболизма ПГ находятся в динамическом равновесии с их содержанием в сыворотке крови. Поэтому изучение компонентов-маркеров гликозаминогликанов (глюкуроновые кислоты и др.), входящих в состав протеогликанов и сиаловых кислот, в состав сиалопротеидов, принимающих участие в образовании агрегата протеогликана (ПГ), в сыворотке крови является важным критерием в диагностике и прогнозировании течения патологического процесса.

**Цель работы** – оценить влияние низкомолекулярных неколлагеновых белков костной ткани с инсулиноподобными свойствами на содержание компонентов протеогликанов в сыворотке крови при заживлении перелома вертлужной впадины.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполнен на 16 беспородных собаках обоего пола в возрасте от одного года

до четырех лет. Содержание и эвтаназию животных проводили в соответствии с требова-

ниями Министерства здравоохранения РФ к работе экспериментально-биологических клиник. В условиях операционной проведено моделирование центрального перелома вертлужной впадины с последующей фиксацией тазобедренного сустава аппаратом внешней фиксации оригинальной конструкции. В первой группе животных (I, n=6) на седьмые сутки после операции внутриаикулярно (заявка на изобретение №2008152874) вводили препарат низкомолекулярной белковой фракции (ПНБФ)  $M_r \approx 5$  Кд, выделенный из костной ткани сельскохозяйственных животных и обладающий инсулиноподобными свойствами. Во второй группе (II, n=6) тот же препарат вводили перорально. В третьей группе сравнения (III, n=6) препарат не применяли.

Животных выводили из эксперимента на 14 и 42 сутки после операции. Кровь для биохими-

ческих исследований забирали до операции и еженедельно в послеоперационном периоде. Исследование органических компонентов сыворотки крови включало определение концентрации глюконовых кислот [8], сиаловых кислот [11], сульфатов [4]. На основе полученных данных рассчитывали соотношение S/ГУК (сульфаты/уроновые кислоты), характеризующее степень сульфатирования гликозаминогликанов (ГАГ).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием компьютерной программы «Atte Stat» (И.П. Гайдышев, 2003). Достоверность различий между группами проверяли с помощью непараметрического критерия U (критерий Вилкоксона-Манна-Уитни). Различия между группами наблюдений считались статистически значимыми при  $P_u < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное изучение содержания глюконовых, сиаловых кислот и сульфатов выявило достоверные отличия значений этих показателей от аналогичных в сыворотке крови собак контрольной группы ( $P_u < 0,05$ ).

В первой группе (внутриаикулярное введение препарата) уровень сульфатов на 35-е и 42-е сутки эксперимента был достоверно выше данных контрольной группы. Концентрация сульфатов возросла в 5 раз по сравнению с данными контрольной группы ( $1,55 \pm 0,03$  ммоль/л) и в 3 раза по сравнению с дооперационными значениями ( $2,9 \pm 0,13$ ).

Во второй группе (пероральное введение препарата) уровень сульфатов на 42-е сутки эксперимента составил  $2,61 \pm 0,09$  ммоль/л, что в 1,7 раза выше данных контрольной группы ( $1,55 \pm 0,03$  ммоль/л) и достоверно не отличается от дооперационных значений ( $2,94 \pm 0,13$  ммоль/л) (рис. 1).

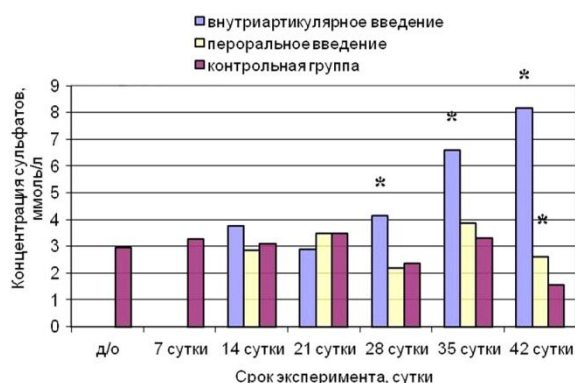


Рис. 1. Динамика изменения уровня сульфатов в сыворотке крови собак после перорального и внутриаикулярного введения препарата с инсулиноподобными свойствами, ммоль/л (\* – уровень значимости различий по сравнению с данными контрольной группы по U-критерию Вилкоксона-Манна-Уитни при  $P_u < 0,05$ )

Содержание ГУК (внутриаикулярное введение) было достоверно выше данных контрольной группы на 21-е, 35-е и 42-е сутки после операции (рис. 2). Максимальный уровень ГУК был достигнут на 42-е сутки эксперимента и составил  $4,97 \pm 0,12$  ммоль/л, что на 26,5 % выше значений контрольной группы ( $3,93 \pm 0,12$  ммоль/л).

В группе с пероральным введением препарата концентрация уроновых кислот в отличие от данных контрольной группы в ходе исследования достоверно снижалась. Минимальное значение наблюдали на 42-е сутки эксперимента –  $2,15 \pm 0,13$  ммоль/л, что в 1,8 раза ниже данных контрольной группы (рис. 2).

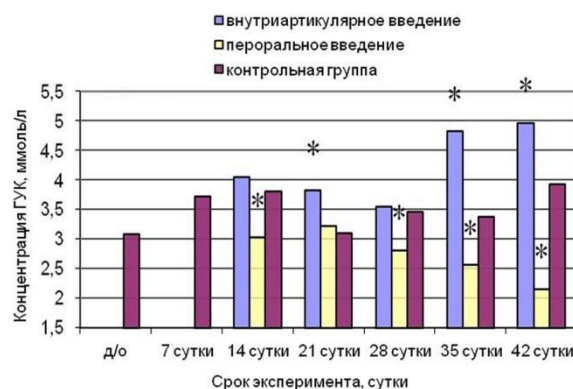


Рис. 2. Динамика изменения концентрации уроновых кислот в сыворотке крови собак после перорального и внутриаикулярного введения препарата с инсулиноподобными свойствами, ммоль/л (\* – уровень значимости различий по сравнению с данными контрольной группы по U-критерию Вилкоксона-Манна-Уитни при  $P_u < 0,05$ )

Внутриаикулярное введение препарата способствовало достоверному повышению концентрации уроновых кислот в сыворотке крови в 1,6 раза (42-е сутки) от уровня дооперацион-

ных значений.

В группе с пероральным введением препарата концентрация уроновых кислот в течение первого месяца была в пределах дооперационных значений, а начиная с 35-х суток достоверно снижалась.

Определение содержания сиаловых кислот (СК) в сыворотке крови используется в качестве маркера активности воспалительного процесса.

В группе с внутриаикулярым введением препарата концентрация сиаловых кислот была достоверно ниже данных контрольной группы на 35 и 42-е сутки эксперимента (рис. 3).

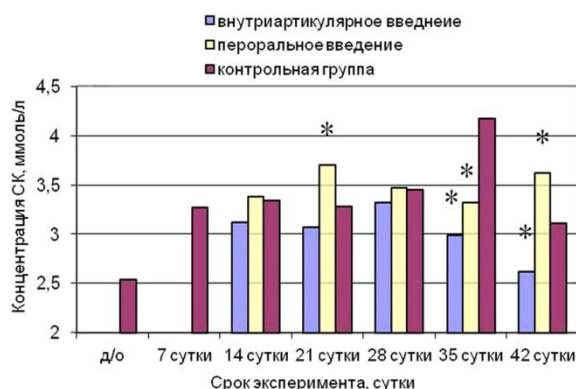


Рис. 3. Динамика изменения уровня сиаловых кислот в сыворотке крови собак после перорального и внутриаикулярым способов введения препарата с инсулиноподобными свойствами, ммоль/л (\* – уровень значимости различий по сравнению с данными контрольной группы по U-критерию Вилкоксона-Манна-Уитни при  $P < 0,05$ )

В группе с пероральным введением препарата уровень СК ( $3,32 \pm 0,08$  ммоль/л) был достоверно ниже данных контрольной группы ( $4,17 \pm 0,12$  ммоль/л) на 35-е сутки после операции.

В исследуемых группах концентрация сиаловых кислот на протяжении всего исследования была достоверно выше дооперационных значений. Это может быть следствием взаимосвязи процессов минерализации суставного хряща у собак и содержанием сиалогликопротеинов. На 42-е сутки в группе с внутриаикулярым введением препарата концентрация СК достоверно не отличалась от дооперационных значений, что косвенно свидетельствовало о снижении воспалительного процесса в области перелома.

Важным показателем при оценке тяжести патологического процесса является соотношение S/ГУК, характеризующее степень сульфатирования ГАГ. В опытных группах отношение S/ГУК было достоверно выше значений контрольной группы на 35 и 42-е сутки эксперимента (рис. 4).

Динамика изменения соотношения S/ГУК в изучаемых группах была не одинаковой. В группе с внутриаикулярым введением пре-

парата соотношение S/ГУК повышалось за счет одновременного увеличения в сыворотке крови концентрации сульфатов и уроновых кислот, а в группе с пероральным введением препарата – за счет снижения концентрации уроновых кислот при незначительном изменении концентрации сульфатов. В контрольной серии соотношение S/ГУК снижалось за счет повышения в сыворотке крови концентрации уроновых кислот. Согласно полученным данным, как внутриаикулярым, так и пероральное введение препарата способствовало повышению соотношения S/ГУК. Однако механизм действия препарата с инсулиноподобными свойствами при внутриаикулярым введении отличается от перорального способа введения, что подтверждается, в данном случае, динамикой изменения концентрации сульфатов и уроновых кислот в сыворотке крови.

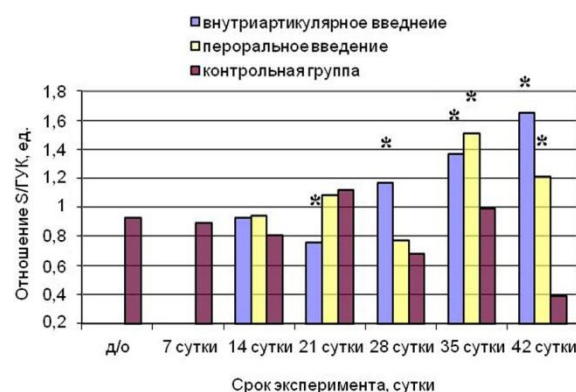


Рис. 4. Влияние низкомолекулярных неколлаиеновых белков костной ткани на изменение соотношения сульфаты/глицуроновые кислоты (S/ГУК) при заживлении переломов вертлужной впадины, ед. (\* – уровень значимости различий по сравнению с данными контрольной группы по U-критерию Вилкоксона-Манна-Уитни при  $P < 0,05$ )

Исследование концентраций маркеров деградации органического матрикса костной ткани в сыворотке крови собак с переломом вертлужной впадины показало значительное увеличение степени сульфатирования ГАГ, на что указывает повышение отношения сульфаты/ГУК почти в 2 раза от дооперационных значений в случае внутриаикулярым введения препарата и в 1,3 в случае перорального введения. Увеличение минеральной серы при внутриаикулярым введении препарата компенсировалось достоверным, более чем в 3 раза, повышением ГУК.

Таким образом, в опытных группах введение препарата с инсулиноподобными свойствами способствовало повышению содержания соотношения S/ГУК в сыворотке крови, что косвенно свидетельствовало о процессе ремоделирования костной ткани и периоде активной сборки ПГ комплексов в процессе сращения переломов.

ЛИТЕРАТУРА

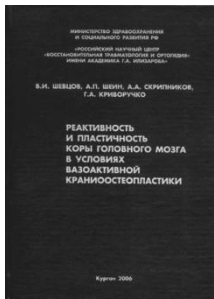
1. Выделение и биотестирование костных рострегулирующих факторов : метод. рекомендации / сост. : К. С. Десятниченко [и др.]. Курган, 1990. 23 с.
2. Выделение из костной ткани и биотестирование в эксперименте низкомолекулярных полипептидов с регуляторной функцией / К. С. Десятниченко [и др.] // Тезисы докладов XXIV областной научно-практической конференции. Курган, 1997. С. 202-203.
3. Герасимов А. М., Фурцева Л. Н. Биохимическая диагностика в травматологии и ортопедии. М. : Медицина, 2002. 568 с.
4. Способ определения сульфатов в сыворотке крови : удостоверение № 81 от 04.05.1984 г. на ращпредложение / Л. И. Грачева; КНИЭКТО.
5. Косягин Д. В., Погожева Е. И., Барер Ф. С. Пространственная организация протеогликанов человека и животных // 10-й Европейский конгресс ревматологов : тез. докл. М., 1986. С. 178-181.
6. О перспективах использования наноматериалов в лечении повреждений и заболеваний тканей опорно-двигательной системы / В. И. Шевцов [и др.] // Гений ортопедии. 2008. № 4. С. 26-31.
7. Сидоркина А. Н., Сидоркин В. Г. Биохимические аспекты травматической болезни и ее осложнений. Н. Новгород : НИИТО, 2007. 120 с.
8. Bitter T., Muir H. M. A modified uronic acid carbazole reaction // Analyt. Biochem. 1962. Vol. 4. P. 330-336.
9. Carano R. A. D., Filvaroff E. H. Angiogenesis and bone repair // Drug Discovery Today. 2003. Vol. 8, No. 21. P. 980-989.
10. The role of angiogenesis in a murine tibial model of distraction osteogenesis / R. S. Carvalho [et al.] // Bone. 2004. Vol. 34. P. 849-861.
11. Warren L. The thiobarbituric acid assay of silicic acids // J. Biol. Chem. 1959. Vol. 234, No 8. P. 1971-1975.

Рукопись поступила 17.01.11.

Сведения об авторах:

1. Лунева Светлана Николаевна – ФГУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздравсоцразвития РФ, руководитель клинко-экспериментального лабораторного отдела, д.б.н., профессор;
2. Шипицына Ирина Владимировна – ФГУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздравсоцразвития РФ, м.н.с. лаборатории микробиологии и иммунологии.

Предлагаем вашему вниманию



**В.И. Шевцов, А.П. Шеин, А.А. Скрипников, Г.А. Криворучко**  
**РЕАКТИВНОСТЬ И ПЛАСТИЧНОСТЬ**  
**КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА**  
**В УСЛОВИЯХ ВАЗОАКТИВНОЙ**  
**КРАНИООСТЕОПЛАСТИКИ**

Курган : ДАММИ, 2006. – 124 с.: ил. 22.

В монографии проанализированы основные тенденции в изменении качественных, количественных электроэнцефалографических и электронейромиографических характеристик функционального состояния больных с последствиями инсульта и тяжелой черепно-мозговой травмы в процессе лечения по методике вазоактивной краниоостеопластики, разработанной в Российском научном центре «Восстановительная травматология и ортопедия» имени академика Г.А. Илизарова. Изучены специфические особенности реакции центральной нервной системы на вазоактивную краниоостеопластику у пациентов в зависимости от возраста, этиологии и тяжести исходного поражения пирамидных структур головного мозга, а также сформулированы представления о стадийности и механизмах реактивных перестроек в коре головного мозга под влиянием вазоактивной краниоостеопластики у больных указанных нозологических групп. Кроме того, авторами представлен новый способ оценки выраженности центрального гемипареза по данным электронейромиографии – методика расчета цереброспинального индекса, а также на основе применения данного критерия – технология картирования моторных зон коры больших полушарий головного мозга.

Книга предназначена для нейрофизиологов, нейрохирургов, реабилитологов.