

© Группа авторов, 1997.

Изменения показателей углеводного компонента протеогликанов тканей коленного сустава при удлинении голени у собак

Е.Л. Матвеева, Т.В. Русова, С.А. Ерофеев, А.А. Шрейнер

Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова, г. Курган (Генеральный директор — академик РАМТН, д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ В.И. Шевцов)

В хряще и синовиальной оболочке коленного сустава собак с удлинением голени аппаратом Илизарова определяли содержание гликозаминогликанов по количеству уроновых кислот и активность ферментов лизосом - катепсина Д, гексозидазы и гиалуронидазы. Эти параметры сравнивали с таковыми в артикулярных тканях контралатеральной конечности и у здоровых собак. Выявлены значительные изменения в метаболизме протеогликанов и активности лизосомальных ферментов на разных сроках эксперимента.

Ключевые слова: собаки, коленный сустав, хрящ, синовиальная оболочка, удлинение, аппарат Илизарова, гликозаминогликаны, лизосомальные ферменты.

В современной артрологии сложилось представление о единстве источников развития и единой функциональной зависимости всех компонентов сустава: синовиальная оболочка, синовиальная жидкость и суставной хрящ, образующих единую синовиальную среду. Практическая артрология испытывает острую потребность в интегральном подходе при оценке состояния и потенций суставных структур в различных ситуациях нормальной жизнедеятельности и при различных формах патологии [1].

Удлинение костей в той или иной мере сопровождается сдавливанием суставных поверхностей смежных суставов и некоторым ограничением движения в суставе. При этом меняется метаболизм всех компонентов тканей, в том числе и одного из основных - протеогликанов (ПГ). Целью наших исследований явилось изучение состояния ПГ в хряще и синовиальной оболочке коленного сустава собак удлиняемой и контралатеральной конечности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Биохимические исследования проведены на 9 собаках, у которых через 5 дней после флекссионной остеоклазии большеберцовой кости осуществляли удлинение голени аппаратом Илизарова с темпом 1,0 мм при восьмикратной дробности distraction. Животных выводили из опыта на следующих этапах: 14, 28 дней distraction, 30 дней фиксации после 28 дней distraction и через 30 дней после снятия аппарата.

Материал забирали после эвтаназии животных, которая осуществлялась введением летальных доз барбитуратов. Из коленных суставов опытной и контралатеральной конечности препарировали суставной хрящ и синовиальную

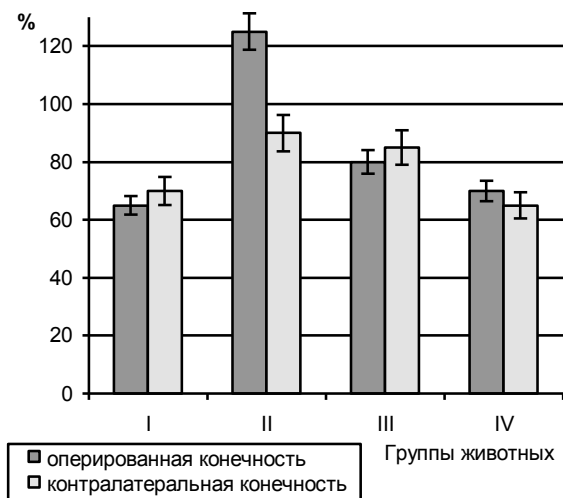
оболочку. Из тканей ПГ экстрагировали 0,1 М ацетатным буферным раствором, pH 5,5. В последующем проводили папаиновый протеолиз, дифференцируя ПГ на слабо- и тесно связанные с внеклеточным матриксом. Общее количество гликозаминогликанов (ГАГ), и фракций ГАГ, освобожденных протеолизом, определяли по содержанию уроновых кислот в экстрактах и протеолизатах карбазоловым методом [2]. В этих же тканях исследовали активность ферментов лизосом, способных деградировать протеогликаны: катепсина Д (КФ 3.4.32.5), гексозидазы (КФ 3.2.1.30) [3], гиалуронидазы (КФ 3.2.1.35/36) [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

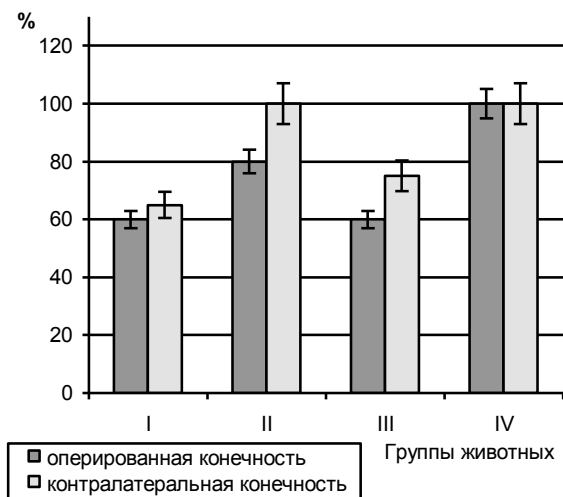
Визуально поверхность хрящей у всех собак была гладкой, блестящей, молочного цвета, за исключением суставов собак с 28 днями distraction, у которых суставной хрящ был синеватого цвета, истончен, поверхность мышечка эрозирована как в оперированной, так и в контралатеральной конечностях. Результаты количественного определения ГАГ по содержанию

уроновых кислот в средах представлены на рис.1-4. Выявлены следующие закономерности: - в хряще и синовиальной оболочке общее количество ГАГ в оперированной и контралатеральной конечностях изменялось синхронно. Максимальные изменения наблюдали в суставном хряще оперированной конечности после 14 и 28 дней distraction. У собак, содержавшихся 30

дней без аппарата, эта величина приближалась к нормальному уровню (рис.1).



а



б

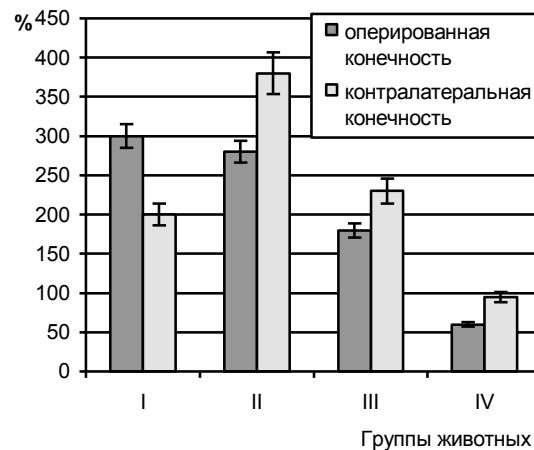
Рис. 1. Изменение общего количества ПГ коленного сустава собак при удлинении голени: а - хрящ, б - синовиальная оболочка.

Группы животных соответствуют следующим срокам:

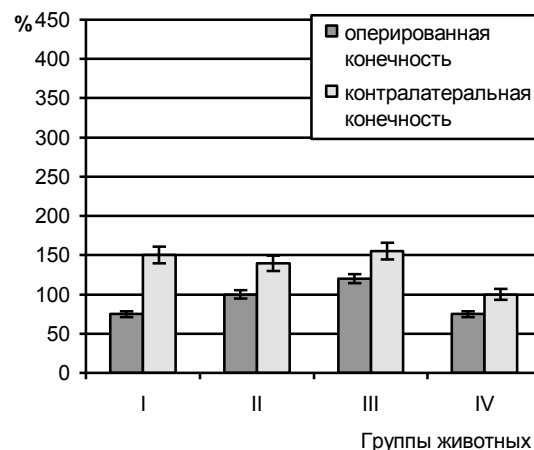
- I. - 14 дней дистракции, без фиксации;
- II. - 28 дней дистракции, без фиксации;
- III. - 28 дней дистракции, 30 дней фиксации;
- IV. - 28 дней дистракции, 91 день фиксации, 30 дней после снятия аппарата.

- доля ПГ, слабо связанных с матриком, изменялась наиболее значительно в суставном хряще оперированной и контралатеральной конечностей (через 14 и 28 дней дистракции), особенно сильно в контралатеральной конечности после 28 дней дистракции. Впоследствии она снижалась и достигала нормальных величин. В оперированной конечности у собак, находившихся 30 дней без аппарата, этот показатель снижался ниже контрольных величин. В синовиальной оболочке доля слабо связанных ПГ выше в кон-

тралатеральной конечности, хотя в обоих суставах их доля незначительно отличалась от нормальных величин, что и являлось существенным различием в обмене ПГ хряща и синовиальной оболочки (рис.2)



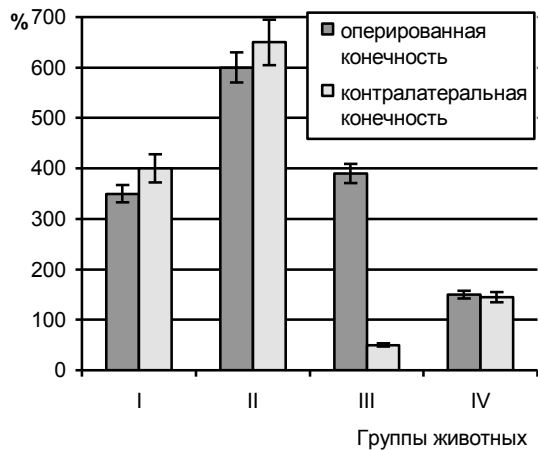
а



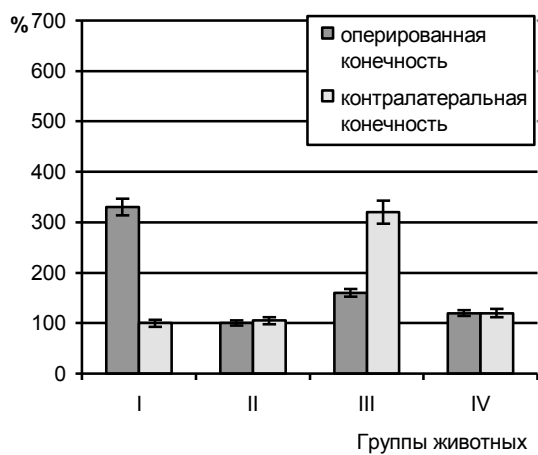
б

Рис. 2. Изменение слабо связанных ПГ коленного сустава собак: а - хрящ, б - синовиальная оболочка.

- в суставном хряще наиболее существенно (в 6 раз) возрастала активность катепсина Д, причем в контралатеральной конечности значительнее (14 и 28 дней дистракции). Такая же тенденция отмечена и для гексозидазы (рис.3). В синовиальной оболочке существенное увеличение активности катепсина Д и гексозидазы наблюдалось в оперированной конечности после 28 дней дистракции, причем активность катепсина Д возрастала более значительно. Активность гиалуронидазы в тканях собак через 28 дней дистракции и 30 дней фиксации не определялась. У животных, содержащихся без аппарата, активность ферментов повышена в синовиальной оболочке и хряще оперированной конечности (рис.4).



а

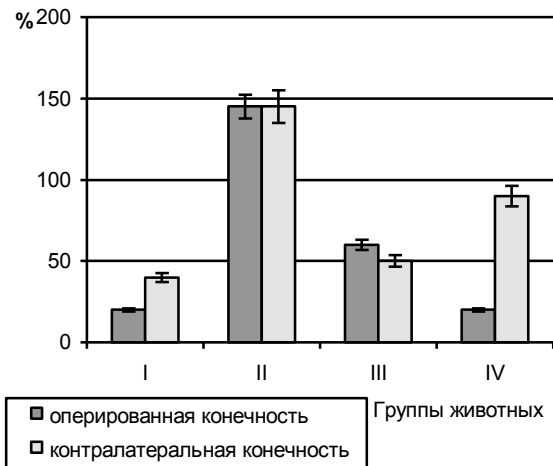


б

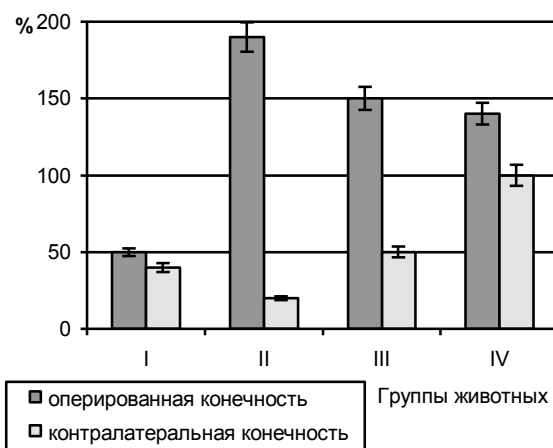
Рис. 3. Изменение активности в хряще коленного сустава собак: а - катепсин Д, б - гиалуронидаза.

Таким образом, через 28 дней distraction значительно изменяются спектр ГАГ и активность лизосомальных ферментов в суставных тканях как оперированной, так и контралатеральной конечностей животных, что связано с оперативным вмешательством и особенностью нагружения конечностей в условиях distraction. Изменение метаболических процессов в тканях имеют как общие черты, так и свои особенности, присущие данной ткани.

В период фиксации и в последующий восстановительный период изученные показатели в контралатеральной конечности приближались к нормальным значениям, тогда как в опериро-



а



б

Рис. 4. Изменение активности в синовиальной оболочке коленного сустава собак: а - катепсин Д, б - гиалуронидаза.

ванной конечности сохранялась альтерация активности лизосомальных ферментов в синовиальной оболочке коленного сустава и содержания слабо связанных ПГ в суставном хряще. Отмеченные изменения кислых гликозаминогликанов, вероятно, связаны с изменением синтеза их углеводных цепей и активацией деструктивных процессов в белковой части протеогликанов. Следовательно, снижение циклической нагрузки на сустав вызывает значительные изменения в метаболизме протеогликанов, а возврат к обычному двигательному стереотипу способствует реституции последних в изученных тканевых компонентах коленного сустава.

ЛИТЕРАТУРА

1. Павлова В.Н. Синовиальная среда суставов. - М.: Медицина, 1980. - 296 с.
2. Bitter T., Muir H.M. A modified uronic acid carbazole reaction // Analit. Biochem. - 1962. - Vol.4. - P. 330-334.
3. Barret A.J. Tissue proteinases / Eds.: A.J. Barret, J.T. Dingle. - Amsterdam-London: North-Holland Publ. Co, 1971. - 468 p.
4. Aronson N.N., Davidson E.A. Lysosomal hyaluronidase // J. Biol. Chem. - 1965. - Vol. 240. - P. 3222-3224.

Рукопись поступила 18.12.96 г.