

© Группа авторов, 1999

Биохимические маркеры активности костеобразования при удлинении бедра в высокоточном автоматическом режиме

**В.И. Шевцов, Д.А. Попков, К.С. Десятниченко, А.В. Попков,
Л.С. Кузнецова, Н.В. Офицерова**

Biochemical markers of osteogenesis activity during femoral elongation in automatic mode of high division

**V.I. Shevtsov, D.A. Popkov, K.S. Desiatnichenko, A.V. Popkov, L.S. Kuznetsova,
N.V. Ofitserova**

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)

У 17 больных в процессе удлинения бедра в автоматическом режиме исследовали биохимические показатели, отражающие течение репаративного остеогенеза, и содержание остеотропных гормонов. Выявлены математические корреляции между радиоиммунными и биохимическими показателями на различных этапах лечения. Исследуются также изменение регуляции и состояние репаративного остеогенеза после стимуляции созданием компрессионных усилий на основании критериев, разработанных в РНЦ "ВТО" им. акад. Г.А.Илизарова.

Ключевые слова: репаративный остеогенез, стимуляция, биохимические показатели, радиоиммунные показатели, автодистракция

Biochemical indices, reflecting reparative osteogenesis process, and content of osteotropic hormones were studied in 17 patients during femoral elongation in automatic mode. Mathematical correlations of radioimmune and biochemical indices at different stages of treatment were revealed. Regulation change and reparative osteogenesis condition are also studied after stimulation by producing compression forces on the basis of the criteria, worked out at Russian Ilizarov Scientific Center "Restorative Traumatology and Orthopaedics".

Keywords: reparative osteogenesis, stimulation, biochemical indices, radioimmune indices, autodistracton.

Репаративный остеогенез при дистракционном остеосинтезе - сложный многоэтапный процесс, регуляция которого имеет как общие с любым репаративным процессом черты, так и специфические. Общим, в частности, является фазность процесса - выделение начального (катаболического) и биосинтетического (анаболического) периодов. В приложении к репаративному остеогенезу эти периоды принято также называть фазами резорбции и минерализации соответственно. Особенностью репарации костной ткани при дистракционном остеосинтезе является участие остеотропных гормонов: паратина (ПТ), кальцитонина (КТ), кальцитриола - в контроле за клеточной и метаболической активностью на протяжении названных фаз [4,5,9]. Сигналом к наступлению второй фазы являются изменения во внутренней среде организма, вызванные адаптогенными гормонами и ПТ - основными регуляторами первой фазы, как это показано на приведенной схеме (рис.1).

Основанием для предложения такой схемы регуляции репаративного остеогенеза являются

следующие реферативные и собственные данные. Паратин - полипептид, имеющий 84 аминокислотных остатка, при этом биологическую активность имеет лишь ПТ₁₋₃₄. Интактный гормон - доминирующая молекулярная форма в крови вместе с С-концевыми фрагментами [3]. ПТ поддерживает гомеостаз кальция в том числе и за счет повышения резорбтивной активности остеокластов, в физиологических концентрациях увеличивает количество остеокластов и остеобластов, стимулирует синтез в почках кальцитриола за счет активации 1 α -гидроксилазы [12]. Сигналом для усиления синтеза и секреции ПТ является низкий уровень кальция в сыворотке крови. Полагают, что адаптогенные гормоны напрямую или опосредованно стимулируют активность паративидных желез [17]. КТ, выступая как специфический гормональный ингибитор, угнетает остеокласты и подавляет костную резорбцию, усиливает минерализацию [15], способствует входу фосфатов в клетки кости [3]; остается до конца не решенным вопрос о стимулирующем влиянии

КТ на дифференцировку остеобластов [14]. Кальцитриол индуцирует синтез кальций-связывающего белка клетками-мишенями. При дефиците этого гормона замедляется ремоделирование костных балочек и формирование новых кристаллов гидроксиапатита [12]. Рост-стимулирующее действие соматотропина (СТГ) опосредуется инсулиноподобным фактором роста 1, который образуется в печени [7].

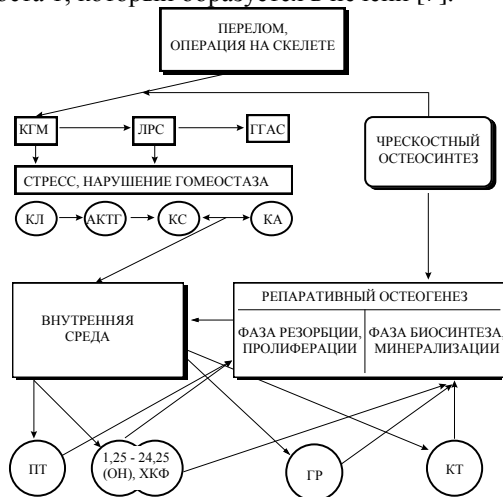


Рисунок 1. Схема регуляции репаративного остеогенеза на системном уровне

КГМ	кора головного мозга
ЛРС	лимбико-ретикулярная система
ГАС	гипоталамо-гипофизарно-адренальная система
АКГГ	адрено-кортикотропный гормон
ГР	гормон роста
ХКФ	холекальциферол
КЛ	кортиколиберин
КС	кортикостероиды
КА	катехоламины
ПТ	паратирин
КТ	кальцитонин

Постоянство во внутренней среде (гомеостаз) уровней электролитов: общего и ионизированного кальция, неорганических фосфатов, хлора, магния, калия и других - поддерживается той же регуляторной системой, что и скелетный гомеостаз - динамическое равновесие между резорбцией и новообразованием костной ткани.

Определение продолжительности катаболической и анаболической фаз имеет клиническое значение. Оно может быть осуществлено посредством радиоиммунного анализа остеотропных гормонов в сыворотке крови, а также, на основании вышесказанного, исследованием биохимических маркеров резорбции и новообразования костной ткани. Биохимическими показателями, которые позволяют оценивать репаративный остеогенез при distractionном остеосинтезе, являются:

- системный индекс электролитов (СИЭ), равный отношению произведения эквивалентных концентраций кальция и хлоридов к содержанию неорганического фосфата [10], отражающий состояние гормональной системы, регулирующей скелетный гомеостаз;
- активность щелочной фосфатазы (ЩФ, КФ. 3.1.3.1) и ее термолabileйной фракции (ТЛЩФ). ТЛЩФ является маркером остеобластов [8,16];
- активность тартрат-резистентной кислой фосфатазы (КФ, КФ. 3.1.3.2), оцениваемой как маркер остеокластов [13].

Целью данной работы является демонстрация изменений выше указанных биохимических показателей и содержания остеотропных гормонов в сыворотке крови при удлинении бедра в автоматическом высокочастотном режиме, а также их корреляционных взаимоотношений.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У 17 пациентов в возрасте от 18 до 43 лет, которым был выполнен монолокальный distractionный остеосинтез бедра аппаратом Илизарова в автоматическом режиме: круглосуточная высокочастотная distraction, когда удлинение 1 мм достигается за 60 раз [2], была изучена в динамике активность фосфомоноэстеразы I - ЩФ, ее термолabileйной изофермента; фосфомоноэстеразы II - тартратрезистентной КФ, с использованием наборов "Лахема" (Чехия); содержание общего кальция, неорганического фосфата; хлоридов - на автоматическом анализаторе "Chloride Analyzer 925", "Корниг" (Англия); содержание в сыворотке крови ПТ, КТ и СТГ при помощи специальных наборов и методик фирм Mallinckrodt (Германия), CIS SORIN (Франция) на следующих сроках лечения: до

операции, 10 дней distraction, 30 дней distraction, 60 дней distraction, 5-8 дней фиксации, 5-8 дней после стимуляции созданием компрессионных усилий, 30 дней фиксации, первые дни после снятия аппарата.

Рассматривались две группы больных: первая группа (9 человек), в которой после удлинения бедра фиксация аппаратом Илизарова продолжалась до полной консолидации в пассивном режиме, вторая группа (8 человек), в которой после прекращения distraction производили стимуляцию остеогенеза по способу В.И. Шевцова-А.В. Попкова [1,11]. Величина удлинения колебалась от 3 до 7 см, срок консолидации кости в группе больных без стимуляции (9 человек) составил от 35 до 72 дней, со стимуляцией (8 человек) - 14-30 дней.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Таблица 1 иллюстрирует изменения биохимических показателей и содержания гормонов в процессе лечения.

Таблица 1
Показатели минерального обмена при удлинении бедра в автоматическом режиме

показатель		до операции	дистракция, дни			фиксация, дни			после снятия
			10	30	60	5-8 без стимуляции	5-8 после стимуляции	30	
общий кальций ммоль/л	n	16	6	15	9	7	6	3	3
	M	2,44	2,39	2,34	2,34	2,33	2,42	2,35	2,35
	m	0,06	0,07	0,05	0,07	0,07	0,12	0,14	0,12
неорган. фосфат ммоль/л	n	17	8	16	9	8	7	3	4
	M	1,33	1,33	1,42	1,51	1,55	1,49	1,25	0,96*
	m	0,1	0,18	0,09	0,13	0,14	0,16	0,11	0,06
хлориды ммоль/л	n	15	5	11	4	5	2	3	2
	M	107,3	102	105	101,5	103	103	98	105,5
	m	3,32	1,91	1,52	1,19	2,15	4,04	1,18	0,51
СИЭ	n	15	4	10	4	5	2	3	2
	M	215,9	229,3	191,8	127,2*	188,7	192,2*	187,1	252,1
	m	95,2	86,1	19,1	9,45	32,1	11,97	22,1	25,3
кальцитонин нг/мл	n	10	8	14	9	8	9	2	5
	M	104,4	119,9*	132,3*	139,7'	138,9'	143,8'	135'	117*
	m	8,22	0,24	3,58	2,27	2,15	3,04	2,01	5,41
паратгормон нг/мл	n	10	8	14	9	8	9	2	5
	M	1,21	3,59*	3,1'	2,47*'	2,29'	2,1'	0,7*'	0,97
	m	0,03	0,24	0,61	0,19	0,33	0,25	0,1	0,15

* - достоверное отличие ($p < 0,05$) от предыдущего срока,

' - достоверное отличие ($p < 0,05$) от исходного уровня.

При автоматическом удлинении конечностей изменения концентрации отдельных электролитов в период дистракции незначительны, и их трудно оценивать. Обращает на себя внимание достоверное увеличение содержания неорганического фосфата, начиная с конца первого месяца дистракции. Повышение СИЭ на 10-е сутки дистракции свидетельствует о преобладающем влиянии ПТ на фосфорно-кальцевый обмен, т.е. о катаболической (резорбтивной) фазе регуляции остеогенеза. Значительное снижение этого интегрального показателя к концу первого месяца дистракции указывает на наступление фазы долговременной адаптации (анаболической). В ходе последующего удлинения наблюдается постепенное снижение концентрации общего кальция, хлоридов и возрастание в крови уровня неорганического фосфата, что может быть связано с усилением синтеза кальцитриола. Данное предположение косвенно подтверждается отсутствием на сроках 30 и 60 дней дистракции значимых корреляционных связей между содержанием остеотропных гормонов, общего кальция и СИЭ. При отсутствии стимуляции во время фиксации происходит постепенное возвращение показателей минерального обмена к исходному уровню. Увеличение СИЭ и сниже-

ние содержания неорганического фосфата после снятия аппарата обусловлена по-видимому активизацией ремоделирования костного регенерата в связи с возросшей нагрузкой. В случае выполнения стимуляции созданием компрессионных усилий через 5-8 дней после этого наблюдается гиперкальциемия, которая может быть объяснена активизацией перестройки концов костных регенератов, подвергающихся компрессии. После снятия аппарата наблюдаются те же изменения, что и в случае отсутствия стимуляции.

В процессе дистракции прослеживаются подобные изменения содержания остеотропных гормонов, что и при классическом методе удлинения бедра (рис. 2 и 3): резкое увеличение концентрации ПТ после операции ($3,59 \pm 0,24$ нг/мл на десятый день дистракции) со снижением в ходе дальнейшего лечения, постепенный рост содержания КТ с максимумом, приходящемся на конец дистракции ($139,7 \pm 2,27$ нг/мл). В группе, где не производилась стимуляция, в период фиксации продолжается постепенное снижение содержания ПТ, содержание КТ также начинает уменьшаться. На 5-8ой день после стимуляции во второй группе отмечается тенденция к увеличению содержания кальцитонина ($143,8 \pm 3,04$ нг/мл). Содержание ПТ по-прежнему остается выше дооперационного уровня, но продолжается его постепенное снижение. Динамика содержания СТГ адекватно отражает общую активизацию биосинтетических процессов в организме (рис.4). В период дистракции наблюдается постепенный рост концентрации гормона, максимальные значения определяются в начале фиксации ($3,2 \pm 0,44$ пг/мл). В дальнейшем происходит постепенное снижение содержания СТГ. Стимуляция не оказывает влияния на уровень соматотропина в крови.

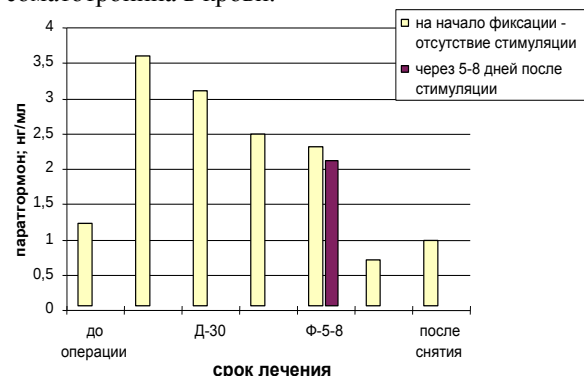


Рис. 2. Изменение содержания ПТ в процессе лечения



Рис. 3. Изменение содержания КТ в процессе лечения

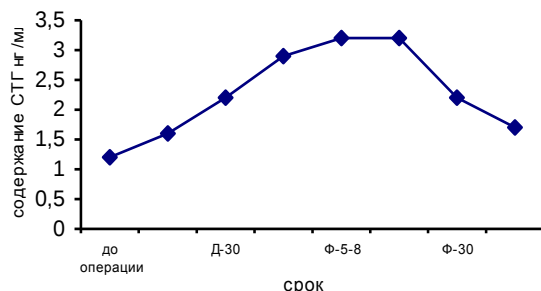


Рис. 4. Изменение содержания СТГ в процессе лечения

В таблице 2 представлена динамика изменений активности ЩФ, ТЛЩФ и КФ.

Таблица 2
Активность ЩФ, ее термолабильной фракции и КФ в процессе удлинения бедра в автоматическом режиме

показатель		до операции	дистракция, дни			фиксация, дни			после снятия
			10	30	60	5-8 без стимуляции	5-8 после стимуляции	30	
ЩФ	п	17	7	16	8	8	5	3	4
	М	2,52	1,95	2,45	2,72	2,76	2,24*	1,96	2,11
мккат/л	п	0,26	0,16	0,24	0,97	0,51	0,18	0,22	0,05
	М	1,83	1,49	1,75	1,71	1,98	1,62*	1,47	1,36
ТЛЩФ	п	12	7	11	8	4	5	3	3
	М	1,83	1,49	1,75	1,71	1,98	1,62*	1,47	1,36
мккат/л	п	0,2	0,16	0,21	0,16	0,11	0,14	0,28	0,22
	М	0,18	0,185	0,198	0,202	0,22	0,195	0,173	0,19
КФ	п	13	6	13	6	8	2	3	3
	М	0,18	0,185	0,198	0,202	0,22	0,195	0,173	0,19
нкат/л	п	0,02	0,003	0,01	0,025	0,01	0,01	0,02	0,01
	М	0,18	0,185	0,198	0,202	0,22	0,195	0,173	0,19

*- достоверные отличия ($p < 0,05$) от предыдущего срока.

Некоторое снижение в ближайшем послеоперационном периоде активности ТЛЩФ, видимо, связанное с преобладанием катаболических процессов, в последующем сменяется ростом с максимумом активности, приходящемся на начало фиксации, и последующим постепенным снижением. В случае выполнения стимуляции через 5-8 дней так же, как и после операции на фоне преобладания катаболических процессов, наблюдается уменьшение активности и ЩФ и ТЛЩФ.

Активность КФ постепенно нарастала в ходе удлинения. Наибольшие значения ($0,22 \pm 0,01$ нкат/л) отмечены в начале периода фиксации. В

последующем наблюдалось снижение активности фермента. Стимуляция не вызвала значительных колебаний активности фермента.

Изучение корреляционных отношений между показателями минерального обмена и содержанием остеотропных гормонов подтвердило сделанное ранее предположение о значении вызываемых остеотропными гормонами изменений во внутренней среде для смены фаз в процессе репаративного костеобразования [4] и возможного использования для прогнозирования течения последнего относительно простых биохимических тестов. На десятые сутки дистракции проявляется разнонаправленная регуляция минерального обмена: корреляционные связи СИЭ-паратирин и СИЭ-кальцитонин являются значимыми ($r = 0,728$ и $r = -0,683$ соответственно, $p < 0,05$ в обоих случаях), как и связи общий кальций-паратирин и общий кальций-кальцитонин ($r = -0,58$ и $r = 0,62$ соответственно, $p < 0,05$ в обоих случаях). В целом же в этот срок преобладает действие ПТ: СИЭ достигает своего максимального значения за весь период лечения. На сроках дистракции 30 и 60 дней не определяются значимые корреляционные связи ПТ, КТ и общий кальций, СИЭ в обеих группах, в первой группе они не появляются и в период фиксации. При выполнении стимуляции (вторая группа) не происходит увеличения содержания паратирин в крови, определяемого прямым радиоиммунным методом, однако появляется значимая корреляционная связь общий кальций-паратирин ($r = -0,87$; $p < 0,01$) и достоверно увеличивается СИЭ. Можно предположить, что в сыворотке увеличивается содержание N-концевой трети молекулы гормона (ПТГ1-34), которая и определяет биологическую функцию, а скорость процесса распада паратирин в везикулах клеток паращитовидных желез снижается.

Значимые корреляционные связи между ЩФ, ТЛЩФ, КФ и СТГ, КТ, ПТ отсутствовали до второго месяца дистракции. На этом сроке появляются значимые корреляционные связи ($p < 0,05$ во всех парах): СТГ-ЩФ ($r = 0,77$), КТ-ЩФ ($r = 0,61$), ПТ-ЩФ ($r = -0,9$), СТГ-ТЛЩФ ($r = 0,56$), КТ-ТЛЩФ ($r = 0,94$). После стимуляции же связи ПТ-ЩФ и ПТ-ТЛЩФ приобретают положительные значения ($r = 0,88$ и $r = 0,77$ соответственно, $p < 0,05$ в обоих случаях), что отражает преобладание ПТ-зависимых процессов. В последующем вновь нельзя определить значимых корреляционных связей между выше перечисленными показателями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при удлинении в автоматическом режиме без стимуляции характерны, в целом, те же изменения минерального метаболизма и динамики содержания остеотропных гормонов, что и при классическом методе удлинения бедра. Характерно, что автоматическая дистракция обеспечивает наступление фазы долговременной адаптации уже к концу первого месяца дистракции (уменьшение СИЭ, достоверный рост активности ЩФ и ТЛЩФ), что, по-видимому, связано со значительным, по сравнению с обычным режимом удлинения, снижением афферентации из очага. Увеличение содержания неорганических фосфатов, снижение СИЭ, отсутствие корреляционных связей между концентрацией электролитов, СИЭ и ПТ и КТ в процессе дистракции, начиная с конца первого

месяца, указывает на то, что наступление фазы долговременной адаптации возможно совпадает с преобладанием физиологического действия стероидного гормона кальцитриола, направленного на долговременное обеспечение возрастающих потребностей организма в кальции. При выполнении стимуляции регенераторных процессов в самом начале фиксации путем создания компрессионных усилий происходит выраженная стимуляция репаративного остеогенеза через активизацию системы остеотропных гормонов, когда ПТ-зависимая фаза является первоначальной, но уже на фоне значительного влияния СТГ, кальцитриола и повышенного энергообеспечения, что и ведет к ускоренному созреванию регенерата в условиях стабильного остеосинтеза и циклической осевой нагрузки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пат. 2071740, РФ, МКИ⁶ А61 В17/56. Способ стимуляции репаративного процесса кости / Шевцов В.И. (РФ), Попков А.В. (РФ), Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г.А. Илизарова (РФ). - № 94013185/14, Заявлено 13.04.94, Оpubл. 20.01.97, Бюл. № 2.
2. Автоматический дистракционный остеосинтез / В.И. Шевцов, А.В. Попков, С.А. Ерофеев, А.М. Чиркова // Анналы травматологии и ортопедии. - 1995. - № 1. - С. 44-47.
3. Марри Р. И. др. Биохимия человека / Р. Марри, Д. Греннер, П. Мейес, В. Родуэлл / Пер. с англ. - М.: Мир, 1993. - Т.2. - С.193-204.
4. Десятниченко К.С. О нейро-гуморальных механизмах контроля за репаративным остеогенезом // Лечение ортопедо-травматологич. больных методами чрескост. остеосинтеза в стационаре и поликлинике, разработ. в КНИИЭКОТ: Тез. докл. Всесоюз. науч.-практ. конф. - Курган, 1982. - С.152-154.
5. Десятниченко К.С., Балдин Ю.П. О роли чрескостного остеосинтеза в реализации эффекта центрального и местного звена регуляции репаративного остеогенеза // Метод Илизарова - достижения и перспективы: Тез. докл. междунаро. конф., посвящ. памяти академика Илизарова. - Курган, 1993. - С. 335-337.
6. Динамика биохимических показателей у больных ахондроплазией в процессе лечения методом чрескостного остеосинтеза / К.С. Десятниченко, Н.П. Лепехова, Л.С. Кузнецова и др. // Эксперим.-теорет. клинич. аспекты разработ. в КНИИЭКОТ метода чрескостного остеосинтеза: Тез. докл. Всесоюз. симпозиума. - Курган, 1983. - С. 34-36.
7. Зилва Дж.Ф., Пэннелл П.Р. Клиническая химия в диагностике и лечении / Пер. с англ. - М.: Медицина, 1988. - 528с.
8. Кузнецова Л.С., Барабаш А.П., Балдин Ю.П. Активность щелочной фосфатазы и ее изоферментный спектр в сыворотке крови при замещении обширных однополосноуставных дефектов большеберцовой кости // Чрескост. компрес. и дистракц. остеосинтез в травматологии и ортопедии: Сб. науч. работ. - Л., 1977. - Вып.3. - С. 42-44.
9. Методы ядерной медицины в оценке функционального состояния конечности при компрессионно-дистракционном остеосинтезе по Илизарову / А.А.Свешников, Л.А.Смотров, Н.Б.Мингазова и др. // Эксперим.-теорет. клинич. аспекты разработ. в КНИИЭКОТ метода чрескостного остеосинтеза: Тез. докл. Всесоюз. симпозиума. - Курган, 1983. - С.40-41.
10. Оценка течения репаративного остеогенеза: Методич. рекомендации / ВКНЦ «ВТО»; Сост.: Ю.П. Балдин, К.С. Десятниченко. - Курган, 1991. - 23с.
11. Попков А.В., Попков Д.А., Немков В.А. Биомеханические аспекты адаптационно-восстановительных изменений в дистракционном регенерате кости // Гений ортопедии. - 1996. - № 1. - С. 47-49.
12. Рэвелл П.А. Патология кости / Пер. с англ. - М.: Медицина, 1993. - 386 с.
13. Щепеткин И.А. Остеокластическая резорбция кости // Успехи соврем. биологии. - 1996. - Т.116, № 4. - С.475.
14. Austin L.A., Heath H. Calcitonin. Physiology and patho-physiology // N.Engl.J.Med. -1981. - №304. - P. 269-278.
15. Inhibition of diphosphonate-blocked bone mineralization. Evidence that calcitonin promotes mineralization / A. Boris, J.F. Hurkey, T. Trinal et al.// Acta Endocrinol. -1979. - Vol. 91. - P. 351-361.
16. Moss D.W. Multiple forms of alkaline phosphatase: some topics of current interest // Histochem.J. - 1974. - Vol.6, № 4. - P.159-164.
17. Gordon G.S. Recent progress in calcium metabolism: clinical application // Calif. Med.- 1971. - Vol.114, № 1. - P.18-43.

Рукопись поступила 01.09.98.