

**О механизме патологического обызвествления суставного хряща при развитии дегенеративно-дистрофических изменений в тканях синовиальной среды**

**К.С. Десятниченко, С.Н. Лунева, Е.Л. Матвеева**

***The mechanism of pathologic calcification of articular cartilage in development of degenerative changes in synovial tissues***

**K.S. Desiatnichenko, S.N. Luniova, E.L. Matveyeva**

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 эксперименте на 32 собаках проведены биохимические исследования дегенеративно-дистрофических изменений суставного хряща: содержание минеральных компонентов, хроматографическое и электрофоретическое разделение фракций гликозаминогликанов. Установлено, что при дегенеративно-дистрофических процессах в суставном хряще образуется патологически обызвествленная соединительная ткань.

Ключевые слова: дегенеративно-дистрофические изменения, суставной хрящ, матрикс, минеральная фаза, гликозаминогликаны.

Biochemical studies of degenerative-and-dystrophic changes of articular cartilage are made experimentally, using 32 dogs: content of mineral components, chromatographic and electrophoretic separation of glycosaminoglycane fractions. It is established, that pathologically calcified connective tissue is formed in articular cartilage during degenerative-and-dystrophic processes.

Keywords: degenerative-and-dystrophic changes, articular cartilage, matrix, mineral phase, glycosaminoglycanes.

ВВЕДЕНИЕ

Как ранее нами показано, в числе нарушений в структуре и составе суставного хряща при развитии дегенеративно-дистрофических изменений (ДДИ) одним из ведущих симптомов является существенное увеличение содержания минеральных компонентов в пораженном хряще [1]. Механизм биологической минерализации, в том числе патологического обызвествления, изучен недостаточно. В разное время в качестве фактора, способствующего минерализации, рассматривали отдельные компоненты органического матрикса: гликозаминогликаны, коллаген, липиды [2,3]. В настоящее время показано, что роль местного фактора минерализации выполняют не отдельные компоненты органического матрикса, а комплексы составляющих, находящихся в специфической связи при определенном количественном и качественном соотношении [4]. Между тем, раскрытие механизма как физиологического, так и эктопического обызвествления имеет важное значение и в

фундаментальных исследованиях биологии тканей опорно-двигательного аппарата, и в прикладных разработках по созданию современных технологий коррекции патологических изменений в последнем.

Выяснению роли и взаимосвязи органического и минерального компонентов суставного хряща при его кальцификации, наблюдаемой в ряде патологических состояний, посвящена настоящая работа. Изучение влияния чрескостного остеосинтеза на синовиальные ткани и получение однотипной клинической картины различных стадий дегенеративно-дистрофических изменений суставного хряща стало возможным благодаря выполнению экспериментальных моделей, заключающихся в проведении различных оперативных вмешательств методом чрескостного компрессионно-дистракционного остеосинтеза по Илизарову (ЧКДО).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 32-х беспородных собаках в возрасте от 1 года до 4-х лет с массой тела 10-30 кг. Вмешательства на скелете различной продолжительности и степени сложности ЧКДО\* позволили моделировать в эксперименте ДДИ различной глубины: начальные изменения - 1-я группа животных (аппарат Илизарова из 4 кольцевых опор накладывали на интактную голень), выраженные изменения - 2-я группа (осуществляли остеотомию в средней 1/3 диафиза большеберцовой кости, остеосинтез аппаратом Илизарова с последующим удлинением голени на 30 %), глубокие изменения - 3-я группа (животным с той же величиной удлинения голени и 90-суточной фиксацией через 8 месяцев после 1-й операции производили удлинение контралатеральной конечности в том же режиме) [5]. После эвтаназии животных вскрывали коленные суставы на оперированной и контралатеральной конечностях, суставной хрящ бедренной и большеберцовой костей скабливали скальпелем.

Отпрепарированную хрящевую ткань взвешивали на электронных аналитических весах Tekator (Sartorius, ФРГ), лиофильно высушивали на установке Lyph Lock 4,5 (Labconco, США). В высушенных образцах хряща после жесткой деградации влажным озолением или относительно мягкого кислотного гидролиза определяли основные компоненты минеральной фазы и внеклеточного органического матрикса: кальций — глиоксаль-бис-оксаниловым методом, неорганический фосфат — по образованию окрашенного комплекса в присутствии молибдата аммония и малахитового зеленого, сульфат — турбидиметрическим методом с  $BaCl_2$  в растворе полиэтиленгликоля (М.в. 50000), гексуроновые кислоты (ГУК) - по Bitter, Muir, гексозы - антроновым методом. Для выделения гликозаминогликанов (ГАГ) хряща использовали папаиновый гликолиз [6], фракционирование ГАГ осуществляли посредством анионообменной хроматографии и электрофореза на агарозе [7].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Уже на этапе препаративного выделения суставного хряща визуально четко определялись различия в зависимости от глубины ДДИ: хрящ коленных суставов животных с начальной стадией ДДИ был матовый, с бледно-сиреневыми либо розовыми пятнами; у животных с ярко выраженными ДДИ хряща суставные поверхности матовые, шероховатые, с фиолетовыми пятнами, толщиной 1 мм и менее; хрящ коленных суставов с глубокими ДДИ местами был истончен до обнажения субхондральной кости, приобретал темно-фиолетовую окраску, появлялись участки прорастания субхондральной кости в виде возвышающихся над суставной поверхностью бугров.

У животных с начальной стадией ДДИ хряща коленных суставов увеличение содержания минеральных компонентов составило: Ca - в 3 раза в суставном хряще оперированной конечности и почти в 2 раза в контралатеральном; P - на 17,3% в оперированной конечности, на 21,8% в контралатеральной (рис. 1). Отношение Ca/P в хряще коленных суставов этой серии эксперимента в 2,6 раза превышало нормальные значения. Данное отношение характеризует качественный состав минеральной фазы матрикса.

Среди известных соединений величина отношения Ca/P колеблется от 0,5 ( $CaHPO_4$ ) до 1,67 [ $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  с промежуточными значениями 1,33 ( $Ca_4H(PO_4)_3$ ) и 1,5 ( $Ca_3(PO)_2$ ), в нормальном хряще значение этого показателя составляет 1,95. Исходя из этого, можно пред-

положить, что помимо ортофосфата кальция в гиалиновом хряще присутствуют другие соединения Ca, в первую очередь сульфат кальция.

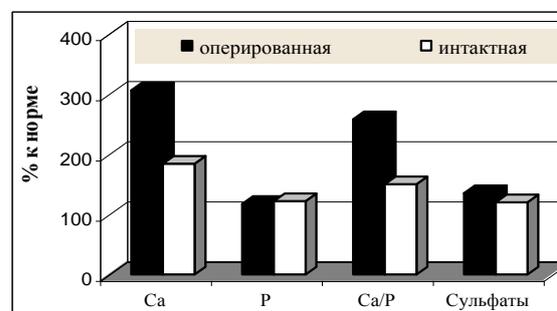


Рис. 1. Содержание компонентов минеральной фазы хряща коленных суставов собак с начальной стадией дегенеративно-дистрофических изменений

В хряще коленных суставов животных с ярко выраженными ДДИ (2-я серия эксперимента) отношение Ca/P было увеличено в 4,3 раза в оперированной и в 4 раза в контралатеральной конечностях ( $p < 0,01$ ). За столь значительное возрастание коэффициента Ca/P в патологически измененном хряще ответственен, в первую очередь, Ca-компонент. Снижение концентрации P было менее значительно (рис. 2). У животных с глубокими ДДИ суставного хряща показатель кристаллизации в 11 раз превышает значение такового в интактном хряще, что происходит исключительно за счет кальцификации ткани (рис. 3).

\* Операции выполнены д.м.н. А.А. Ларионовым.

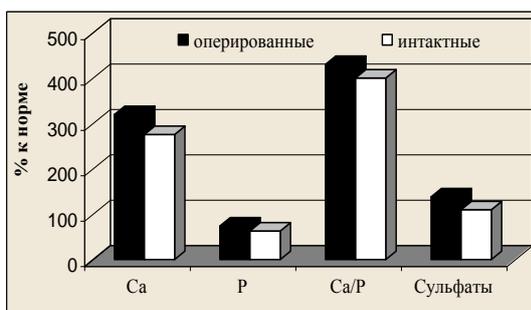


Рис. 2. Содержание компонентов минеральной фазы хряща коленных суставов собак с ярко выраженными дегенеративно-дистрофическими изменениями

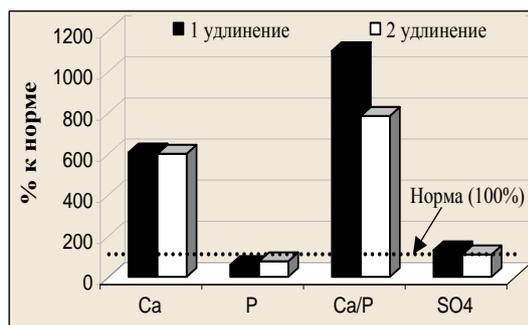


Рис. 3. Содержание компонентов минеральной фазы хряща коленных суставов собак с глубокими дегенеративно-дистрофическими изменениями

В специальном эксперименте *in vitro* мы проверили возможность присутствия в хрящевой ткани сульфата кальция как отдельной фазы, так и Ca, связанного с сульфатами ГАГ. Для этого опытные и контрольные образцы хряща диализовали при 37° в течение 48 часов против раствора  $\text{BaCl}_2$ . При определении в противодиализате концентрации сульфата выяснили, что в измененном хряще почти в 2 раза уменьшается количество аниона, проходящего через полупроницаемую мембрану, однако содержание кальция в подвергнутом диализу хряще практически не изменилось.

Общее количество кальция в хряще при выраженных ДДИ примерно в 2,5 раза выше содержания  $\text{PO}_4^{3-}$  и  $\text{SO}_4^{2-}$ . Исходя из вышесказанного, можно предположить, что увеличение содержания Ca в ХКС экспериментальных животных происходит главным образом за счет кальция, фиксированного на структурах органического матрикса. Источником дополнительного кальция, несомненно, является субхондральная кость, подвергающаяся резорбции.

Усиление кальцийсвязывающей способности органического матрикса хряща, по-видимому, связано с глубокими изменениями его макромолекулярного состава. Наиболее существенные из них состоят в уменьшении доли гиалуроновой кислоты и значительном возрастании кислот гликопротеидов (ГП) и сульфатированных гликозаминогликанов. Так, в хроматографических профилях папаинового гидролизата фракций хряща, прочно связанных с коллагеном, полученных при разделении на анионообменнике, нами обнаружено увеличение содержания

хондроитинсульфатов, дерматансульфата и гликановых фрагментов ГП во всех группах экспериментальных животных по сравнению с интактными (рис. 4).

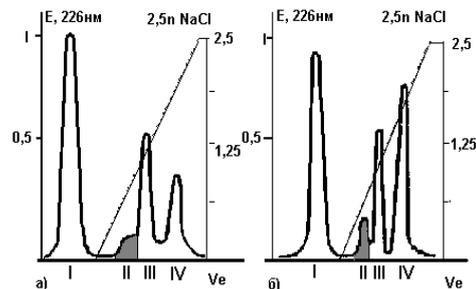


Рис. 4. Хроматографические профили гликозаминогликанов хряща коленных суставов собак: а) интактных; б) с глубокими дегенеративно-дистрофическими изменениями. I - гиалуроновая кислота; II - гликановые цепи протеогликанов; III - хондроитинсульфаты; IV - кератансульфат

При электрофоретическом разделении гидролизата хряща при общем сходстве полученных результатов выявлена также более выраженная, чем в норме, гетерогенность гликозаминогликанов одного класса в отношении степени сульфатирования, что выражается в более диффузных электрофоретических полосах, им соответствующих (рис. 5).

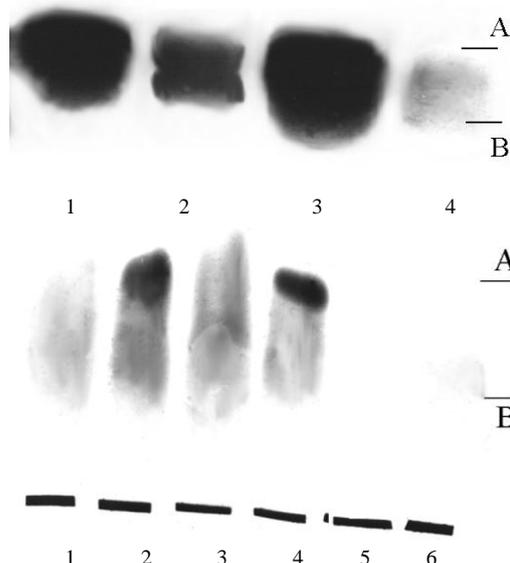


Рис. 5. Электрофореграммы гликозаминогликанов: а) дегенеративно измененного суставного хряща коленных суставов собак в 1% агарозном геле, 0,1 МiCl буфер, рН4,0; А - ХС, В - КС. 1, 3 - ГАГ суставного хряща; 2, 4 - ГАГ синовиальной оболочки; б) дегенеративно измененного суставного хряща коленных суставов собак в 1% агарозном геле, 0,1 МiCl буфер, рН4,0; А - ХС, В - КС. 1, 3 - ГАГ суставного хряща после обработки хондроитиназой АС; 2, 4 - ГАГ суставного хряща; 5, 6 - ГАГ суставного хряща после обработки хондроитиназой АВС

Наши наблюдения об одновременном увеличении степени минерализации и дисагрегировании ПГ в патологически измененном хряще согласуются с данными других авторов. Существенно новыми являются данные о возрастании доли ГП в составе хрящевого матрикса, экспрессируемых нехондроцитами. В подтверждение этому предположению приводим еще одно наблюдение. При изучении степени однородности коллагена хрящей экспериментальных животных посредством катионообменной хроматографии нами получен дополнительный пик коллагена, со сродством к катионообменнику как у коллагена типа I, характерного для фиброзной ткани, но не свойственный здоровой хрящевой ткани [1]. В случае далеко зашедших ДДИ хряща наблюдалось увеличение площади этого пика в 5 раз.

Мы полагаем, что при ДДИ суставного хряща формируется особый вид патологически

измененной соединительной ткани, названный М. Юристом эластоидом [8], который предшествует эктопическому обызвествлению. Эластоид представляет собой смесь фибриллярных и глобулярных белков, протеиновых комплексов, ГАГ, ГП, липопротеидов и других веществ, образующих комплексы с кальцием. По своим гистохимическим свойствам эластоид сходен с распавшимся, деградированным эластином, описанным при обызвествлении сосудистой стенки. При патологическом обызвествлении способная к минерализации матрица образуется не путем синтеза, а путем деградации с образованием эластоида. Представленные в настоящей работе данные дают основания считать, что в случае ДДИ образуется супрамолекулярный комплекс соединений со свойствами эластоида, инициирующего патологическое дистрофическое обызвествление суставного хряща.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Биохимические и биомеханические изменения суставного хряща при многоэтапном удлинении конечности у собак / В.И. Шевцов, К.С. Десятниченко, С.Н. Лулева и др. / Тез. докл. на межд. науч.-практич. конф. // Гений ортопедии. - 1996. - № 2-3. С. 147.
2. Glimcher M.J. - In: Calcification in Biological Systems. - Washington, 1960. - P. 421-487.
3. Irving J.T., Wuthier R.E. Histochemistry and biochemistry of calcification with special reference to the role of lipids // Clin. Orthop. - 1968. - № 56. - P. 237-260.
4. Десятниченко К.С. Об участии белково-липидных комплексов в минерализации зубной эмали // Вопр. мед. химии. - 1979. - № 3. - С. 255-260.
5. Изменения в составе макромолекулярных соединений при дегенеративно-дистрофических изменениях в суставном хряще / К.С. Десятниченко, Л.И. Грачева, А.А. Ларионов и др. // Актуал. вопр. биологии опорно-двигат. аппарата: Материалы VIII школы стран СНГ. - Киев, 1996. - С. 57.
6. Леонтьев В.К., Петрович Ю.А. Биохимические методы исследования в клинической и экспериментальной стоматологии. - Омск, 1976. - 92 с.
7. Матвеева Е.Л., Русова Т.В., Макушин В.Д. Изменение метаболизма протеогликанов в синовиальных тканях коленного сустава собак в разных биомеханических условиях // Гений ортопедии. - 1997. - № 3. - С. 41-47.
8. Меерзон Т.И. Вопросы патогенеза тканевых обызвествлений // Клини.мед. - 1968. - № 10. - С.26-32.

Рукопись поступила 25.09.1999.

## Вышли из печати

**А.М. Мархашов**

### **Атлас кровеносных сосудов позвоночника**

Курган, 1998. – 209 с., ил. 269.



В атласе рассматривается рентгеноанатомия кровеносных сосудов позвоночника человека. Освещены вопросы топографии и формирования кровеносных сосудов разных слоев позвонка, а также предпозвоночной клетчатки и фасции. Представлена индивидуальная анатомия каждого отдела позвоночника. Описаны сосудистые связи между венами позвонков и венами головы, венами пищеварительного тракта, почек и венами глубоких мышц спины.

Предназначен для вертебрологов, нейрохирургов, травматологов, рентгенологов и студентов. Атлас подготовлен как на бумажных носителях, так и в электронном виде на компакт-дисках.

Цена 100 руб.