

© Е.Б. Трифонова, А.В. Осипенко, 1999

Значение окислительного метаболизма скелетных мышц в оценке течения их регенерации при удлинении конечности

Е.Б. Трифонова, А.В. Осипенко

The role of oxidative metabolism of skeletal muscles in evaluation of their regeneration process during limb elongation

E.B. Trifonova, A.V. Osipenko

Россия, Екатеринбург, Уральский научно - исследовательский институт травматологии и ортопедии;
директор - доктор медицинских наук С. М. Кутепов

В эксперименте на 104 взрослых беспородных собаках исследованы некоторые показатели окислительного метаболизма удлиняемой до 50 % скелетной мышцы, а также креатинфосфотрансферазная реакция и активность Ca^{2+} - зависимой АТФ-азы. Установлена зависимость между режимом удлинения конечности и изучаемыми параметрами. Показаны преимущества билочного дистракционного остеосинтеза с суточным темпом удлинения 1 мм на каждом уровне с точки зрения метаболической адаптации мягких тканей.

Проведение корреляционного анализа данных показателей метаболизма в удлиняемой мышце и сыворотке крови позволило использовать последние в качестве критерия регенерации мышцы.

Ключевые слова: скелетные мышцы, регенерация, дистракционный остеосинтез, окислительный метаболизм.

Creatine phosphotransferase reaction and activity of Ca^{2+} - dependent ATP, as well as some indices of oxidative metabolism of skeletal muscle, being elongated to 50%, are studied, using 104 adult mongrel dogs. Dependence of limb elongation mode and the parameters studied is established. Advantages of bifocal distraction osteosynthesis with 1 mm daily rate of lengthening at each level are demonstrated from the aspect of metabolic adaptation of soft tissues. Correlation analysis of the metabolism indices in elongated muscle and blood serum allows using the latters as criterion of muscular regeneration.

Keywords: skeletal muscles, regeneration, distraction osteosynthesis, oxidative metabolism.

Формирующаяся концепция дистракционно-го гистогенеза открывает новые подходы к проблеме регенерации тканей и не исключает пересмотр некоторых устоявшихся положений о ее возможностях у млекопитающих [1-4]. Вместе с тем, в этих условиях остаются малоизученными механизмы регулирования восстановительных процессов в мышечной ткани.

Как известно, регенерация скелетных мышц характеризуется комплексом процессов деструкции, последующей дифференцировки и интеграции мышечных элементов регенерата. В основе ее заложены те же механизмы, которые формируются в эмбриональном гистогенезе [5]. Они включают внутриклеточную регенерацию миофибрилл в виде гипертрофии мышечных

волокон и клеточную дифференцировку миообластов из миосателлитоцитов [6, 7].

Данные литературы свидетельствуют о зависимости оптимального режима растяжения мягких тканей «от физиологического диапазона удлинения, который определяется тестами изометрической флексии и экстензии» [8]. Тем не менее, способов оценки течения регенерации скелетных мышц с использованием показателей метаболизма, в частности, окислительных энзимов, нами в литературе не найдено. Поэтому **целью работы явилось прогнозирование течения регенерации скелетной мышечной ткани при дистракции конечности на основе определения некоторых параметров окислительного метаболизма.**

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент выполнен на 104 взрослых беспородных собаках в трех сериях. В первой серии (31 животное) удлинение голени проводили методом монолокального distractionного остеосинтеза после компактомии большеберцовой кости на уровне средней трети ее диафиза при сохранении внутрикостного кровоснабжения (МДО, 1 мм в сутки). Темп удлинения составлял 1 мм в сутки. Сроки наблюдения: 10, 50, 90 суток distraction; 60, 120 и 180 суток фиксации. Во второй серии (30 животных) удлинение голени осуществляли методом биллокального distractionного остеосинтеза после компактомии большеберцовой кости на уровнях верхней и нижней трети (БДО, 1 мм в сутки). Distraction с темпом 1 мм в сутки на каждом уровне начинали на седьмой день после операции. Сроки наблюдения составили: 5, 25, 45 суток distraction; 60, 120 и 180 суток фиксации. В третьей серии (32 животных) голень также удлиняли методом биллокального distractionного остеосинтеза с суточным темпом distraction 2 мм на каждом уровне (БДО, 2 мм в сутки). Сроки наблюдения: 3, 12, 23 дня дист-

ракции, 60, 120 и 180 суток фиксации.

Контролем служили интактные животные (7 собак), содержащиеся в аналогичных условиях, и животные (4 собаки), у которых проводили компактомии без distraction.

В сыворотке крови и мышечной ткани определяли активность следующих ферментов: лактатдегидрогеназы (ЛДГ), малатдегидрогеназы (МДГ), креатинфосфокиназы (КФК), сукцинатдегидрогеназы (СДГ), Ca^{2+} -зависимой АТФ-азы, изоферментный спектр ЛДГ; также концентрации лактата (МК) и пирувата (ПВК) унифицированными методами (Маурер Д., 1971; Бабакин А.М., 1976; Ещенко Н.Д., 1982; Северин С.Е., 1989). При расчетах использовали соотношения Н/М субъединиц ЛДГ и МК/ПВК.

Исследования сыворотки крови проводили в соответствии с опытными сроками, а взятие фрагмента малоберцовой мышцы - при выведении из опыта.

Полученные данные обработаны методами вариационной статистики с использованием пакета программ Statgraph 3.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Distractionный миогистогенез характеризуется существенными изменениями показателей окислительного метаболизма скелетной мышечной ткани. На отдельных этапах эксперимента нами выявлен рост активности ЛДГ, МДГ, СДГ; превалирование анаэробных фракций ЛДГ; рост концентрации лактата и пирувата как в удлиняемых мышечных волокнах, так и в сыворотке крови. Эти данные свидетельствуют о стимуляции основных метаболических путей в регенерирующих скелетных мышцах. Положительная динамика отмечена и для КФК - реакции.

Обнаруженные изменения зависели от темпа, величины и режима удлинения. Рост активности исследуемых параметров наблюдали во всех группах животных на этапе distraction, во время фиксации конечности тенденция менялась на противоположную.

Значительный рост общей активности ЛДГ выявлен в первой серии эксперимента (МДО, 1 мм в сутки) - 400 % на фоне преобладания М-фракций энзима, во второй группе животных наблюдался наименьший рост как общей активности ЛДГ (292 %), так и ее анаэробных тетра-

Таблица 1
Динамика показателей гликолиза скелетной мышечной ткани в условиях биллокального distractionного остеосинтеза с темпом удлинения 1 мм в сутки на каждом уровне

Исследуемые показатели	Исходный уровень	Distraction (сутки)			Фиксация (сутки)		
		5	25	45	60	120	180
Общая активность ЛДГ, нмоль НАДН /мин х мг белка	307,0 ±20,0 n=7	126,5 ±21,7 n=3	434,0 ±11,1* n=6	895,3 ±23,2* n=7	435,7 ±4,6* n=4	396,2 ±58,7* n=4	376,6 ±65,9 n=5
Соотношение НЖ субъединиц ЛДГ	0,63 ±0,03 n=7	0,59 ±0,03* n=3	0,52 ±0,07 n=6	0,41 ±0,01* n=7	0,57 ±0,01* n=4	0,56 ±0,04 n=4	0,60 ±0,09 n=5
Уровень МК мкмоль МК /г ткани	0,98 ±0,05 n=7	0,92 ±0,13 n=3	3,52 ±0,14* n=6	4,30 ±0,41* n=7	3,88 ±0,02* n=4	1,30 ±0,53 n=4	0,95 ±0,07 n=5
Уровень ПВК, мкмоль ПВК /г ткани	0,128± 0,009 n=7	0,101 ±0,015 n=3	0,692 ±0,013* n=6	0,507 ±0,068* n=7	0,456 ±0,036* n=4	0,459 ±0,081* n=4	0,383 ±0,083 n=5

* $p < 0,05$ по сравнению с исходным уровнем

С середины периода distraction повышалась активность энзимов аэробного метаболизма, коррелирующая с режимом растяжения ткани. Существенная стимуляция аэробного окисления (рост МДГ до 386 %; СДГ до 264 %) происходила у животных второй группы (БДО, 1 мм в сутки, табл. 2).

Период роста активности КФК самый продолжительный: с начала удлинения голени и до середины периода фиксации. Максимальные значения обнаружены во второй экспериментальной группе (438 %, БДО, 1 мм в сутки, табл. 2), что по литературным данным, предполагает высокий уровень синтеза миозина [13].

Таблица 2

Динамика показателей аэробного метаболизма и креатинфосфокиназы удлиняемой мышцы в условиях биллокального distraction остеосинтеза с суточным темпом distraction 1мм на каждом уровне

Исследуемые показатели	Исходный уровень	Distraction (сутки)			Фиксация (сутки)		
		5	25	45	60	120	180
Общая активность МДГ, ммоль-НАДН/мин х мг белка	281,3 ±23 n=7	161,5 ±61,6* n=3	258,6 ±8,9 n=6	1087,1 ±67,0* n=7	350,2 ±17,5* n=4	358,3 ±53,3 n=4	240,1 ±66,3 n=6
Общая активность СДГ, мкг Fe(CN) ₆ /мин X мг белка	2,21 ±0,87 n=7	1,13 ±0,22 n=3	3,32 ±0,41* n=6	6,44 ±1,44* n=7	—	—	—
Активность КФК, Е/г ткани	124,0 ±14,1 n=7	329,1 ±60,5* n=3	469,2 ±41,2* n=6	542,8 ±48,2* n=7	537,1 ±27,6* n=4	150,1 ±26,5 n=4	158,9 ±16,6 n=6

* p < 0,05 по сравнению с исходным уровнем

Полученные результаты коррелируют с состоянием гистоструктуры регенерирующих мышечных волокон. Уменьшение диаметра мышечного волокна, склерозирование, распространение очагов миоцитолитического, появление «волокон-мишеней» соответствуют высокой активности гликолитического цикла, что наблюдали в первой и третьей группах животных (МДО, 1 мм в сутки и БДО, 2 мм в сутки). Оптимальным режимом удлинения с точки зрения метаболической адаптации растягиваемых миофибрилл является биллокальный distraction остеосинтез с суточным темпом удлинения 1 мм на каждом уровне. В этой группе собак выявили существенную стимуляцию аэробного метаболизма, креатинфосфотрансферазной реакции, что является благоприятным свидетельством восстановительных процессов в ткани. Морфологические данные показывают распространенные признаки регенерации миофибрилл именно при этом режиме удлинения.

Учитывая динамику аналогичных исследуемых показателей регенерирующих миофибрилл и сыворотки крови при проведении корреляци-

онного анализа, мы выявили следующую математическую зависимость, которую можно применить для оценки метаболической адаптации мягких тканей:

$$K = (МДГ_{сыв} + КФК_{сыв} - ЛДГ_{сыв}) \times Н/М \times МК/ПВК,$$
 где k - коэффициент метаболической адаптации скелетной мышцы; МДГ_{сыв} - общая активность малатдегидрогеназы сыворотки крови, мккат/л; КФК_{сыв} - общая активность креатинфосфокиназы сыворотки крови, Е/л; ЛДГ_{сыв} - общая активность лактатдегидрогеназы сыворотки крови, мккат/л; Н, М - субъединицы ЛДГ, %; МК - концентрация молочной кислоты в сыворотке крови, ммоль/л; ПВК - концентрация пировиноградной кислоты в сыворотке крови, ммоль/л.

При значении k > «-8» течение регенерации скелетной мышечной ткани можно оценить как благоприятное. При значении k < «-8» требуется коррекция режима удлинения.

Принимая во внимание полученные результаты, можно рекомендовать метод монолокального distraction остеосинтеза только до 30 % удлинения конечности. В случае дальнейшего растяжения существует риск возникновения необратимых изменений функционирования основных путей метаболизма и гистоструктуры удлиняемых мышц. В частности, в первой серии животных (МДО, 1 мм в сутки) в срок 180 суток фиксации отмечено угнетение всех метаболических циклов на фоне невосстановленного кровоснабжения ткани.

Оптимальным режимом distraction остеосинтеза, с точки зрения активности окислительных энзимов и креатинфосфокиназы удлиняемой скелетной мышцы, является БДО с темпом удлинения 1 мм в сутки. Дополнительным подтверждением преимуществ БДО перед МДО является динамика активности Ca²⁺ - зависимой АТФ-азы (табл. 3).

Таблица 3

Динамика активности Ca²⁺-зависимой АТФ-азы в растягиваемой малоберцовой мышце

Серия эксперимента	Исходный уровень	Distraction (% удлинения)		
		10%	30%	50%
МДО	0,127 ±0,030 n=7	0,120 ±0,016 n=4	0,202 ±0,056 n=7	0,089 ±0,031 n=4
БДО (1мм)	0,127 ±0,030 n=7	0,137 ±0,025 n=4	0,164 ±0,034 n=5	0,163 ±0,017 n=4

МДО - монолокальный distraction остеосинтез
БДО - биллокальный distraction остеосинтез

Некоторые авторы используют ее в качестве «маркера функциональной активности мышц» [14, 15]. Полученные нами данные свидетельствуют об удовлетворительной сократительной способности удлиняемых волокон во второй группе собак (БДО, темп 1 мм в сутки), в то

время как в первой экспериментальной группе формируется тенденция к ее угнетению.

Таким образом, исследование активности некоторых ферментов гликолиза и цикла Кребса, а также креатинфосфотрансферазной реакции позволяет на ранней стадии оценить со-

стояние регенерационных процессов удлиняемой мышцы и решить вопрос об индивидуализации режима удлинения (уменьшение или увеличение темпа distraction, либо приостановка ее на некоторое время), что важно для клинической практики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Илизаров Г. А. Напряжение растяжения как фактор, возбуждающий регенерацию и рост костной и мягких тканей // Тезисы докладов республиканской конференции. - 1984. - Киев, 1984. - С. 38-39.
2. Десятниченко К. С. Неколлагеновые белки костной ткани в регуляции скелетного гомеостаза, минерализации и репаративного остеогенеза: Автореф. дис... доктора мед. наук. - Челябинск, 1997 - 35с.
3. Осипенко А.В., Черешнев В.А. Иммунобиологические механизмы регенерации тканей. - Екатеринбург, 1997. - 130с.
4. Unchanged muscle after bilateral femoral lengthening. A prospective study of 9 patients with a 2-year follow up / I. Holm, H. Steen, P. Ludvigsen, I. Bjerkreim // Acta Orthop. Scand. - 1995. - Vol. 66, N 3. - P. 258-260.
5. Клишов А. А. Концепция клеточно-дифференциальной организации тканей и проблемы регенерации // Реактивность и регенерация тканей: Тез. докл. науч. конф. - Л., 1990. - С. 32.
6. Центральные и местные механизмы, реализующие на клеточно-молекулярном уровне стимулирующее влияние чрескостного остеосинтеза на репаративные процессы / Г.А. Илизаров, К.С. Десятниченко, Ю.М. Ирьянов и др. // Эксперим. - теорет. и клин. аспекты чрескостного остеосинтеза, разработ. в КНИИЭКОТ: Тез. докл. Междунар. конф. - Курган, 1986. - С. 16-17.
7. Кочутин Л.Н. Регенерационный миогенез мышц голени при ее удлинении в эксперименте // Изв. АН СССР: Сер. Биол. - 1990. - №4. - С. 565-570.
8. Шпунтов А.Е. Удлинение бедра полностью имплантируемыми управляемыми аппаратами Блискунова и реакция нервно-мышечного комплекса: Автореф. дис... канд. мед. наук. - М., 1995. - 22с.
9. Бабаскин А.М. Метод определения ПВК в сыворотке крови // Лаб. дело. - 1976. - № 8.
10. Ещенко Н.Д. Методы биохимических исследований. - Л.: ЛГУ, 1982. - С. 190-195, 222-226, 207-222.
11. Практикум по биохимии / Под ред. С.Е. Северина, Г.А. Соловьевой. - М.: Изд-во МГУ, 1989. - 279с.
12. Маурер Д. Диск-электрофорез. Теория и практика электрофореза в полиакриламидном геле. - М.: Мир, 1971. - 247с.
13. Control of respiration in vivo by mitochondrial outer membrane and by creatine kinase: A new speculative hypothesis possible involvement of mitochondrial-cytoskeleton interactions / V. A. Saks, A.V. Kuznetsov, Z.A. Khuchua et al. // J. Mol. Cell. Cardiol. - 1995. - Vol. 27, N 1. - P. 625-645.
14. Сырбу С.И. Моноклональные антитела к Са-зависимой АТФ-азе саркоплазматического ретикулома: их характеристика и применение для изучения структуры и функции Са насоса: Автореф. дис... канд. мед. наук. - Кишинев, 1987. - 21с.
15. Кальциевый насос сарколеммы контролирует расслабление гладкой мышцы /Ф. В. Бурдыга, Л. Г. Бабич, Т.Т. Таран, С.А. Костерин // Биофизика. - 1994. - Vol.39, № 2. - С. 365-371.

Рукопись поступила 05.04.1999.

Вышли из печати



С.И. Швед, В.И. Шевцов, Ю.М. Сысенко
Лечение больных с переломами костей
предплечья методом чрескостного ос-
теосинтеза

Курган, 1997. - 294 с., ил. 190, библиогр. назв. 200.
ISBN 5-86-047-095-9. Тв. пер-т. Ф. 21х15 см.

В монографии определены показания и противопоказания к чрескостному остеосинтезу, подробно описана предоперационная подготовка, приведены методики чрескостного остеосинтеза при различных переломах костей предплечья, описано ведение больных в послеоперационном периоде. Дан анализ ошибок и осложнений, показаны пути их предупреждения и устранения, изучены отдаленные анатомо-функциональные результаты и проведен их анализ.
Цена - 50 руб.