

© Группа авторов, 2000

Пролиферативная и экспрессивная активности клеток суставного хряща при устранении деформации голени в эксперименте

С.Н. Лунева, К.Н. Смелышев, Т.Н. Ерофеева, К.С. Десятниченко

Proliferative and expressive activities of articular cartilage cells during experimental correction of leg deformity

S.N. Luniova, K.N. Smelyshev, T.N. Yerofeyeva, K.S. Desiatnichenko

Государственное учреждение науки

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

Исследовано состояние гиалинового хряща коленных и голеностопных суставов при устранении деформации голени в эксперименте. Показано, что функциональные нарушения стереотипа движений приводят к ассиметричной нагрузке, при которой одни участки суставов подвергаются преимущественно компрессионным, а другие растягивающим и сдвиговым усилиям. Это приводит к развитию нарушений в составе хрящевой ткани и вызывает нарушение хондрогенеза. При снятии функциональных перегрузок и восстановлении стереотипа движений регуляция клеточной функции и структуры ткани в суставах происходит по принципу обратной связи за счет воздействия со стороны компонентов межклеточного матрикса, являющихся продуктами клеток.

Ключевые слова: эксперимент, голень, деформация, суставной хрящ, хондрогенез.

Status of the hyaline cartilage of the knees and the ankles during experimental correction of leg deformity is studied. It is demonstrated, that functional disorder of the movement stereotype leads to asymmetrical loading, when some parts are subjected mainly to compression forces and others – to distraction and shifting forces. This leads to development of disorders in the cartilaginous tissue composition and causes chondrogenesis disturbance. When functional overloads are relieved and the movement stereotype is recovered, regulation of cellular function and tissue structure occurs according to the principle of feedback at the expense of the effect of the intercellular matrix cells, being cellular products.

Keywords: experiment, leg, deformity, articular cartilage, chondrogenesis.

ВВЕДЕНИЕ

Многоуровневые деформации голени являются распространенной и, несомненно, сложной патологией [1,2]. Особое место занимают изменения дегенеративно-дистрофического характера, происходящие в суставах вследствие изменения оси голени, потому что это прямым образом влияет на опорную функцию конечности [3,4]. При наличии деформаций на двух уровнях одного сегмента ситуация усугубляется тем, что при этом чаще всего страдают оба смежных сустава. На данный момент самым эффективным способом устранения многоуровневых деформаций, дающим наиболее хорошие результаты, является метод чрескостного остеосинтеза [2,4]. Однако состояние суставного хряща при использовании этого метода не изучалось.

Хрящ, подобно другим органам и тканям, является динамической и постоянно развивающейся тканью. После повреждения хрящевой

ткани хондробласты становятся участниками репаративных процессов, что проявляется в увеличении их пролиферативных и биосинтетических возможностей [5]. Ранее было показано, что концентрация РНК в гиалиновом хряще в 1,5-2 раза превышает концентрацию ДНК [6]. Такое высокое содержание РНК в хряще отражает активную и постоянную биосинтетическую функцию хондроцитов. Дальнейшее изучение функции клеток хрящевой ткани в условиях чрескостного остеосинтеза будет способствовать разработке методов активного воздействия на функциональное состояние хондроцитов и, тем самым, открытию путей направленного влияния на процесс хондрогенеза. Целью данного исследования явилось определение функции клеток хрящевой ткани в смежных суставах голени при коррекции двухуровневой деформации аппаратами внешней фиксации.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент выполнен на 11 беспородных собаках в возрасте от 1 года до 2,5 лет с длиной голени 19-21 см, которым на первом этапе эксперимента моделировали двухуровневую антекурвационную деформацию голени, вершины которой располагались в проксимальном и дистальном метафизах, с углом около 150^0 каждая. На втором этапе проводили одновременную двухуровневую коррекцию деформации методом чрескостного остеосинтеза (эксперимент разработан к.м.н. А.А. Шрейнером). Животных выводили из эксперимента в сроки: конец distraction (12-14 суток) - 3 собаки, конец фиксации (30 суток) - 4 собаки, через 3 месяца после сня-

тия аппарата - 4 собаки. В образцах высушенного хряща после кислотного гидролиза [7] определяли основные компоненты внеклеточного органического матрикса - гексуроновые кислоты (ГУК) [8], а также показатели клеточной активности хондробластов - содержание нуклеиновых кислот (НК). Последние выделяли по Шмидту-Тангаузеру, определяя их концентрацию по Спирину [9]. Для выяснения степени агрегированности макромолекул протеогликанов (ПГ), составляющих матрикс гиалинового хряща, использовали методику Косыгина [10]. О содержании ПГ судили по концентрации ГУК.

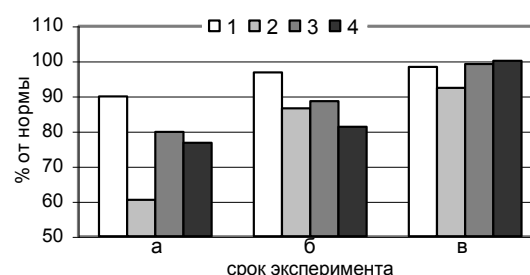
РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ результатов исследования содержания одного из важнейших компонентов матрикса суставного хряща ПГ выявил, что у животных при коррекции оси голени в конце distraction на фоне незначительных изменений суставной поверхности наблюдается значительное снижение общего количества ГУК. Кроме этого, замечено изменение в распределении фракции ПГ по степени агрегированности и связи с коллагеном. Как следует из таблицы, у собак в конце distraction увеличилась доля мономеров и ПГ низкой степени агрегации, тогда как количество ПГ, входящих в состав суперагрегатов и прочно связанных с коллагеном, уменьшилось почти в 2 раза.

Содержание ДНК в хряще коленного сустава снижалось на 20% в оперированной и оставалось неизменным в контралатеральной конечности. Подобные, но более глубокие изменения содержания ДНК обнаружены нами в хряще голеностопных суставов тех же животных. Так, количество ДНК составило 60% от нормы в хряще опытной и 80% - в хряще контралатеральной конечности. Концентрация РНК, позволяющая судить о биосинтетических процессах, протекающих в ткани, также была значительно снижена и составила 71,36% в хряще коленного сустава и 50% в хряще голеностопного сустава опытной конечности. Количество РНК в хряще контралатеральной конечности также было значительно снижено и составило около 40% от нормы.

Коэффициент РНК/ДНК позволяет лишь косвенно судить о соотношении пролиферативной и экспрессивной функции хондроцитов. Тем не менее, его применение обосновано тем, что процессы пролиферации и биосинтеза на уровне одной клетки не протекают одновременно. Т.е. делящаяся клетка не экспрессирует белки [12]. Кроме того, ранее было показано, что отноше-

ние РНК/ДНК в тканях с высоким уровнем пролиферативной потенции и высоким биосинтезом резко отличаются [13]. У собак при коррекции оси голени аппаратом Илизарова в конце периода distraction обнаружено достоверное снижение соотношения РНК/ДНК, причем наибольшие изменения выявлены в хряще коленного и голеностопного суставов контралатеральной конечности (рис. 1).



а - конец distraction; б - конец фиксации; в - 3 месяца после снятия аппарата

1 - отношение РНК/ДНК в хряще коленного сустава оперированной конечности; 2 - отношение РНК/ДНК в хряще коленного сустава контралатеральной конечности; 3 - отношение РНК/ДНК в хряще голеностопного сустава оперированной конечности; 4 - отношение РНК/ДНК в хряще голеностопного сустава контралатеральной конечности

Рис. 1. Соотношение пролиферативной и экспрессивной функции хондроцитов хряща смежных суставов при коррекции оси голени в эксперименте

Проведенное исследование состава матрикса хряща у животных, выведенных из опыта на конец фиксации, показало снижение ГУК более чем на 50% в коленных и голеностопных суставах обеих конечностей по сравнению с нормальными величинами. Достоверных различий в концентрации этого показателя в обоих суставах прооперированной конечности обнаружено не было. Изучение агрегатов ПГ показало уменьшение всех фракций, в том числе низкоагреги-

рованных. Количество высоко агрегированных ПГ в хряще суставов оперированной конечности составило менее 50% от нормы. Содержание ДНК и РНК в хряще суставов животных данной группы показало снижение на 50% как биосинтетических, так и пролиферативных процессов. При этом отношение РНК/ДНК составило 86-88% от нормального. Как видно из рисунка, исключение составил хрящ коленного сустава оперированной конечности, где коэффициент РНК/ДНК наблюдался в пределах нормы.

При изучении агрегированности ПГ хряща суставов собак, эвтаназированных через 3 месяца после снятия аппарата, обнаружено снижение фракций ПГ высокой и средней степени агрегации на 40-50%, что достоверно не отличалось от их содержания в хряще животных второй группы. Однако количество низкоагрегированных ПГ соответствовало содержанию таковых в хряще здоровых собак, и на 25% превышало содержание в хряще смежных суставов животных, выведенных из опыта в конце фиксации (табл. 1).

Эти данные подтверждают исследования количества нуклеиновых кислот. Так, несмотря на то, что количество нуклеиновых кислот остается сниженным по сравнению с нормальными значениями, у животных через 3 месяца после снятия аппарата эти показатели достоверно превышают значения в хряще суставов животных в конце периода фиксации. Отношение РНК/ДНК говорит о повышении активности биосинтетических процессов в хряще смежных суставов после снятия у животных аппарата (рис. 1).

Таким образом, функциональное нарушение стереотипа движений и деформации, возникающие в смежных суставах при коррекции оси голени аппаратами внешней фиксации приводят к асимметричной нагрузке, при которой одни участки суставов подвергаются преимущественно компрессионным, а другие растягивающим и сдвиговым усилиям. Это не только приводит к развитию нарушений в составе хрящевой ткани, выражающихся в уменьшении и структурном

изменении агрегатов ПГ, но и вызывает нарушение хондрогенеза, выражающееся в уменьшении пула пролиферирующих хондроцитов. Нарушение клеточной функции и структурной организации хряща смежных суставов зависят от степени анатомо-функциональных перегрузок и асимметричном их распределении. При снятии функциональных перегрузок и восстановлении стереотипа движений регуляция клеточной функции и структуры ткани в суставах происходит по принципу обратной связи за счет воздействия со стороны компонентов межклеточного матрикса, являющихся продуктами клеток. В условиях дефицита в межклеточной среде ПГ пропорционально возрастает интенсивность биосинтетической активности, что характеризуется увеличением значения коэффициента РНК/ДНК и изменением состава ПГ.

Таблица 1.

Состав фракций различной степени агрегации в хряще смежных суставов при коррекции оси голени аппаратом Илизарова ($M \pm m$, ммоль ГУК/100 г сухой ткани)

Сустав		Срок экспери- мента	Фракции ПГ		
			I	II	III
Интактн.			0,97±0,10	1,32±0,09	1,30±0,09
КСОК	Конец дистрак- ции		1,87±0,11*	0,77±0,07*	0,70±0,05*
КСКК			1,68±0,13*	0,82±0,08*	0,80±0,10*
ГСОК			1,97±0,15*	0,63±0,10*	0,75±0,09*
ГСКК			1,23±0,10*	1,02±0,10*	0,96±0,10*
КСОК	Конец фиксации		0,77±0,10*	0,68±0,06*	0,56±0,05*
КСКК			0,68±0,02*	0,62±0,03*	0,80±0,03*
ГСОК			0,79±0,05*	0,66±0,04*	0,65±0,03*
ГСКК			0,75±0,02*	0,71±0,03*	0,87±0,03*
КСОК	3 месяца после снятия аппарата		0,97±0,13	0,63±0,08*	0,71±0,06*
КСКК			0,87±0,04	0,52±0,06*	0,66±0,05*
ГСОК			0,99±0,05	0,66±0,05*	0,45±0,01*
ГСКК			0,95±0,02	0,71±0,03*	0,67±0,05*

Примечания: а) I - инкубация 2 ч 0,15 М ацетатом натрия; II - инкубация 24 ч 0,15 М ацетатом натрия; III - инкубация 48 ч 3 М $MgCl_2$; * - $p < 0,05$; б) КСОК - коленный сустав оперированной конечности, ГСОК - голеностопный сустав оперированной конечности, КСКК - коленный сустав контралатеральной конечности, ГСКК - голеностопный сустав контралатеральной конечности

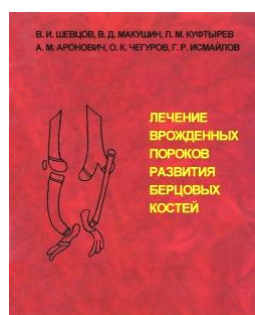
ЛИТЕРАТУРА

1. Лечение деформаций, контрактур и укорочений конечностей у детей методом Илизарова / У.А. Абдуразаков, В.Р. Комник, Е.М. Хахалев и др. // Метод Илизарова: Теория, эксперимент, клиника: Тез. докл. Юбил. международ. конф. - Курган, 1991. - С. 174-176.
2. Грязнухин Э.Г., Петухов В.А. Причины инвалидности при множественных переломах длинных трубчатых костей, пути ее профилактики // Профилактика травматизма и инвалидности от травм среди работающих в различных отраслях народного хозяйства. - Казань, 1988. - С. 43-52.
3. Зырянов С.Я. Коррекция деформаций одновременно всех сегментов // Метод Илизарова - достижения и перспективы: Тез. докл. междунар. конф., посвящ. памяти акад. Г.А. Илизарова. - Курган, 1993. - С. 141.
4. Лечение деформаций коленного сустава по Г.А. Илизарову с формированием клиновидного регенерата: Метод. рекомендации / КНИИЭКОТ; Сост.: Г.А. Илизаров, В.И. Грачева, В.Н. Васильев. - Курган, 1982. - 22 с.
5. Дедух Н.В. и др. Остеоартрозы: пути фармакологической коррекции / Н.В. Дедух, И.А. Зупанец, В.Ф. Черных, С.М. Дроговоз. - Харків.: Основа, 1992. - 138 с.
6. Биохимические особенности репаративного хондрогенеза при удлинении голени собак посредством высокоточной автоматической distraction / К.С. Десятниченко, С.Н. Лунева, Л.И. Грачева, С.А. Ерофеев // Актуальні питання біології опорно-

- рухового аппарата: Материалы VIII школы стран СНГ. - Киев, 1996. - С. 26.
7. Функциональные биохимические исследования в клинике ортопедии и травматологии: Методические рекомендации / ВКНЦ "ВТО"; Сост.: К.С. Десятниченко, Л.И. Грачева, Л.С. Кузнецова. - Курган, 1990. - 27 с.
 8. Bitter, Muir H.M. A modified uronic acid carbazole reaction // *Analyt. biochem.* - 1962. - № 4. - Р. 330-334.
 9. Збарский И.Б., Дебов С.С. Химия и биология нуклеиновых кислот. - Л., 1968. - С. 80-81.
 10. Косягин Д.В. Осаждение гликозаминогликанов этанолом, их очистка и исследование // *Лаб. дело.* - 1989. - № 8. - С. 34-36.
 11. Алов И.А. и др. Основы функциональной морфологии клетки / И.А. Алов, А.И. Брауде, М.Е. Аспиз. - М.: Медицина, 1966. - 415 с.
 12. Бреслер С.Е. Молекулярная биология. - Л.: Наука, 1973. - 578 с.
 13. Дэвидсон Д. Биохимия нуклеиновых кислот. - М.: Мир, 1976. - 416 с.

Рукопись поступила 18.01.2000.

Предлагаем вашему вниманию



ШЕВЦОВ В.И., МАКОШИН В.Д., КУПЧЕНКО Г.М.,
АРОНОВИЧ А.М., ЧЕТУРОВ О.К., ИЗМАЙЛОВ Г.Р.

ЛЕЧЕНИЕ ВРОЖДЕННЫХ ПОРОКОВ
РАЗВИТИЯ БЕРЦОВЫХ КОСТЕЙ

Курган, 1999 г. — 582 с., табл. 66, ил. 439, библиогр. назв. 452.

ISBN5-87247-072-X

Монография посвящена проблеме лечения детей с врожденными пороками развития берцовых костей. В книге обобщен опыт лечения больных с применением методик чрескостного остеосинтеза аппаратом Илизарова в различных его рациональных компоновках. Приведены основы биомеханического моделирования остеосинтеза при некоторых клинических ситуациях. Описываются уникальные, не имеющие аналогов в мировой медицине тактико-технологические принципы реконструкции берцовых костей, повышающие опороспособность и функциональные возможности нижней конечности. Приведенные технические сведения помогут хирургу принимать оптимальные решения в реабилитации пациентов и подготовке конечности к рациональному протезированию. Анализ возможных технологических ошибок и связанных с ними лечебных осложнений имеет большое значение для практикующего врача.

Представленные в книге параклинические исследования дают возможность клиницисту определить тяжесть развивающихся при пороке вторичных функциональных и анатомических расстройств.

Приведенные результаты лечения по методикам Российского научного центра «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова дают возможность оценить их эффективность в сравнении с традиционными хирургическими подходами в решении данной проблемы.

Книга иллюстрирована схемами остеосинтеза, клиническими примерами, способствующими усвоению представленного материала.

Монография рассчитана на широкий круг хирургов, ортопедов и педиатров.