

УДК 612.015.1:616.71-007.234-089.843

ОСОБЕННОСТИ МАРКЕРОВ МИНЕРАЛЬНОГО ОБМЕНА ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ СПИЦ В ОСТЕОПОРОТИЧЕСКИ ПЕРЕСТРОЕННУЮ КОСТНУЮ ТКАНЬ

Трифонова Е.Б., Ганжа А.А., Гюльназарова С.В., Бурматова А.Ю.

*ФГБУ «Уральский НИИТО им. В.Д. Чаклина» Минздрава России,
Екатеринбург, e-mail: trifonlab@mail.ru*

В эксперименте на самцах крыс Вистар, у которых моделировали иммобилизационный остеопороз ампутацией костей голени правой задней конечности, изучали в крови динамику кальция, неорганического фосфата, магния и остеокальцина после имплантации спиц в остеопоротически перестроенную кость. Группу сравнения составили здоровые животные аналогичного пола и возраста, которым также имплантировали спицы в голень и бедро. Сроки наблюдения всех животных – до операции и в течение 120 суток после имплантации спиц. Выявлена реакция в крови маркеров минерального обмена на металлический имплантат при иммобилизационном остеопорозе в сравнении со здоровыми животными. При иммобилизационном остеопорозе обнаружена более низкая концентрация кальция к 14 суткам наблюдения, более высокие уровни кальциемии, фосфатемии, магниемии, начиная с 30 суток; значимо более низкие уровни остеокальцина отметили в период 14–30 суток; что в целом негативно влияло на процесс остеорепаляции.

Ключевые слова: минеральный обмен, иммобилизационный остеопороз, остеорепаляция

FEATURES OF MINERAL METABOLISM MARKERS WHEN PINS IMPLANTING INTO OSTEOPOROTIC REBUILT BONE

Trifonova E.B., Ganzha A.A., Gyulnazarova S.V., Burmatova A.Y.

*Ural Scientific Research Institut of Traumatology and Orthopedics,
Ekaterinburg, e-mail: trifonlab@mail.ru*

Calcium dynamics, inorganic phosphate, magnesium, and osteocalcin levels in blood were studied in experiments on male Wistar rats with modulated immobilization osteoporosis after implantation of pins into osteoporotic bone. Comparison group consisted of healthy animals of similar age and sex, which were also subjected to implanting pins in femur and shin bones. Follow-up period was prior surgery and within 120 days after implantation. We revealed reaction in blood markers of mineral metabolism on metal implant under immobilization osteoporosis in comparison with healthy animals. Osteoporosis group showed a lower concentration of calcium to the 14th days of observation, higher levels of calcium, phosphate, magnesium were noted from the 30th day; noticeably lower levels of osteocalcin was between 14–30 days, that in general had a negative impact on the osteoreparation.

Keywords: mineral metabolism, osteoporosis, osteoreparation

Проблема стабильности металлических имплантатов в костной ткани при её низкой минеральной плотности (МПК) до сих пор актуальна, что обусловлено особенностями костного ремоделирования и изменением баланса остеогенеза и остеорезорбции.

Известны проблемы при имплантировании спиц в остеопоротическую костную ткань. Так, в эксперименте отмечают значительную подвижность интрамедуллярно введенной спицы на фоне отсутствия признаков сращения, свободное перемещение спицы по костномозговому каналу, что приводило к нестабильности в зоне перелома. У половины таких животных была нарушена опороспособность конечности, так как на фоне системного остеопороза металлический имплантат дополнительно увеличивал скорость резорбции костной ткани [5]. Аналогичные данные отмечены и в клинике: при имплантации фиксаторов после травмы на фоне низкой МПК при остеопорозе усилена интенсивность костной резорбции («стрессовое» ремоделирование),

что ускоряет разрушение прилежащих костных балочек и способствует нестабильности фиксации костных отломков [1, 3].

Для оптимизации процесса остеорепаляции в условиях сниженной МПК интерес представляет разработка различных нанопокровов для металлических имплантатов, использование модифицированной поверхности, что влияет на потенциал остеогенных клеток, соответственно, на локальные регуляторы остеогенеза, процессы костного ремоделирования и метаболизм костной ткани [7, 8].

Перспективной в данных условиях является коррекция нарушенного костного ремоделирования при остеопорозе, для оценки которого необходим анализ особенностей метаболизма костной ткани. В доступной литературе мы не обнаружили характеристик метаболической реакции костной ткани, в том числе минерального обмена, на имплантат в условиях низкой МПК, что и явилось целью настоящего исследования.

Материалы и методы исследования

В эксперименте на 33 самцах крыс Вистар (возраст 3 месяца, вес 120–140 г) моделировали иммобилизационный остеопороз (ИОП) ампутацией костей голени правой задней конечности, создавая неопороспособную конечность. По данным гистоморфометрии к 90-м суткам иммобилизации у животных уже сформированы остеопоротические изменения в костной ткани [2]. После формирования ИОП животным вводили спицы в дистальный метафиз бедренной кости и проксимальный метафиз большеберцовой кости. Группу сравнения составили 32 здоровых животных того же возраста, которым также имплантированы спицы диаметром 0,8 мм из медицинской стали по аналогичной методике в голень и бедро. Сроки наблюдения: до операции, на 14, 30, 90, 120 сутки после неё. Животных содержали в условиях вивария на стандартном рационе с учетом положений международной конвенции о «Правилах работ с экспериментальными животными» (European Communities Council Directives of 24 November 1986, 86\609\ЕЕС). В сыворотке крови иммуноферментным анализом на Stat Fax 3200 определяли концентрацию основного неколлагенового белка костной ткани – маркера минерализации – остеокальцина, на селективном биохимическом анализаторе Sapphire 400 определяли унифицированными методами концентрации кальция, неорганического фосфата и магния с использованием оригинальных тест-систем, калибраторов и контрольных материалов [6]. Статистическая обработка полученных данных выполнена с использованием непара-

метрического критерия Манна – Уитни, результаты представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее значение, m – стандартное отклонение, уровень значимости – $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В сыворотке крови животных разных групп выявлена различная динамика концентрации основных макроэлементов костной ткани: кальция, неорганического фосфата и магния.

После имплантации спицы у всех крыс обнаружили снижение уровня кальциемии (табл. 1). У здоровых животных значимо низкий уровень кальция в сыворотке крови выявлен только на 14 сутки (в 1,2 раза, $p \leq 0,05$), в то время как в опытной группе его концентрация значимо ниже в течение 120 суток (в 1,5–1,3 раза, $p \leq 0,05$) по отношению к дооперационным значениям. При ИОП уровень кальциемии снижался только в течение 14 суток, в то время как у здоровых крыс такую динамику отметили в течение 90 суток. Кроме того, через 14 суток после имплантации спицы уровень кальция в крови опытных крыс в 1,1 раза ниже ($p \leq 0,05$), а в 90 суток в 1,13 раза выше ($p \leq 0,05$), чем у здоровых животных.

Таблица 1

Динамика кальциемии у крыс после имплантации спиц, ммоль/л

| Группы/сроки | До операции | 14 сутки после операции | 30 сутки после операции | 90 сутки после операции | 120 сутки после операции |
|-------------------|-------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Здоровые животные | 2,70 ± 0,39 | 2,27 ± 0,07 [^] | 2,12 ± 0,08 | 2,09 ± 0,09 | 2,27 ± 0,08 |
| Животные с ИОП | 3,04 ± 0,13 | 2,08 ± 0,06 ^{^^} | 2,29 ± 0,17 [^] | 2,36 ± 0,16 ^{*^} | 2,3 ± 0,08 [^] |

Примечание. * – $p \leq 0,01$ по отношению к здоровым животным;
[^] – $p \leq 0,05$ по отношению к уровню до операции;
^{^^} – $p \leq 0,01$ по отношению к уровню до операции.

Динамика фосфатемии у здоровых и опытных крыс после имплантации спиц в костную ткань также оказалась различной (табл. 2). В группе здоровых животных не выявили существенных различий в концентрации неорганического фосфата в сыворотке крови в течение 120 суток по отношению к уровню до операции. Наоборот, у крыс с ИОП обнаружили более высокий

уровень фосфатемии во все сроки наблюдения по сравнению с уровнем до операции (в 1,8–2,2–2,2–1,8 раза соответственно срокам, $p \leq 0,05$), максимум концентрации неорганического фосфата отметили через месяц после имплантации. В период 90–120 суток у крыс с ИОП уровень фосфатемии значимо выше, чем у здоровых животных (в 1,5–1,2 раза соответственно срокам, $p \leq 0,05$).

Таблица 2

Динамика фосфатемии у крыс после имплантации спиц, ммоль/л

| Группы/сроки | До операции | 14 сутки после операции | 30 сутки после операции | 90 сутки после операции | 120 сутки после операции |
|-------------------|-------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Здоровые животные | 1,74 ± 0,81 | 1,75 ± 0,32 | 1,82 ± 0,26 | 1,47 ± 0,19 | 1,47 ± 0,15 |
| Животные с ИОП | 1,00 ± 0,04 | 1,76 ± 0,31 ^{^^} | 2,24 ± 0,53 [^] | 2,15 ± 0,63 ^{*^} | 1,78 ± 0,15 ^{*^} |

Примечание. * – $p \leq 0,01$ по отношению к здоровым животным;
[^] – $p \leq 0,05$ по отношению к уровню до операции;
^{^^} – $p \leq 0,01$ по отношению к уровню до операции.

Несмотря на различную динамику кальциемии и фосфатемии у здоровых и опытных животных, изменения индекса кальций/фосфат крови в обеих группах аналогичны: снижение к 30 суткам наблюдения с по-

следующим ростом (табл. 3). В период 90–120 суток после имплантации спиц величина данного индекса при ИОП значимо ниже (в 1,2 раза, $p \leq 0,05$), по сравнению со здоровыми крысами.

Таблица 3

Динамика индекса кальций/фосфат крови крыс после имплантации спиц

| Группы/сроки | До операции | 14 сутки после операции | 30 сутки после операции | 90 сутки после операции | 120 сутки после операции |
|-------------------|-------------|--------------------------|--------------------------|----------------------------|---------------------------|
| Здоровые животные | 2,0 ± 1,1 | 1,33 ± 0,18 | 1,19 ± 0,14 | 1,44 ± 0,16 | 1,55 ± 0,14 |
| Животные с ИОП | 3,1 ± 0,3 | 1,21 ± 0,20 [^] | 1,07 ± 0,24 [^] | 1,16 ± 0,22 ^{**^} | 1,30 ± 0,09 ^{*^} |

Примечание. * – $p \leq 0,01$ по отношению к здоровым животным;

** – $p \leq 0,05$ по отношению к здоровым животным;

[^] – $p \leq 0,05$ по отношению к уровню до операции.

Значимой динамики уровня магния в крови здоровых крыс нами не выявлено, в то время как у крыс с ИОП на 14 и 120 сутки отметили более низкие его концентрации по сравнению с уровнем до операции (табл. 4). В период 30–90 суток уровень магния в крови крыс с ИОП значимо

выше, чем у здоровых животных (в 1,4 раза, $p \leq 0,05$). Известно, что формирование ИОП сопровождается снижением уровня магния в костной ткани [4], что способствует нестабильности кристаллов гидроксипатита и негативно влияет на энергетический метаболизм.

Таблица 4

Динамика магниемии у крыс после имплантации спиц, ммоль/л

| Группы/сроки | До операции | 14 сутки после операции | 30 сутки после операции | 90 сутки после операции | 120 сутки после операции |
|-------------------|-------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Здоровые животные | 0,67 ± 0,09 | 0,63 ± 0,08 | 0,68 ± 0,11 | 0,72 ± 0,07 | 0,66 ± 0,15 |
| Животные с ИОП | 0,81 ± 0,03 | 0,65 ± 0,06 [^] | 0,93 ± 0,21 [*] | 1,04 ± 0,36 [*] | 0,7 ± 0,09 [^] |

Примечание. * – $p \leq 0,05$ по отношению к здоровым животным,

[^] – $p \leq 0,05$ по отношению к уровню до операции

Динамика концентрации остеокальцина в сыворотке крови опытных и здоровых крыс после имплантации спиц отличалась в период 14–30 суток (табл. 5). У здоровых животных к 14 суткам выявили тенденцию роста данного показателя в 1,2 раза по сравнению с дооперационными зна-

чениями, в то время как у опытных крыс уровень остеокальцина в крови снижен к 14 суткам в 1,6 раза ($p < 0,05$) по сравнению с уровнем до операции, что негативно влияло не только на активность остеогенеза, но и на регуляцию энергетического метаболизма [9].

Таблица 5

Динамика концентрации остеокальцина в сыворотке крови крыс после имплантации спиц, нг/мл

| Группы/сроки | До операции | 14 сутки после операции | 30 сутки после операции | 90 сутки после операции | 120 сутки после операции |
|-------------------|--------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|
| Здоровые животные | 125,7 ± 6,2 | 146,6 ± 67,7 | 100,3 ± 19,8 | 105,1 ± 38,3 | 94,1 ± 24,1 ^{^^} |
| Животные с ИОП | 107,8 ± 30,2 | 67,4 ± 2,1 ^{^^*} | 76,8 ± 6,8 ^{**} | 104,3 ± 28,3 | 73,7 ± 8,4 [^] |

Примечание. ** – $p \leq 0,01$ по отношению к здоровым животным;

[^] – $p \leq 0,05$ по отношению к уровню до операции;

^{^^} – $p \leq 0,01$ по отношению к уровню до операции.

В течение 120 суток после имплантации спиц концентрация остеокальцина в крови опытных крыс значимо ниже к 14 суткам

в 2,2 раза и к 30 суткам в 1,3 раза по отношению к здоровым животным. Максимум концентрации остеокальцина после

имплантации спиц у здоровых крыс отметили на 14 сутки, в то время как при ИОП гораздо позже – на 90 сутки.

Заключение

Таким образом, анализ полученных лабораторных данных свидетельствовал о развитии реакции минерального обмена на имплантацию спицы в условиях ИОП. Известно, что при формировании ИОП нарушается баланс процессов костного ремоделирования, с чем связываем различия в динамике кальциемии, фосфатемии, магнемии и уровня остеокальцина в крови у здоровых и опытных крыс. Значимо более высокие уровни в крови кальция, фосфата и магния, начиная с 30 суток после имплантации спицы на фоне ИОП, в сравнении со здоровыми животными, при достоверном снижении уровня остеокальцина в крови свидетельствовали о более низкой активности остеогенеза и процессов минерализации костного матрикса, негативно влияющих на репаративные процессы в костной ткани.

Список литературы

1. Ганжа А.А., Кузнецова О.А. Осложнения при черепном остеосинтезе у пациентов с ложными суставами на фоне сопутствующего иммобилизационного остеопороза // Вестник травматологии и ортопедии Урала. – 2012. – № 3–4. – С. 57–60.
2. Кучиев А.Ю. Применение гипербарической оксигенации при лечении ложных суставов трубчатых костей, осложненных остеопорозом (экспериментально-клиническое исследование): автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Новосибирск, 2008. – 26 с.
3. Родионова С.С., Колондаев А.Ф., Солод Э.И. Комбинированное лечение переломов шейки бедренной кости на фоне остеопороза // Клинические рекомендации и алгоритмы для практикующих врачей. Хирургия. Урология. – 2004. – № 24. – С. 1388–1391.
4. Трифонова Е.Б. Метаболическая концепция иммобилизационного остеопороза // Вестник травматологии и ортопедии им. В.Д. Чаклина. – 2010. – № 3. – С. 75–80.
5. Файтельсон А.В. Фармакологическая коррекция дефицита оксида азота при экспериментальном остеопорозе и переломах на его фоне: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Старая Купавна, 2013. – 48 с.
6. Энциклопедия клинических лабораторных тестов / под ред. Н.У.Тица. – М.: Лабинформ, 1997. – 960 с.

7. Bone regeneration related to calcium phosphate-coated implants in osteoporotic animal models: a meta-analysis / H.S. Alghamdi, R. Junker, E.M. Bronkhorst, J.A. Jansen // *Tissue Eng Part B Rev.* – 2012. – Oct. – Vol. 18(5). – P. 383–395.

8. Galli C. The importance of WNT pathways for bone metabolism and their regulation by implant topography / C. Galli, M. Piemontese, S. Lumetti [et al.] // *Eur.Cell Mater.* – 2012. – Jul. – Vol. 12, № 24. – P. 46–59.

9. Schafer A.L. Change in undercarboxylated osteocalcin is associated with changes in body weight, fat mass, and adiponectin: parathyroid hormone (1-84) or alendronate therapy in postmenopausal women with osteoporosis (the PaTH study) / A.L. Schafer, D.E. Sellmeyer, A.V. Schwartz [et al.] // *J.Clin. Endocrinol. Metab.* – 2011. – Dec. – Vol. 96(12). – E1982–9.

References

1. Ganzha A.A., Kuznetsova O.A. *Vestnik travmatologii i ortopedii Urala*, 2012, no. 3–4, pp. 57–60.
2. Kuchiev A.Yu. *Primenenie giperbaricheskoy oksigenacii pri lechenii lozhnykh sustavov trubchatykh kostej oslozhnennykh osteoporozom eksperimentalno klinicheskoe issledovanie* (Application of hyperbaric oxygen therapy in the treatment of long bone pseudarthrosis, complicated with osteoporosis (experimental and clinical study). Novosibirsk, 2008, 26 p.
3. Rodionova S.S., Kolondaev A.F., Solod E.I. *Khirurgiya. Urologiya*. 2004. no. 24. pp. 388–1391.
4. Trifonova E.B. *Vestnik travmatologii i ortopedii im. V.D. Chaklina*, 2010, no. 3, pp.75–80.
5. Faytelson A.V. *Farmakologicheskaya korrektsiya defitsita oksida azota pri eksperimentalnom osteoporoze i perelomakh naegofone* (Pharmacological correction of nitric oxide deficiency in experimental osteoporosis and fractures against its background). Staraya Kupavna, 2013, 48 p.
6. *Entsiklopediya klinicheskikh laboratornykh testov* pod red. Titsa N.Y. Moskow, Labinform, 1997, 960 p.
7. Alghamdi H.S., Junker R., Bronkhorst E.M., Jansen J.A. *Tissue Eng Part B Rev.*, 2012. no. 18(5), pp. 383–395.
8. Galli C., Piemontese M., Lumetti S. [et al.] *Eur.Cell Mater.*, 2012, Vol. 12, no. 24, pp. 46–59.
9. Schafer A.L., Sellmeyer D.E., Schwartz A.V. [et al.]. *J.Clin. Endocrinol. Metab.*, 2011, Vol. 96, no.12, pp. 1982–1989.

Рецензенты:

Мещанинов В.Н., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой биохимии, ГБОУ ВПО УГМУ МЗ РФ, г. Екатеринбург;

Осипенко А.В., д.м.н., профессор кафедры патофизиологии, ГБОУ ВПО УГМУ МЗ РФ, г. Екатеринбург.

Работа поступила в редакцию 07.05.2014.