

# АННАЛЫ ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ



# ХРОНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ФОРМИРОВАНИЯ ПЕРИОСТАЛЬНОЙ МОЗОЛИ (сообщение II)

А.С.АВРУНИН, кандидат медицинских наук; Н.В.КОРНИЛОВ, чл.-корр.  
РАМН; А.В.СУХАНОВ, врач

*Российский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии  
им. Р.Р.Вредена (директор - профессор, засл. деятель науки РФ, член-корр. РАМН Н.В. Корнилов)*

*По результатам исследования 358 рентгенограмм 179 белых беспородных крыс-самцов представлены хронобиологические характеристики перестройки периостальной мозоли правой бедренной кости. Установлено, что параметры перестройки периостальной мозоли изменяются с циркасеptанной периодичностью. Показано, что хронобиологические характеристики процесса перестройки периостальной мозоли зависят от расстояния до места перелома.*

Исследования периостальной мозоли, выполненные на клеточно-тканевом (Brandeisky et al., 1989), молекулярном (И.Б. Ролевич, 1979) и генетическом (Hirakawa et al., 1994; Nakase, 1994) уровнях, выявили зависимость наблюдаемых изменений не только от срока, прошедшего с момента травмы, но и от расстояния до места перелома. В то же время представленная этими и другими авторами (Sandberg M. et al., 1989; Huges et al., 1995) пространственно-временная характеристика процесса проведена без учета ее хронобиологических особенностей, что не позволяет получить полное представление о течении репарации после нарушения целостности кости.

**Цель:** представить хронобиологическую характеристику пространственно-временной структуры процесса формирования периостальной мозоли.

## **Материал и методы исследования**

Эксперимент осуществлен на 179 белых беспородных крысах-самцах массой 180-220 г. Динамику формирования периостальной мозоли правой бедренной кости после ее остеотомии в средней трети оценивали по данным 358 рентгенограмм. Травму наносили по описанной ранее методике (А.С. Аврунин, 1996). Отломки фиксировали интрамедуллярно металлическим стержнем. В 8 участках периостальной мозоли на микрофотометре МФ-4 определяли толщину и оптическую плотность, величина которой обратна минеральной. Для стандартизации полученных данных использовали рентгенологический клин

(М.А.Корнев, 1977). Результаты выражали в процентах по отношению к дооперационной толщине и минеральной плотности кортикального слоя.

Исследование проводили в течение 60 суток после травмы. Для построения математической модели процесса временные ряды результатов ежедневных наблюдений сглаживали кубическими сплайнами по методу наименьших квадратов. Различия между кривыми определяли по формуле, аналогичной применяющейся в математике (так называемые пространства Соболева) (С.Л.Соболев, 1950) и позволяющей учитывать не только разность ординат, но также скоростей и ускорений их изменений (А.С. Аврунин, 1996). Данные обрабатывали статистически с использованием U-критерия Вилкоксона-Манна-Уитни (Е.В.Глер, 1978).

## **Результаты исследования**

*Хронобиологическая характеристика формирования периостальной мозоли.* Во всех исследованных участках толщина и минеральная плотность периостальной мозоли меняется преимущественно с циркасеptанной (недельной) или кратной ей периодичностью вокруг тренда (см. табл. и рис. 1, 2). За время одного циркасеptанного периода первый показатель колеблется в пределах 8,0-75,0%, а второй - от 4,6 до 30,4%. Как видно из таблицы, в участках, граничащих с линией перелома, по сравнению с дистантными, меньше период колебаний минеральной плотности ( $P<0,05$ ) и выше амплитуды колебаний толщины ( $P<0,05$ ).



Таблица

Параметры колебаний минеральной плотности и толщины периостальной мозоли правой бедренной кости в течение 60 сут. с момента остеотомии

Наименование участка	Минеральная плотность	Толщина	Минеральная плотность	Толщина
		период (сут.)	амплитуда (%)	
проксимальный отломок				
I (передний)	5,0*; $\sigma=2,3^{**}$ n=9***	4,5; $\sigma=1,4$ n=10	8,7; $\sigma=4,1$ n=9	31,2; $\sigma=21,6$ n=10
I (задний)	5,2; $\sigma=2,7$ n=9	4,7; $\sigma=1,4$ n=10	8,2; $\sigma=4,9$ n=9	42,0; $\sigma=16,7$ n=10
II (передний)	6,7; $\sigma=4,6$ n=7	6,0; $\sigma=2,9$ n=8	14,7; $\sigma=6,9$ n=7	25,8; $\sigma=14,0$ n=8
II (задний)	6,3; $\sigma=2,3$ n=7	3,9; $\sigma=1,7$ n=12	10,5; $\sigma=3,4$ n=7	19,7; $\sigma=10,4$ n=12
дистальный отломок				
I (передний)	4,6; $\sigma=2,3$ n=9	5,8; $\sigma=1,8$ n=8	12,3; $\sigma=6,2$ n=9	37,5; $\sigma=15,2$ n=8
I (задний)	4,1; $\sigma=1,0$ n=10	4,2; $\sigma=1,0$ n=11	10,6; $\sigma=4,5$ n=10	36,1; $\sigma=20,5$ n=11
II (передний)	6,7; $\sigma=4,6$ n=7	5,6; $\sigma=2,4$ n=7	12,0; $\sigma=8,3$ n=7	33,5; $\sigma=20,5$ n=7
II (задний)	5,3; $\sigma=2,1$ n=8	4,6; $\sigma=1,1$ n=10	9,1; $\sigma=3,5$ n=8	17,5; $\sigma=6,5$ n=10

Примечание: \* среднее значение параметра;  
\*\* его среднеквадратическое отклонение;  
\*\*\* количество волн.

Различия отмечены не только в характере колебательного процесса, но и в динамике изменения трендов (рис. 1, 2). Так, например, с 45-х суток до конца срока наблюдения тренд толщины участка II (задний) проксимального отломка увеличивается, а участка I (задний) - уменьшается. Для выделения временных интервалов, в которые преобладают или однотипные, или разнотипные изменения хронобиологических параметров процесса, провели сопоставление как трендовых, так и колебательных характеристик одноименных показателей (размеров и минеральной плотности) по принципу «каждый с каждым».

*Сопряженность трендовых изменений.* Наибольшие различия трендов минеральной плотности констатированы с 20-х по

38-е сутки, наименьшие - с 46-х вплоть до окончания эксперимента, а размеров - преимущественно с 21-х по 41-е и реже всего - с 10-х по 15-е и с 48-х суток (рис. 3.4). Таким образом, различия трендовых характеристик обоих показателей максимальны с 21-х по 38-е сутки и минимальны с 48-х до конца срока наблюдения.

*Сопряженность колебательных изменений.* Различия минеральной насыщенности наиболее часто выявляются с 11-х по 14-е, на 37-е и 42-43-е сутки, а толщины - на 34-е, 37-е и 49-е сутки, будучи наименее выражены для первого показателя с 26-х по 29-е, с 31-х по 36-е, на 38-е, с 45-х по 50-е и с 52-х по 58-е сутки, а для второго - с 17-х по 20-е, с 22-х по 24-е, на 30-е, 44-е и с 54 по 57-е сутки (рис. 3.4). Таким образом, максимальная разница колебательных



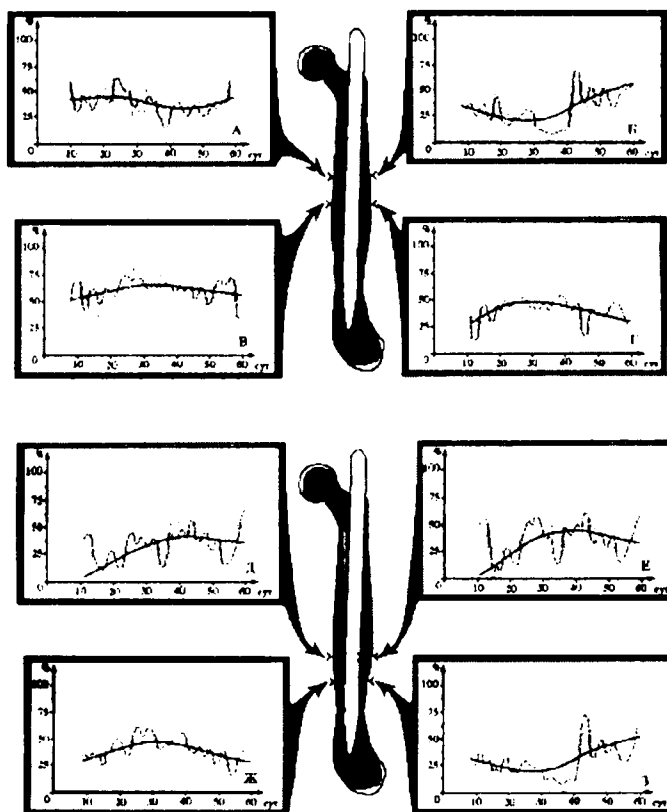


Рис. 1 Динамика минеральной плотности участков периостальной мозоли правой бедренной кости

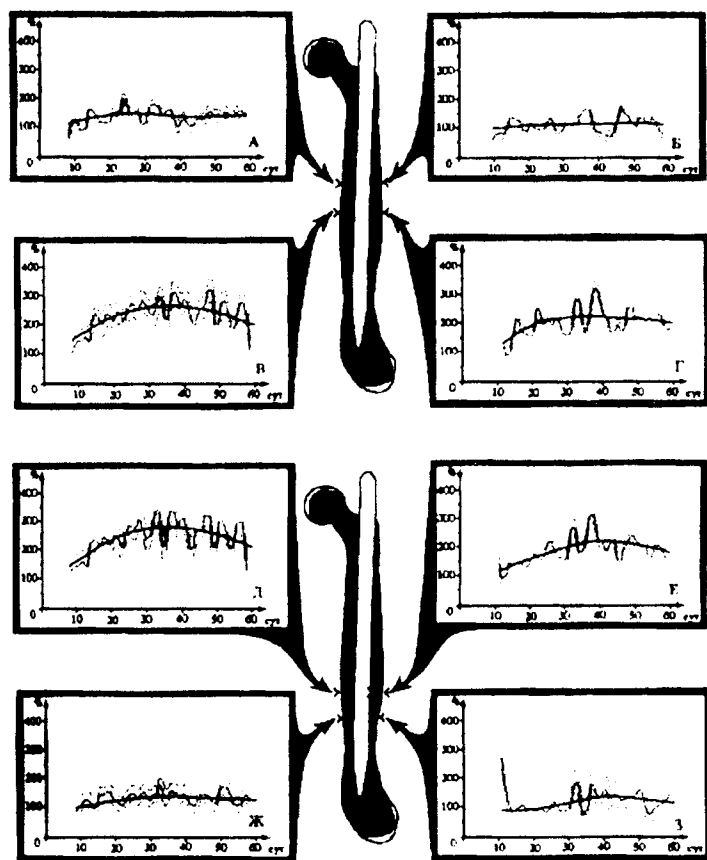


Рис. 2 Динамика толщины участков периостальной мозоли правой бедренной кости.

Участок на рисунке указан стрелкой.

Графики:

- А - участок П (задний) проксимального отломка;
- Б - участок П (передний) проксимального отломка;
- В - участок I (задний) проксимального отломка;
- Г - участок П (передний) проксимального отломка;
- Д - участок I (задний) дистального отломка;
- Е - участок I (передний) дистального отломка;
- Ж - участок П (задний) дистального отломка;
- З - участок П (передний) дистального отломка;

Обозначения:

- по горизонтальной оси - время, прошедшее с момента травмы в сут.;
- по вертикальной оси - толщина участка в % к дооперационному уровню;
- участки исследования;
- тренд (параметры математической модели  $P=0,0001$ );
- сглаживание сплайнами с параметрами математической модели  $P=0,7$ ;
- полуширина доверительной полосы (1,96σ).

характеристик обоих показателей наблюдается на 37-е сутки, а минимальная - с 54-х по 57-е сутки.

Обобщая результаты хронобиологического исследования, необходимо подчеркнуть тот факт, что максимальные различия не только трендовых, но и колебательных характеристик проявляются на 37-е сутки, а минимальные - на 54-57-е.

*Обсуждение*

Согласно полученным данным, как толщина, так и минерализация периостальной мозоли во всех исследованных участках изменяется с циркасептанной периодичностью вокруг тренда, величина которого также не постоянна. При этом существует зависимость параметров колебательного процесса от расположения исследуемых участков по отношению к линии остеотомии. Более высокие амплитуды изменения толщины периостальной мозоли наблюдаются в участках I (передний и задний) проксимальной и дистальной областей (рис. 2), граничащих с линией остеотомии, причем период колебаний уровня минерализации здесь меньше. Следовательно, в этой зоне (по сравнению с отдаленными участками) активнейше происходит перестройка регенерата.

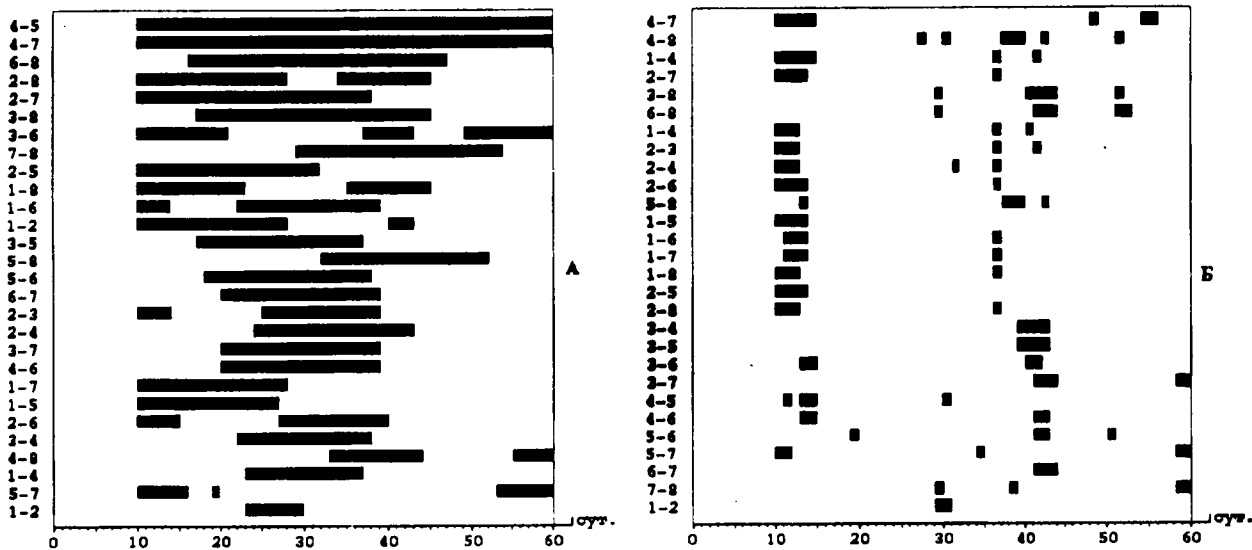


Рис. 3 Различия динамики минеральной плотности участков периостальной мозоли правой бедренной кости

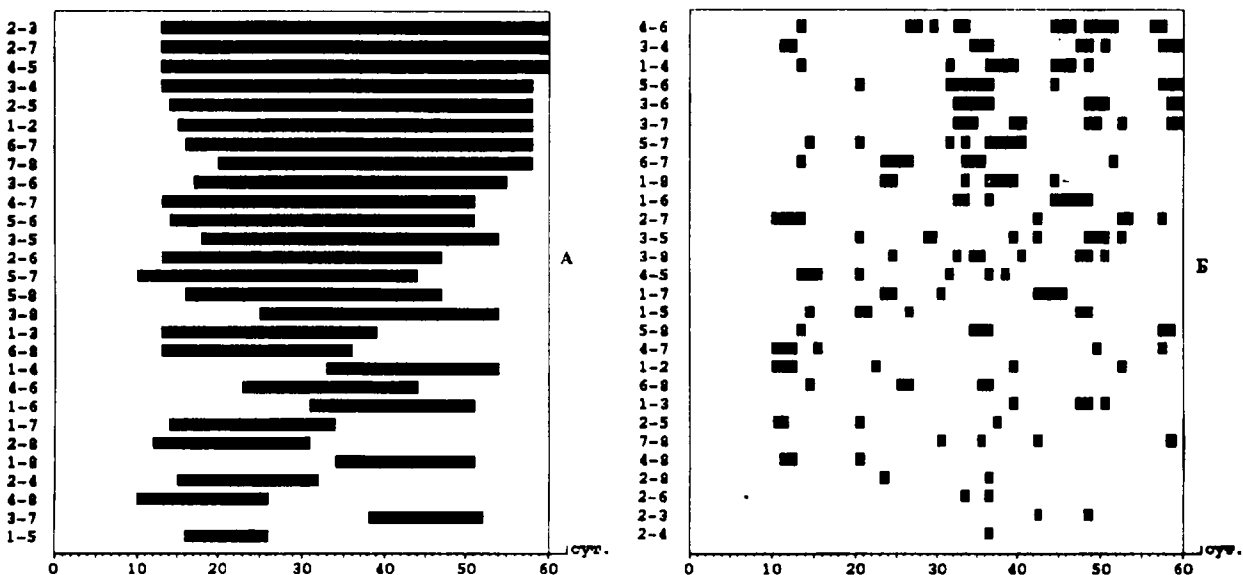


Рис. 4 Различия динамики толщины участков периостальной мозоли правой бедренной кости

На графиках:

А - сроки различий криволинейных (аппроксимация сплайнами, параметры математической модели,  $p=0,0001$ ) трендов;

Б - сроки различий колебательных составляющих.

Обозначения: по горизонтальной оси - время, прошедшее с момента травмы в сут.;

по вертикальной оси - варианты сопоставления;

■ - сроки значимых различий ( $P<0,05$ ).

- 1 - участок I (передний) дистального отломка;
- 2 - участок II (передний) дистального отломка;
- 3 - участок I (задний) дистального;
- 4 - участок II (задний) дистального отломка;
- 5 - участок I (передний) проксимального отломка;
- 6 - участок II (передний) проксимального отломка;
- 7 - участок I (задний) проксимального отломка;
- 8 - участок II (задний) проксимального отломка.



По нашему мнению, в основе обнаруженных явлений лежат различия в действии регуляторных механизмов. Подтверждением этого являются результаты исследований Nakase и соавторов (1994), которые показали, что синтез костного морфогенного белка (одного из регуляторов репаративного остеогенеза) начинается уже через 12 часов в пролиферирующей надкостнице рядом с линией перелома, через 2-е суток в фибробластах и клетках мышечной ткани также в зоне травмы, с 3-х суток в ближайших участках костного мозга. Согласно данным Hикакава и соавторов (1994), у крыс с переломом бедренной кости на 3-и сутки синтез остеоонектина, остеопопина, остеокальцина и матриксного Gla-протеина (также являющихся позиционными регуляторами) ограничивается областью между отломками, на 5-е сутки в новообразованных хрящевых островках этой же зоны обнаруживаются остеоонектин и матриксный Gla-протеин, на 7-е - в новообразованной костной ткани остеоонектин, остеопопин, остеокальцин и на 15-е - остеопопин и матриксный Gla-протеин.

Эксперименты названных авторов частично характеризуют каскад развития регуляторных реакций, на существование которого после перелома указывает Einhorn (1995). Активация регуляторных механизмов в свою очередь приводит к активации процессов формирования регенерата. Проявлением этого является активация синтеза коллагена, наблюдаемая преимущественно в области повреждения. Так, в экспериментах Sandberg и соавторов (1989), у крыс рядом с линией перелома большеберцовой кости до 5-х суток преобладала репрессия генов коллагена I типа в остеогенных клетках надкостницы, на 7-е - начинается, а к 14-м суткам превалировал синтез этого белка между отломками. Таким образом, именно около линии перелома, по сравнению с отдаленными участками, интенсифицируются процессы связанные с формированием регенерата.

Представленные нами хронобиологические характеристики репарации кости (более высокая амплитуда колебаний толщины периостальной мозоли в зоне травмы) также свидетельствуют о более активной перестройке регенерата. Это предполагает (и в определенной степени подтверждается приведенными выше литературными данными) усиленный клеточный метаболизм, а значит и повышенную концентрацию в межклеточном пространстве экскретиру-

емых продуктов жизнедеятельности клеток, часть из которых регулирует процессы минерализации-деминерализации регенерата. Необходимо подчеркнуть наличие существенной разницы в тканевой структуре последнего и кости, а следовательно, и механизмах формирования минеральных структур. Однако, независимо от различий, некоторые элементы имеют общий характер в процессе минерализации-деминерализации этого тканевого комплекса. Так, по мнению Zambotti и Bolognani (1972), полярные и аминные группы полипептидных цепей органического матрикса могут связывать фосфат или пирофосфат. Количество этих групп увеличивается в результате действия гидролаз, выделяемых клетками регенерата. Таким образом, ритм их секреции определяет ритм кристаллизации. Кроме этого, как отмечают Л.И.Слущкий и Н.А.Севастьянова (1986), связывание коллагеновых фибрилл и минералов происходит под влиянием остеоонектина, остеопопина и остеокальцина, концентрация которых также определяется ритмом синтетических процессов в клетках регенерата.

Растворение минералов (деминерализация) регулируется во многом действием угольной и лимонной кислот (А.Хэм, Д.Комрак, 1983). Скорость выделения последних клетками связана с ритмом их метаболизма. При этом Б.Я.Власов (1987) продемонстрировал увеличение концентрации лимонной кислоты в регенерате. Таким образом, процесс как отложения минералов, так и их растворения связан с ритмами клеточного метаболизма. Исходя из того, что в зоне травмы (как следует из наших данных) метаболическая активность выше, можно предположить, что более короткий период колебаний минерализации отражает здесь в большей степени влияние ритмов клеточного метаболизма (клетки в этом случае могут рассматриваться как водитель ритма), чем в отдаленных от линии перелома участках, где возможна преимущественная роль других факторов.

Как показано выше, параметры хронобиологических характеристик формирования периостальной мозоли отражают влияние регуляторных механизмов. С этой точки зрения важен тот факт, что на 37 сут. наблюдается максимальная разница как в изменении долгопериодических, так и циркасептанных процессов. Рентгенологически к данному сроку первичная кост-

ная мозоль уже сформирована, и до 53-е сут. динамика рентгенологической картины (на нашей экспериментальной модели) отсутствует. Преобладание различий в активности репаративного остеогенеза между исследуемыми участками свидетельствует о доминирующем влиянии местных регуляторов, что позволяет более рационально перераспределять между ними потоки вещества и энергии. По-видимому, в это время происходит экстремальная перестройка метаболизма только на уровне регенерата. С 54-х по 57-е сут., что рентгенологически соответствует времени начала этапа ремоделирования периостальной мозоли, различия между участками минимальные. Это свидетельствует о преобладании общерегуляторных механизмов над местными, что позволяет синхронизировать метаболические процессы в данный временной интервал. Таким обра-

зом, окончание формирования периостальной мозоли характеризуется преобладанием местных регуляторных эффектов, а начало ее перестройки - общих.

*Заключение.* Полученные данные свидетельствуют о том, что хронобиологические характеристики процесса формирования периостальной мозоли в различных участках зависят от расстояния до места травмы. Ритм процесса минерализации-деминерализации регенерата около линии перелома определяется ритмом метаболизма клеток периостальной мозоли. Использование разработанной ранее методологии комплексной оценки регуляции пространственно-временной структуры позволило установить, что окончание формирования периостальной мозоли характеризуется преобладанием местных регуляторных эффектов, а начало ее перестройки - общих.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Аврунин А.С. Операционная травма с нарушением целостности костей: патогенез восстановительного процесса и возможность снижения риска послеоперационных осложнений: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. - СПб., 1996. - 33 с.
2. Власов Б.Я. Посттравматическая регенерация костной ткани в биоэнергетическом аспекте и перспективы ее оптимизации: Автореф. дисс. ... д-ра. мед. наук. - М., 1987. - 45 с.
3. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. - Л: Медицина. 1978. - 294 с.
4. Корнев М.А. Эталонная линейная рентгеноденситометрия как метод прижизненного определения минеральной насыщенности костной ткани// Арх. анатом. - 1977. - Т. 72, вып. 6. - С. 58-60.
5. Ролевич И.Б. Влияние перелома кости на биохимические процессы в костной ткани// Ортопед., травматол. - 1979. - №9. - С. 47-52.
6. Стункий Л.И., Севастьянова Н.А. Органический матрикс кости: новые биохимические данные// Ортопед., травматол. - 1986. - №8. - С. 69-78.
7. Соболев С.Л. Некоторые применения функциональной анализа в математической физике. - Л.: ЛГУ. 1950. - 250 с.
8. Хэм А., Кормак Д. Костная ткань// Гистология. - М., 1983. - Т. 3. - С. 19-131.
9. Brandeisky J., Shermaan M., Lenet M. Compression: is it necessary for bone healing?// J. Foot Surg. - 1989. - V. 28, №5. - P. 425-428.
10. Einhorn T. Enhancement of fracture-healing// J. Bone Jt. Surg.- 1995.-V.77-A. N 6.-P. 940-956
11. Hirakawa K. et al. Localization of the mRNA for bone matrix proteins during fracture healing as determined by in situ hybridization/ K. Hirakawa, S. Hilota, T. Ikeda, et al. // J. Bone Miner Res. - 1994. - V. 9, №10. - P. 1551-1557.
12. Huges S. et al. Shared phenotypic expression of osteoblasts and chondrocytes in fracture callus/ S. Huges, D. Hicks, R. OKeefe, et al//J. Bone Miner Res. - 1995. - V. 10, №4. - P. 533-544.
13. Nakase T. et al. Transient and localized expression of bone morphogenic protein 4 messenger RNA during fracture healing/ T. Nakase, S. Nomura, H. Yoshikawa, et al.// J. Bone Miner. Res. - 1994. - V. 9, №5. - P. 654-659.
14. Sandberg M. et al. In situ localization of collagen production by chondrocytes and osteoblasts in fracture callus./ M. Sandberg, H. Arc, P. Multimaki, et al.// J. Bone Jt Surg. - 1989. - V. 77-A, №1. - P. 69-77.
15. Zambotti V., Bolognani L. Химический состав и обмен хряща и кости //Механизмы регенерации костной ткани. - М. - 1972. - С. 113-131.

## CHRONOBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF FRACTURE CALLUS FORMATION (PART II)

A.S. Avrunin, N.V. Kornilov, A.B. Sukhanov

*Chronobiological characteristics of fracture callus remodelling during 2 month after the injury were studied in experimental tests on 179 male rats, Analysis of 358 roentgenograms showed that the parameters of periosteal callus turnover varied with a circasceptane periodicity, its chronobiological characteristics depending on a distance from the fracture site.*

