

© Коллектив авторов. 2001  
 УДК 611.018.4:612.015.31:599.323.4

А.С.Аврунин, Н.В.Корнилов, И.Д.Иоффе и В.Г.Емельянов

## ПЕРЕСТРОЙКА МИНЕРАЛЬНОГО МАТРИКСА КОСТНОЙ ТКАНИ

Лаборатория изотопных исследований (науч. руков. — д-р. мед. наук А.С.Аврунин)

Российского научно-исследовательского института травматологии и ортопедии им. Р.Р.Вредена, Санкт-Петербург

Масса скелета у человека составляет около 15% от общей массы тела [15], а минерального компонента — 65% от массы костной ткани [18]. В нем содержится около 99% кальция и 87% фосфора [13], входящих в состав кристаллического гидроксиапатита  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)(\text{OH})_2$  и аморфного фосфата кальция  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ . В эксперименте формирование кристаллов апатита происходит или путем быстрой кристаллизации с образованием первичных кристаллов, или медленной — из аморфного фосфата кальция [10].

Сложность изучения структуры минерального матрикса (размеров апатита и пространственного расположения минералов) с помощью электронной микроскопии связана с возникающими неточностями, так как большинство экспериментов проведены на слабо кальцинированных моделях или химически обработанных образцах. P.Fratzl и соавт. [17] исследовали нативную костную ткань крыс и мышей количественным методом углового рассеяния рентгеновских лучей и нашли, что минеральные ядра — это тонкий слой фосфата кальция, расположенного между фибриллами коллагена. Эти ядра постепенно растут, в результате чего толщина минерала достигает, приблизительно, 3 нм, что соответствует максимальной величине межфибрилярного промежутка.

Постоянная перестройка минерального матрикса обеспечивается, с одной стороны, процессом ремоделирования костной ткани [3], а с другой, растворением и формированием минеральных структур в процессе их контакта с межклеточной жидкостью. По мнению J.Staub и соавт. [19], последнее является одним из основных факторов поддержания параметров минерального гомеостаза. Они разработали математическую модель на основании разделения всей массы кальция на восемь компартментов и предсказали различие между количеством кальция, осажденного в зонах роста кости и повторно используемого в процессе ее развития, а также содержанием кальция в зрелой кости, распределенной между четырьмя компартментами. Было показано, что два из них имеют автоколебательный характер и могут отражать измененные соотношения Са:Р в жидкой/твердой фазах

костного матрикса. Этот процесс регулируется клетками остеобластического ряда. Из двух других компартментов один представлен в основном стабильными кристаллами гидроксиапатита, другой — нестабильными.

Поступление кальция и фосфора в костную ткань, как и их выделение, по-видимому, обеспечивается биохимическими насосами. Так, согласно данным J.Caverzasio и J.Bonjour [16], локальное увеличение содержания неорганического фосфата происходит в результате функционирования сложного транспортного механизма. Клетки остеобластического ряда осуществляют его транслокацию из системного в скелетный внеклеточный компартмент за счет  $\text{Na}^+$ -зависимого транспорта неорганического фосфата через плазматические мембраны. Он регулируется остеотропными факторами, в том числе паратгормоном, паратгормон-связывающим белком, инсулиноподобным фактором роста I, тромбоцитарным фактором роста.

J.Staub и соавт. [19] считают, что циркадианные колебания метаболизма кальция — проявление временной экспрессии самоорганизующейся системы. Выявлена также циркасептанная периодичность [1, 2]. При этом активность и направленность перестройки минерального матрикса асимметричны как между отдельными костными органами, так и между их участками. Степень асимметрии изменяется с циркасептанной периодичностью, т. е. в половине временного интервала превалирует формирование минеральных структур в одном из сопоставляемых участков, а во второй половине — в другом [11].

Цель настоящего исследования — определить количество кальция и фосфора, постоянно перераспределяющееся между костной тканью и жидкостями организма.

Материал и методика. Для объективизации выводов использовали три разных метода определения содержания кальция и фосфора в минеральном матриксе костной ткани и различные объекты исследования. В связи с тем, что обменные и репаративные процессы в костной ткани у млекопитающих животных и человека не имеют существенных качественных различий, в первых двух вариантах исследование проводили на крысах. Эксперимент планировали таким образом, чтобы получить динамический ряд ежедневных наблюдений в течение 60 сут после нанесения по-

вреждения. Для получения математических моделей процесса временные ряды сглаживали сплайнами (уровень значимости математических моделей  $P < 0,05$ ).

*Определение содержания фосфатов в минеральном матриксе костной ткани.* Содержание минеральных фосфатов оценивали по методу Фиске и Себерроу [12] в средней трети диафиза обеих бедренных, большеберцовых и плечевых костей крыс с единичными (174) и множественными (169) остеотомиями. Техника нанесения операционной травмы описана ранее [1].

*Определение минеральной плотности костной ткани методом рентгенографической остеоденситометрии.* На 358 рентгенограммах правой большеберцовой кости и XI и XII хвостовых позвонков крыс с остеотомией правой бедренной кости оценивали оптическую плотность, которая обратна минеральной. Рентгенографию в стандартной боковой проекции производили до операции, а затем по скользящему графику. На микрофотометре МФ-4 со световым окном  $1 \times 5$  мм исследовали 10 участков правой большеберцовой кости и по 4 участка в XI и XII хвостовых позвонках. Полученные результаты выражали в процентах к дооперационному уровню. Результаты денситометрии стандартизовали по десятиступенчатому металлическому клину, изображение которого присутствовало на всех рентгенограммах.

*Определение минеральной плотности костной ткани методом двойной фотонной рентгеновской абсорбциометрии.* У 46 пациентов (28 мужчин, 18 женщин) с последствиями травм и заболеваний скелета (ложные суставы костей нижних конечностей, деформирующий артроз крупных суставов) определяли минеральную плотность костной ткани в 30 участках скелета (пяточных костях, средних третях диафизов большеберцовых и малоберцовых костей, мышечках бедренных и большеберцовых костей, нижних, средних и верхних третях диафизов бедренных и плечевых костей, голеностопных, лучезапястных, локтевых и плечевых суставах). Исследование проводили в динамике от 2 до 5 раз с интервалом от 3 до 39 сут методом двойной фотонной рентгеновской абсорбциометрии на денситометре SOPHOS L-XRA «Sopha medical».

**Результаты исследования и их обсуждение.** *Результаты определения содержания фосфатов в минеральном матриксе.* Анализ колебательных кривых позволил установить, что во всех зонах величина исследуемого показателя колеблется с циркасептанной (околонедельной) периодичностью независимо от тяжести травмы. Средняя длина периода колебаний при монотравме составляет 7,1 сут ( $\delta = 0,8$  сут), при политравме — 7,8 сут ( $\delta = 1,7$  сут), амплитуды — 1,9 мг/г ткани ( $\delta = 0,3$  мг/г ткани) и 2,0 мг/г ткани ( $\delta = 0,6$  мг/г ткани), соответственно, средняя масса минеральных фосфатов — 12,3 мг/г. При расчете количества минеральных фосфатов, обменивающихся за одни сутки, учитывали, что в одной половине околонедельного периода превалирует формирование минеральных структур, а в другой — разрушение. В результате было найдено, что за 24 ч при монотравме обменивается 4,3% фосфатов минераль-

ного матрикса, а при политравме — 4,2%. Исходя из химической формулы аморфного фосфата кальция и гидроксиапатита, можно определить, сколько кальция и фосфора обменивается в расчете на 1 кг массы тела<sup>1</sup> (табл. 1).

Таблица  
Масса кальция (г) и фосфора (г), находящихся в постоянном обмене между их нерастворимыми и ионизированными формами

Метод изучения	На 1 кг массы тела		На 70 кг массы тела	
	Кальций	Фосфор	Кальций	Фосфор
Биохимический	1,6–3,1	0,2–0,8	112–217	14–56
Рентгенографическая денситометрия	2,1–4,2	0,3–1,1	147–294	21–77
Двойная фотонная рентгеновская абсорбциометрия	1,5–2,9	0,2–0,8	105–203	14–56

*Результаты определения минеральной плотности костной ткани методом рентгенографической остеоденситометрии.* Установлено, что минеральная плотность костной ткани во всех исследованных участках изменяется с циркасептанной периодичностью. Средний период колебаний составляет 5,5 сут ( $\delta = 0,6$  сут), а амплитуда — 19,5% ( $\delta = 6,1\%$ ).

Коэффициент поглощения рентгеновских лучей (а следовательно, и интенсивность костной тени на рентгенограмме) на 95% определяется минеральным компонентом [4, 6, 14], в котором 79,6% приходится на долю кальция [5]. На основании этих данных, был проведен расчет массы кальция и фосфора, находящихся в состоянии постоянного обмена между костной тканью и жидкостями организма (см. табл. 1).

*Результаты определения минеральной плотности костной ткани методом двойной фотонной рентгеновской абсорбциометрии.*

На основании исследования 30 участков скелета, у 46 больных была рассчитана средняя минеральная плотность костной ткани. В связи с тем, что исследование в динамике у части пациентов проводилось 3 раза и более, были поставлены все возможные варианты двукратных исследований и определена разница средней минеральной массы между первым и вторым измерениями. Например, у больной В средняя минеральная масса при первом обследовании составила 0,951 г/см<sup>2</sup>, при втором — 0,985 г/см<sup>2</sup> и при третьем — 0,949 г/см<sup>2</sup>. Вре-

<sup>1</sup>Расчет произведен для двух вариантов структуры минерального матрикса: первый, при котором он состоит только из аморфного фосфата кальция, и второй — из гидроксиапатита (в каждом минерале разное количество кальция и фосфора). В связи с тем, что соотношение этих минералов в костной ткани не постоянно, эти варианты определяют крайние границы содержания кальция и фосфора.

временной интервал между первым и вторым исследованием составил 9 сут, между первым и третьим — 16 сут и между вторым и третьим — 7 сут. Принимая результат первого исследования за 100%, получаем, что за время, прошедшее от момента первого исследования до второго, средняя минеральная масса увеличилась на 3,6%, от первого до третьего — снизилась на 3,3% и от второго до третьего — на 3,9%.

Проведение такого анализа у всех обследованных позволило установить, что средняя величина отклонений в сторону снижения составляет 4,0% ( $\delta=3,9\%$ ), увеличения — 3,9%, ( $\delta=4,3\%$ ). Модуль величины отклонения равнялся 3,9%.

Оценка зависимости минеральной плотности скелета от длительности временного интервала при двукратном исследовании не показала существенных различий (табл. 2). Это позволяет утверждать, что изменение данного параметра определяется колебательным характером метаболизма минерального матрикса и результаты его двукратного определения имеют случайный характер. На основании полученных данных, была рассчитана масса кальция и фосфора, находящихся в состоянии постоянного обмена между минеральным матриксом костной ткани и жидкостями организма (см. табл. 1).

Таблица 2

Зависимость длительности временного интервала между двумя исследованиями и модулем величины отклонения минеральной плотности скелета (%)

Длительность временного интервала между двумя исследованиями, сут	n	$M_{cp}$	$\sigma$	Max
4-7	29	4,3	4,8	19,8
8-14	54	3,2	3,1	13,0
15-21	30	3,7	4,3	19,1
22-39	17	4,7	4,6	17,6

У человека с массой 70 кг от 119 до 231 г кальция и от 14 до 63 г фосфора постоянно перераспределяются между минеральными структурами костной ткани и жидкостями организма. В связи с этим назначаемые с лечебной целью препараты кальция, доза которых в сотни раз меньше, обеспечивают только восполнение физиологических потерь этого элемента, но не могут существенно сдвинуть равновесие в процессе формирования и растворения минералов в сторону их воспроизводства.

Важно подчеркнуть, что результаты динамического исследования локальных участков скелета не могут быть интерполированы на весь

скелет в целом, также как нельзя, проведя комплексное исследование всего скелета, перенести полученные результаты на конкретный его локус. Это связано с тем, что в то время как в одних участках скелета преобладают процессы созидания минерального матрикса, в других — превалирует его разрушение [1-3, 7]. Последнее является одним из основополагающих элементов структуры пространственно-временной организации функций организма, которая формируется по закону перемежающейся активности, сформулированному Г. Н. Крыжановским [8, 9].

Наконец, необходимо учитывать влияние биоритмов на изменение как средней, так и локальной минеральной плотности костной ткани. При двукратном динамическом исследовании пациентов изменение минеральной плотности, связанные с циркасаптанскими колебаниями этого параметра, могут ошибочно интерпретироваться как эффект лечения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Аврунин А.С. Механизмы развития адаптационного ответа организма на нарушение целостности костей и пути превентивной профилактики послеоперационных осложнений: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Самара, 1998.
2. Аврунин А.С., Корнилов Н.В. и Суханов А.В. Хронобиологические характеристики ремоделирования костной ткани позвонков после остеотомии правой бедренной кости (сообщение IV). *Анналы ортопед. и травматол.*, 1999, № 1, с. 11-17.
3. Аврунин А.С., Корнилов Н.В., Суханов А.В. и Емельянов В.Г. Формирование остеопоротических сдвигов в структуре костной ткани. СПб., Изд-во «Ольга», 1998.
4. Алексеева Т.И., Смирнова Р.С. и Павловский О.М. Принципиальное определение минеральной насыщенности скелета человека с помощью рентгенофотометрии. *Вопр. антропол.*, 1963, № 15, с. 3-19.
5. Арифова Г.А. Прижизненная оценка минеральной насыщенности костной ткани у здоровых детей. *Мед. журн. Узбекистана*, 1985, № 8, с. 64-67.
6. Корнев М.А. Эталонная линейная рентгеноденситометрия как метод прижизненного определения минеральной насыщенности костной ткани. *Арх. анат.*, 1977, т. 72, вып. 6, с. 58.
7. Корнилов Н.В., Аврунин А.С., Синюкова И.В. и Каземирский В.Е. Биоритмы обменных процессов в костной ткани и диагностическая ценность двойной фотонной рентгеновской абсорбциометрии. *Вестн. травматол. и ортопед. им. Н.Н.Приорова*, 1999, № 4, с. 52-56.
8. Крыжановский Г. Н. Биологические ритмы и закон структурно-функциональной дискретности биологических процессов. В кн.: *Биологические ритмы в механизмах компенсации нарушенных функций*. М., 1973, с. 20-34.
9. Крыжановский Г. Н. Расстройство нервной регуляции. В кн.: *Патология нервной регуляции функций*. М., 1987, с. 5-42.
10. Ньюмен У. и Ньюмен М. Минеральный обмен кости. М., Изд-во иностр. лит-ры, 1961.

11. Паршин В. А. Изолированная и множественная скелетная травма. Хронобиологические характеристики асимметрии адаптивной реакции: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб., 1999.
12. Предтеченский В. Е. Руководство по клиническим лабораторным исследованиям. М., Медицина, 1964.
13. Прохончуков А. А., Жижина Н. А. и Тигронян Р. А. Гомеостаз костной ткани в норме и при экстремальном воздействии. В кн.: Проблемы космической биологии. Т. 49. М., 1984, с. 136–162.
14. Рохлин Г. Д., Жданова Н. В., Григорьева Я. В. и Шимановская К. Б. Рентгенограмметрия и рентгеноденситометрия в оценке некоторых морфологических изменений. Арх. анат., 1975, т. 69, вып. 7, с. 87–91.
15. Франке Ю. и Рунге Г. Остеопороз. М., Медицина, 1995.
16. Caverzasio J. and Bonjour J. Characteristics and regulation of Pi transport in osteogenic cells for bone metabolism. *Kidney Int.*, 1996, v. 49, № 4, p. 975–980.
17. Fratzi P., Fratzi-Zelman N., Klaushofer K. et al. Nucleation and growth of mineral crystals in bone studied by small-angle X-ray scattering. *Calcif. Tiss. Int.*, 1991, v. 48, № 6, p. 407–413.
18. Herring G. M. Цитировано по Ю. Франке и Г. Рунге, 1995.

19. Staub J., Tracqui P., Brezillon P. et al. Calcium metabolism in the rat: a temporal self-organized model. *Amer. J. Physiol.*, 1988, v. 254, № 1 (Pt 2), p. R134–R149.

Поступила в редакцию 28.08.2000

## FORMATION AND REMODELLING OF OSSEOUS TISSUE MINERAL MATRIX

*A.S.Avrutin, N.V.Kornilov, I.D.Ioffe and V.G.Emelianov*

Based on experimental and clinical chronobiological investigations with an application of three different methods of estimation of osseous tissue mineral density: biochemical (phosphates content in bone tissue mineral matrix), roentgenographic densitometry and dual photon X-ray absorption, it has been shown that 4.5% of mineral matrix mass are in constant interchange with body fluids. It corresponds to the degree of fluctuations of osseous tissue mineral density (in the direction of increase or decrease) both locally and in the skeleton on the whole during the period of time amounting to about one week. This fact should be taken into consideration while evaluating the effect of drug therapy in patients with osteoporosis.

Laboratory of Isotope Research, R.R.Vreden Russian Scientific Research Center of Traumatology and Orthopaedy St.Petersburg,