

УДК 616.71—001.5

А. В. ГРИГОРЯН, П. И. ТОЛСТЫХ, В. К. ГОСТИЩЕВА

## ВЛИЯНИЕ ТРИПСИНА И ТРАЗИЛОЛА НА МИНЕРАЛЬНЫЙ СОСТАВ КОСТНОЙ МОЗОЛИ В РАЗНЫЕ СРОКИ КОНСОЛИДАЦИИ ПЕРЕЛОМОВ

Изучена в разные сроки консолидация костной мозоли с помощью нейтронно-активационного анализа. Эксперименты показали, что под влиянием трипсина наблюдается более активное накопление в костном регенерате кальция, марганца и брома, что является показателем активной минерализации костной мозоли.

Минерализация костной мозоли—это процесс образования центров кристаллизации, представляющих собой конечные продукты клеточной активности [1]. Поскольку клеточная активность зависит от многих факторов, и прежде всего от активности протеаз [2], мы предположили, что последние, в том числе и их ингибиторы, должны оказывать определенное влияние на минеральный состав костной мозоли в различные сроки консолидации переломов. В литературе этот вопрос до настоящего времени не обсуждался.

### Материал и методы исследования

Минеральной состав костной мозоли был изучен с помощью нейтронно-активационного анализа. Объектом исследования служили образцы костной мозоли, взятые на 14- и 28-е сутки после операции остеотомии малоберцовой кости у 46 кроликов-самцов весом 2,5—3,5 кг. Исследования вели на двух основных группах кроликов по 18 животных в каждой, кроме того, 10 кроликов, не получавших лекарственных препаратов, составили контрольную группу. Во всех группах остеотомия левой малоберцовой кости проводилась в стандартных условиях под местной анестезией.

Животным первой группы, начиная со дня операции и в течение последующих четырех суток, производились внутримышечные инъекции трипсина из расчета 0,07 мг на 1 кг веса. Животные второй группы получали в эти же сроки тразилол по 3500 КИЕ на 1 кг веса.

Кусочки костного регенерата взвешивались и упаковывались в специальные полиэтиленовые пакеты, которые затем облучали на реакторе тепловыми нейтронами при потоке последних  $2 \cdot 10^{12}$  Н/см<sup>2</sup>/сек. Идентификация излучения ядерной реакции, специфичной для каждого элемента, определяемого в костном регенерате ( $\text{Br}^{80}$ ,  $\text{Mn}^{56}$ ,  $\text{Na}^{24}$ ,  $\text{K}^{42}$ ,  $\text{Cl}^{38}$ ,  $\text{Ca}^{40}$ ), и измерение гамма-спектров производились многоканальным амплитуд-

ным анализатором импульсов (АИ-1024) с энергетическим разрешением 10 кэВ. Площадь фотонинов находили по методу Cowell [3].

В результате исследований с помощью НАА было найдено, что в одном грамме сырой неповрежденной кости, взятой из мест, соответствующих проекции предполагаемого перелома, содержалось 430 мкг/г ( $430 \pm 39,3$ ) кальция. На 14-е сутки количество его увеличилось до 595,5 мкг/г ( $595,5 \pm 97,6$ ), к 28-му дню уровень кальция уменьшился до 239,3 мкг/г ( $239,3 \pm 6,5$ ). У кроликов, леченных трипсином, на 14-й день после операции по сравнению с контрольной группой количество кальция увеличилось на 20,7 мкг/г ( $450,7 \pm 50,6$ ), на 28-й день — на 17,73 по сравнению с 14-ым днем после операции и на 38,33 мкг/г относительно уровня кальция в неповрежденной кости.

В случае применения тразилола на 14-е сутки количество кальция уменьшалось до  $168,8 \pm 25,9$  мкг/г. У кроликов, не подвергнутых лечению лекарственными веществами, первоначально отмечается незначительное увеличение кальция в костном регенерате, а затем — уменьшение (рис. 1а). Эти колебания статистически достоверны ( $P < 0,001$ ).

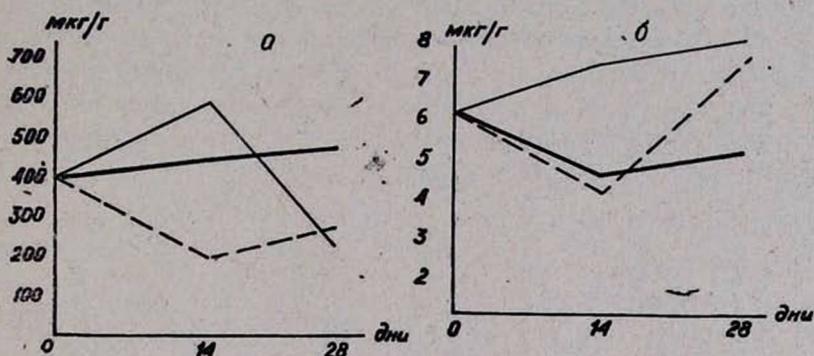


Рис. 1. Содержание кальция (а) и калия (б) в костном регенерате в контрольных и основных группах животных. — контроль, ——— основная группа животных, леченных трипсином, · · · · · основная группа животных, леченных контракалом.

Содержание калия в костной мозоли малоберцовой кости кроликов в различные сроки консолидации при лечении их трипсином и контракалом претерпевает специфические изменения по сравнению с контрольной группой животных. В норме содержание калия в костной ткани равно 6,11 мкг/г ( $6,11 \pm 1,61$ ), на 14-е сутки после операции оно составило 6,43 ( $6,43 \pm 1,4$ ) и на 28-е сутки — 8 мкг/г ( $8 \pm 0,94$ ). Таким образом, в процессе регенерации костной ткани, происходящей в естественных условиях, отмечается увеличение содержания калия в регенерате по сравнению с интактной костью, особенно заметное к 28-му дню после перелома кости. В случае применения трипсина к 14-му дню после перелома наступает снижение содержания калия до 4,65 мкг/г ( $4,65 \pm$

$\pm 0,77$ ), а затем намечается тенденция к увеличению, хотя его уровень остается ниже уровня нормальной кости ( $5,25 \pm 0,648$ ). Сравнивая различные группы по критерию Стьюдента (14- и 28-й дни) в процессе лечения и без лечения, приходится констатировать, что эти различия статистически достоверны ( $P < 0,001$ ). Динамика изменения содержания калия в костной мозоли в процессе лечения трипсином и тризилолом представлена на рис. 16.

Содержание натрия в костной мозоли малоберцовой кости кроликов в различные сроки консолидации при лечении их трипсином и контрикалом претерпевало существенные различия по сравнению с нелеченными животными. Результаты исследований содержания натрия показали, что в неповрежденной кости оно составляет  $3744 \text{ мкг/г}$  ( $3744 \pm \pm 297,8$ ), через 14 дней после перелома у нелеченных животных— $8159,7$  ( $8159,7 \pm 1748$ ), через 28 —  $3062 \text{ мкг/г}$  ( $3062 \pm 181$ ). Под влиянием трипсина содержание натрия в одном грамме сырой кости изменялось, на 14-е сутки оно равнялось  $3753$  ( $3753 \pm 233,8$ ), на 28— $2965,6 \text{ мкг/г}$  ( $2965,6 \pm 352,6$ ). При применении контрикала эти цифры равнялись в те же сроки  $2598,2 \text{ мкг/г}$  ( $2598,2 \pm 279,5$ ). Таким образом, под влиянием трипсина значительных колебаний в содержании натрия не выявлено, как это имело место у контрольных животных, а под действием контрикала уровень натрия снижался во все сроки исследования. Динамика изменения содержания натрия в процессе лечения кроликов трипсином и ингибиторами протеиназ представлена на рис. 2а.

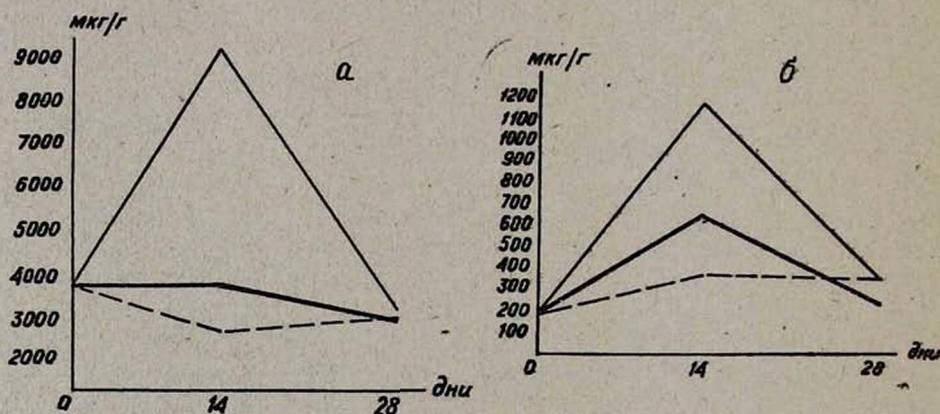


Рис. 2. Содержание натрия (а) и хлора (б) в костном регенерате в контрольных и основных группах животных. — контроль, ——— основная группа животных, леченных трипсином, - - - - - основная группа животных, леченных ингибиторами.

Содержание хлора в костной мозоли малоберцовой кости кролика в различные сроки консолидации при лечении их трипсином и контрикалом характеризовалось следующими изменениями. В интактной малоберцовой кости кролика общее количество хлора составляло  $294 \text{ мкг/г}$

( $294 \pm 50$ ), на 14-е сутки после перелома оно увеличивалось почти в 4 раза, достигая  $1176,2 \pm 405,6$ , и к 28-му дню приближалось к исходной величине ( $355,4 \pm 42,2$ ). В случае применения трипсина увеличение хлора к двум неделям было не таким значительным, как в контрольной группе животных ( $628,4 \pm 53,9$ ), а к 28-му дню несколько меньше, чем в интактной кости (рис. 26).

У кроликов, получавших контрикал, увеличение хлора было менее значительно по сравнению с нормой ( $390,2 \pm 22,3$ ), но зато резко отличалось в первые две недели по сравнению с контрольной группой и группой, леченной трипсином. Эти различия статистически достоверны ( $P < 0,001$ ).

Содержание брома в костной мозоли малоберцовой кости кролика в различные сроки консолидации при лечении трипсином и контрикалом было исследовано в тех же образцах костей и костных мозолей. К 14-му дню после перелома содержание брома в регенерате костной ткани увеличивалось по сравнению с исходным уровнем неповрежденной кости ( $3,9 \pm 0,77$ ) до  $7,79$  мкг/г ( $7,79 \pm 2,48$ ), а на 28-й день уменьшалось до  $1,9$  ( $1,9 \pm 0,44$ ). У кроликов, получавших трипсин, во все сроки отмечалось достоверное увеличение брома ( $P < 0,001$ ), к 14-му дню содержание брома в костном регенерате равнялось  $5,75 \pm 1,03$ , а к 28-му —  $11,56 \pm 1,93$  мкг/г (рис. 3а).

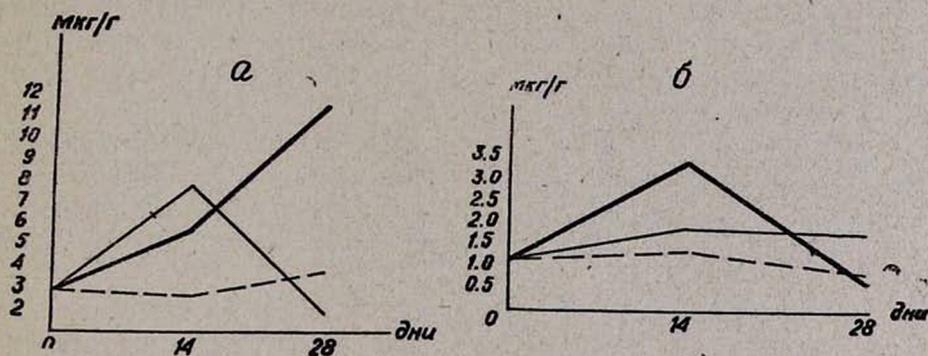


Рис. 3. Содержание брома (а) и марганца (б) в костном регенерате в контрольных и основных группах животных. — контроль, ——— основная группа животных, леченных трипсином, ——— основная группа животных, леченных ингибиторами.

Содержание марганца в интактной малоберцовой кости кролика составляет  $1,1 \pm 0,39$  мкг/г. На 14- и 28-е сутки после перелома отмечено незначительное увеличение марганца (рис. 3б),  $1,85 \pm 0,75$  и  $1,86 \pm 0,51$  соответственно. В случае применения трипсина количество марганца к 14-ым суткам увеличивалось более чем втрое по сравнению с уровнем неповрежденной кости, почти вдвое по сравнению с контрольной группой ( $3,59 \pm 1,05$ ) и больше чем вдвое по сравнению с группой, леченной контрикалом ( $1,47 \pm 0,65$ ) в эти же сроки. На 28-е сутки отмечено снижение содержания марганца в костном регенерате

во всех группах животных, причем наибольшее уменьшение его отмечено у кроликов, леченных трипсином ( $0,69 \pm 0,09$ ).

### Результаты и обсуждение

При анализе данных по изучению содержания кальция, калия, натрия, хлора, марганца, брома, полученных в результате НАА костного регенерата у кроликов, леченных трипсином и тразилолом, и сравнении их с данными контрольной группы выявлено, что к 14-ым суткам после операции в группе кроликов, не получавших с лечебной целью трипсин или его ингибитор — тразилол (заживление перелома в естественных условиях), содержание кальция в кости увеличивалось незначительно, а к 28-ым суткам оно не достигало уровня здоровой кости.

Исследование содержания калия показало, что во все сроки после операции количество его увеличивается, причем в поздние сроки накопление калия в костном регенерате идет более интенсивно. Что касается натрия, то в ранние сроки содержание его увеличивается наиболее интенсивно, а к 28-ым суткам суммарное количество его приближается к нормальным величинам. То же самое наблюдалось в отношении хлора.

Марганец проявляет некоторую тенденцию к увеличению во все сроки после операции, однако различия в его накоплении между 14- и 28-ым днями в костном регенерате не достоверны ( $P > 0,05$ ). Содержание брома значительно увеличивается к 14-ым суткам, затем начинается уменьшение, причем суммарное количество его в 2 раза меньше, чем в интактной кости.

Обращает на себя внимание, что назначение животным трипсина в дозе  $0,07 \text{ мг/кг}$  веса приводило к равномерному увеличению количества кальция в костном регенерате во все сроки после операции, а при лечении их контрикалом наблюдалось снижение уровня указанного элемента.

Содержание калия уменьшалось как после инъекции трипсина, так и после контрикала. В первые две недели после назначения контрикала количество калия уменьшалось почти в два раза по сравнению с нормой, а к 28-му дню несколько превосходило норму. Эти различия статистически достоверны ( $P < 0,001$ ).

Натрий снижался как под влиянием лечения трипсином, так и под воздействием контрикала, причем эти цифры практически не отличались от его содержания в интактной кости. Весьма демонстративно влияние трипсина и контрикала на содержание хлора в костном регенерате. В первые две недели у кроликов, получавших трипсин, отмечалось увеличение хлора более чем в два раза по сравнению с интактной костью, но эти цифры были в три раза меньше, чем в группе нелеченных животных в эти же сроки. В случае лечения контрикалом во все сроки содержание хлора в костном регенерате практически мало чем отличалось от нормы.

Интересные данные получены по содержанию брома и марганца в костном регенерате в процессе лечения кроликов трипсином и контрикалом. Трипсин приводит к значительному накоплению брома во все сроки заживления костной раны, марганец же накапливается только в первые две недели, а к концу 28-ых суток наступает уменьшение его содержания. Контрикал ведет к незначительному увеличению брома лишь к 28-му дню. На содержание марганца в костном регенерате введение тразилола существенного влияния не оказывает.

Таким образом, полученные данные показывают, что под влиянием трипсина наблюдается более активное накопление в костном регенерате кальция, марганца и брома, что свидетельствует об активной минерализации костной мозоли.

Кафедра общей хирургии  
I ММИ им. И. М. Сеченова

Поступила 7/II 1977 г.

Ա. Վ. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ, Պ. Ի. ՏՈՒՍՏԻԽ, Վ. Կ. ԳՈՍՏԻՇԶԵՎԱ

ՏՐԻՊՍԻՆԻ ԵՎ ՏՐԱԶԻԱԼՈՒԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՍԿՐԱՅԻՆ  
ԿՈՇՏՈՒԿԻ ՀԱՆՔԱՅԻՆ ԿԱԶՄԻ ՎՐԱ, ԿՈՏՐՎԱԾՔՆԵՐԻ  
ԿՈՆՍԻԼԻԴԱՑԻԱՅԻ ՏԱՐԲԵՐ ԺԱՄԿԵՏՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ն փ ն լ մ

46 ճագարների վրա կատարված փորձում ուսումնասիրված է ոսկրային կոշտուկի կոնսոլիդացիան տարբեր ժամկետներում նեյտրոնո-ակտիվացնող անալիզի օգնությամբ, որոնց արդյունքները ցույց են տվել, որ տրիպսինի ազդեցությամբ դիտվում է կալցիումի, մարգանցի և բրոմի ավելի ակտիվ կուտակում ոսկրային ռեզերվներում, որը հանդիսանում է ցուցանիշ ոսկրային կոշտուկի ակտիվ հանքայնացման:

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ньюман У. Ф., Ньюман М. Минеральный обмен кости (перевод с английского). М., 1961.
2. Hernander-Richter H. J., Strueck H. Die Wundheilung theoretische und praktische Grundlagen, 1970, Gtv.
3. Covell D. Anal. Chem., 1959, 31, 11, 1785.