

Ферментативная активность PDGF при замедленной консолидации переломов

Д.В. Кузьменко, Г.В. Лобанов, О.П. Шатова

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького
Пр. Ильича, д. 16, Донецк

Реферат

Введение. В травматологии и ортопедии большую популярность приобрели методики, в которых используются факторы роста для улучшения консолидации переломов, а также для лечения воспалительных и дегенеративных заболеваний опорно-двигательного аппарата. Многими исследователями ведется активный поиск вариантов персонализации данной терапии и причин замедленной консолидации.

Цель работы — выявление биохимического критерия замедленной консолидации.

Материал и методы. Объектом наблюдения были пациенты с высокоэнергетическими открытыми переломами костей голени с нормальной (1 группа) и с замедленной (2 группа) консолидацией костных отломков. Изучали ферментативную активность тромбоцитарного фактора роста (PDGF) в сыворотке крови через 7 дней, а также через 1, 3 и 6 мес. после репозиции костных отломков. Использовали спектрофотометрическую методику (Specord-200).

Результаты. У пациентов с нормальной консолидацией костных отломков ферментативная активность PDGF была статистически значимо выше по сравнению с группой, в которой консолидация была замедлена. При этом максимально высокая активность отмечалась на 7-й день, а к 3-му месяцу она становилась ниже.

Заключение. Костная регенерация зависит от ферментативной активности PDGF. Выявлены значимые отличия на различных сроках консолидации. Изучение причин ферментативной недостаточности PDGF и их коррекция имеют большое значение для сокращения сроков консолидации.

Ключевые слова: консолидация перелома, костная регенерация, тимидинфосфорилаза, тромбоцитарный фактор роста, катаболизм нуклеотидов.

DOI: 10.21823/2311-2905-2017-23-4-78-82

PDGF Enzymatic Activity in Patients with Delayed Fracture Consolidation

D.V. Kuzmenko, G.V. Lobanov, O.P. Shatova

Maxim Gorky Donetsk State Medical University
16, Pr. Il'icha, Donetsk

Abstract

Introduction. Techniques that use growth factors to improve bone fragment consolidation and to treat the inflammatory and degenerative diseases of the musculoskeletal system have become very popular. Many researchers are actively searching for personalization of this therapy and the reasons for delayed consolidation.

The purpose of the study – to identify the biomarker for delayed bone consolidation.

Materials and Methods. The study groups consisted of patients with high-energy tibia open fractures with normal (group 1) and with delayed (2nd group) consolidation of bone fragments. The enzymatic activity of platelet-derived growth factor (PDGF) in blood serum was studied after 7 days and in 1, 3 and 6 months after bone fragments reduction. Spectrophotometric technique (Specord-200) was used.

Кузьменко Д.В., Лобанов Г.В., Шатова О.П. Ферментативная активность PDGF при замедленной консолидации переломов. *Травматология и ортопедия России*. 2017;23(4):78-82. DOI: 10.21823/2311-2905-2017-23-4-78-82.

Cite as: Kuzmenko D.V., Lobanov G.V., Shatova O.P. [PDGF Enzymatic Activity in Patients with Delayed Fracture Consolidation]. *Травматология и ортопедия России* [Traumatology and Orthopedics of Russia]. 2017;23(4):78-82. (in Russian). DOI: 10.21823/2311-2905-2017-23-4-78-82.

Шатова Ольга Петровна. Пр. Ильича, д. 16, Донецк / Shatova Olga Petrovna. 16, pr. Il'icha, Donetsk; e-mail: shatova.op@gmail.com

Рукопись поступила/Received: 23.10.2017. Принята в печать/Accepted for publication: 19.09.2017.

Results. In patients with normal consolidation of bone fragments, the enzymatic activity of PDGF was statistically significantly higher in comparison with the group with delayed healing. At the same time, the highest activity was reported on day 7, and by third month it was becoming lower.

Conclusion. Bone healing depends on PDGF enzymatic activity, besides significant differences on various stages of healing were observed. Further study the reasons for the PDGF enzymatic deficiency and its correction are of a great interest for reducing the timing of consolidation.

Keywords: fracture consolidation, bone regeneration, thymidine phosphorylase, platelet-derived growth factor, nucleotides catabolism.

DOI: 10.21823/2311-2905-2017-23-4-78-82

Competing interests: the authors declare that they have no competing interests.

Funding: the authors have no support or funding to report.

Введение

Костная регенерация является сложным, хорошо организованным многоэтапным процессом [1, 2], для интенсификации которого необходима активация ранней фазы ангиогенеза за счет экспрессии тромбоцитарного фактора роста (PDGF) [3]. Было показано, что PDGF совместно с костным морфогенетическим белком 2 (BMP-2) участвуют в формировании сосудистых трубочек, в миграции мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, а также в их дифференцировке в остеобласты. Е.А. Вауер с соавторами рассматривают различные варианты доставки микросферами фактора роста и морфогенетического белка [4]. Следует отметить, что применение PDGF в травматологической практике является перспективным направлением, и в настоящее время в мире идет активный поиск способов доставки, сроков и длительности эффективного применения PDGF для ускорения костной регенерации [3–5]. Недавно корейскими учеными было доказано ускорение регенерации при использовании микросфер с ассиметричными порами в мембранах, которые высвобождали PDGF-BB и BMP-2 [5]. По данным других авторов, проводивших исследование на животных, использование тромбоцитарного и эндотелиального (VEGF) факторов роста сосудов в комбинации с BMP-2 более эффективно для костной регенерации по сравнению с монотерапией BMP-2 [6]. Однако уровень PDGF у людей с замедленной консолидацией переломов изучен недостаточно. Поиск в базе данных PubMed за период с 1990 по 2017 г. (ключевые слова: fracture, consolidation PDGF thymidiphosphorylase activity) не выявил работ, которые бы отражали диагностически значимые уровни PDGF-BB в корреляции с ферментативной активностью данного белка при костной регенерации.

PDGF обладает тимидинфосфорилазной активностью (ТФ) [7]. Данный фермент вовлечен в нуклеотидный обмен и представляет огромный интерес для использования в онкологии [8]. Однако

в последнее время факторы роста и их рецепторы рассматривают не только как мишени для терапии онкобольных, но и в качестве препаратов для ускорения регенерации в хирургической практике [9]. Существует тесная взаимосвязь активности ТФ в сыворотке крови и в тканях онкобольных [10].

Нами сделано предположение о том, что именно ферментативная активность данного фактора роста и определяет скорость регенерации и эффективность проводимого лечения. Поэтому нашей задачей было изучение ферментативной активности PDGF при замедленной консолидации переломов.

Материал и методы

Нами было изучено две группы пациентов: первая группа с нормальной консолидацией костных отломков (20 человек) и вторая группа с замедленной консолидацией (19 человек). О нарушении консолидации судили по данным ультразвукового исследования зоны регенерата: уменьшение кровотока в зоне регенерата на первой стадии, замедление формирования костных балок на второй стадии, отсутствие появления эхопризнаков периостальной мозоли на третьей стадии. Исследуемые группы набирали с 2015 по 2017 г. Наблюдение пациентов вели в течение 6 мес. Пациенты в обеих группах были мужского пола, средний возраст составил 34,2±8,5 года. Забирали по 10 мл периферической венозной крови пациентов в первую неделю после репозиции костных отломков, затем через 1, 3 и 6 мес. Поскольку существует большое количество работ, в которых показана статистически значимая положительная взаимосвязь сывороточного и тканевого уровней ТФ, для изучения нами была выбрана сыворотка крови как более доступный биологический материал и диагностически более значимый, чем соответствующие ткани [11].

Все пациенты имели высокоэнергетические огнестрельные пулевые и осколочные переломы костей голени типов 2А–3Б по А.В. Каплану

и О.Н. Марковой*. Критерием исключения из групп являлось наличие комбинированных и сочетанных травм, острых или хронических сопутствующих заболеваний.

Оценивали уровень PDGF по тимидинфосфо-риазной ферментативной активности сыворотки крови. Активность ТФ оценивали, используя спектрофотометрическую методику (Specord-200). За единицу ферментативной активности принимали увеличение экстинкции тимида при 300 нм на 1 мг белка в течение 30 мин инкубации, условные единицы специфической активности переводили в нмоль/мин на 1 мг белка.

Все исследования проводились после получения информированного согласия пациентов. Отборы проб осуществлялись под непосредственным контролем лечащих врачей.

Статистический анализ результатов проведен с использованием лицензионного пакета прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft). Данные в таблицах и по тексту представлены в виде средних значений (M) и их стандартных отклонений (σ).

Результаты

Анализ полученных данных показал, что активность ТФ статистически значимо отличается между группами ($p \leq 0,001$) (табл. 1).

Примечательно, что уровень активности ТФ значимо отличался как через 7 дней, так и через 6 мес. Можно предположить, что этот показатель влияет на консолидацию независимо от ее срока. При этом изменения активности ТФ в сыворотке крови статистически значимо отличались на 7-й день по сравнению с показателями через 1, 3 и 6 мес. в обеих группах.

Следует отметить, что в литературе есть данные об изменении уровня цитокинов (TGF- α 1, PDGF-AB и IGF-1) в периферической крови больных как с нормальной консолидацией костных отломков, так и с замедленной. Немецкими авторами показано, что при замедленной консолидации уровень PDGF-AB статистически значимо снижается на 1-й и 2-й нед. после репозиции костных отломков, тогда как на более поздних сроках статистически значимой разницы не установлено [3]. Однако при этом не изучалась ТФ активность данного белка в различные сроки костной регенерации.

Мы сравнили уровни снижения PDGF-AB и активности ТФ при нормальной и замедленной консолидации на различных сроках (табл. 2).

На всех изученных сроках консолидации переломов активность ТФ была статистически значимо ниже при замедленной консолидации.

Таблица 1

Срок консолидации перелома	Активность ТФ, нмоль/(мин × мг)	
	Группа с нормальной консолидацией перелома	Группа с замедленной консолидацией перелома
7-й день*	57,7±0,97	49,06±1,02
1 месяц*	52,1±0,68	46,4±0,87
3 месяца**	45,9±1,26	44,2±0,92
6 месяцев*	46,3±0,96	44,6±0,83

* — $p \leq 0,0014$; ** — $p = 0,002$

Таблица 2

Срок консолидации перелома	Активность ТФ, % снижения по сравнению с нормальной консолидацией	Уровень PDGF-AB, % снижения по сравнению с нормальной консолидацией
7-й день	14	17
1 месяц	11	13
3 месяца	2	Нет статистически значимой разницы
6 месяцев	3	Нет статистически значимой разницы

* Каплан А.В., Маркова О.И. Открытые переломы длинных трубчатых костей (не осложненные и осложненные инфекцией). Ташкент, 1975. 194 с.

Обсуждение

Нами впервые было показано увеличение активности ТФ в течение первого месяца при нормальной консолидации костных отломков костей голени. Это объясняется тем, что ускорение нуклеотидного обмена и увеличение анаболизма в целом являются биохимической основой регенерации. В литературе удалось обнаружить только одну работу, авторы которой указывают на то, что ТФ вовлечена в костную регенерацию, но речь в ней шла о регенерации печени у крысы [12]. Однако приблизительно одинаково сниженная активность ТФ при замедленной консолидации на 3-м и 6-м месяцах после репозиции указывает на более низкий конституциональный уровень данного фермента. Сниженная конституциональная и индуцибельная (после острой травмы) активность ТФ, возможно, является причиной замедленной консолидации у данной группы больных.

Известно, что консолидация костных отломков напрямую зависит от скорости ангиогенеза и экспрессии генов проангиогенных факторов [13]. В нашей же работе показано, что костная регенерация зависит от ферментативной активности PDGF, при этом значимые отличия установлены для различных сроков консолидации. Изучение причин ферментативной недостаточности PDGF и их коррекция имеют большой интерес для сокращения сроков консолидации.

Выводы

Сниженная ферментативная активность PDGF в сыворотке крови в первый месяц после репозиции костных отломков является биохимическим критерием замедленной консолидации перелома.

Конфликт интересов: не заявлен.

Источник финансирования: исследование проведено без спонсорской поддержки.

Литература / References

1. Лаврищева Г.И., Оноприенко Г.А. Морфологические и клинические аспекты репаративной регенерации опорных органов и тканей. М. : Медицина, 1996. 208 с.
Lavrishcheva G.I., Onoprienko G.A. Morfoloicheskie i klinicheskie aspekty reparativnoi regeneratsii opornykh organov i tkanei [Morphological and clinical aspects of reparative regeneration of supporting organs and tissues]. Moscow : Medicine, 1996. 208 p.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Кузьменко Дмитрий Владимирович — аспирант кафедры травматологии, ортопедии и хирургии экстремальных состояний Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького, г. Донецк

2. Majidinia M., Sadeghpour A., Yousefi B. The roles of signaling pathways in bone repair and regeneration. *J Cell Physiol.* 2017. DOI: 10.1002/jcp.26042. [Epub ahead of print].
3. Fischer C., Doll J., Tanner M., Bruckner T., Zimmermann G., Helbig L., Biglari B., Schmidmaier G., Moghaddam A. Quantification of TGF-ss1, PDGF and IGF-1 cytokine expression after fracture treatment vs. non-union therapy via masquelet. *Injury.* 2016; 47 (2):342-349. DOI: 10.1016/j.injury.2015.11.007.
4. Bayer E.A., Jordan J., Roy A., Gottardi R., Fedorchak M.V., Kumta P.N., Little S.R. programmed platelet-derived growth factor-BB and bone morphogenetic protein-2 delivery from a hybrid calcium phosphate alginate scaffold. *Tissue Eng Part A.* 2017. [Epub ahead of print]. DOI: 10.1089/ten.TEA.2017.0027.
5. Kim J.H., Oh S.H., Min H.K., Lee J.H. Dual growth factor-immobilized asymmetrically porous membrane for bone-to-tendon interface regeneration on rat patellar tendon avulsion model. *J Biomed Mater Res A.* 2018.106(1):115-125. DOI: 10.1002/jbm.a.36212.
6. Kirby G.T., White L.J., Steck R., Berner A., Bogoevski K., Qutachi O., Jones B., Saifzadeh S., Huttmacher D.W., Shakesheff K.M., Woodruff M.A. Microparticles for sustained growth factor delivery in the regeneration of critically-sized segmental tibial bone defects. *Materials (Basel).* 2016;9(4):E259. DOI: 10.3390/ma9040259.
7. Elamin Y.Y., Rafee S., Osman N., KJ O.B., Gately K. Thymidine Phosphorylase in Cancer; Enemy or Friend? *Cancer Microenviron.* 2016; 9(1):33-43. DOI: 10.1007/s12307-015-0173-y
8. Tabata S., Yamamoto M., Goto H., Hirayama A., Ohishi M., Kuramoto T., Mitsuhashi A., Ikeda R., Haraguchi M., Kawahara K., Shinsato Y., Minami K., Saijo A., Hanibuchi M., Nishioka Y., Sone S., Esumi H., Tomita M., Soga T., Furukawa T., Akiyama SI. Thymidine catabolism as a metabolic strategy for cancer survival. *Cell Rep.* 2017; 19 (7):1313-1321. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.04.061.
9. Li Q., Niu Y., Diao H., Wang L., Chen X., Wang Y., Dong L., Wang C. In situ sequestration of endogenous PDGF-BB with an ECM-mimetic sponge for accelerated wound healing. *Biomaterials.* 2017;148:54-68. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2017.09.028.
10. Miszczak-Zaborska E., Wójcik-Krowiranda K., Kubiak R., Bienkiewicz A., Bartkowiak J. The activity of thymidine phosphorylase as a new ovarian tumor marker. *Gynecol Oncol.* 2004 Jul;94(1):86-92. DOI: 10.1016/j.ygyno.2004.04.011
11. Borzenko B.G., Bakurova E.M., Popovich Yu.A., Sidyuk E.A., Popovich A.Y. Activity of thymidilate «salvage pathway» enzymes in human gastric cancer and blood serum correlation with treatment modalities. *Experimental Oncology.* 2013;35(1): 37-40.
12. Janion C., Shugar D. Thymidine phosphorylase and other enzymes in regenerating rat liver. *Acta Biochim Pol.* 1961; 8:337-344.
13. Li J., Jahr H., Zheng W., Ren P.G. Visualizing angiogenesis by multiphoton microscopy in vivo in genetically modified 3D-PLGA/nHA scaffold for calvarial critical bone defect repair. *J Vis Exp.* 2017;(127). DOI: 10.3791/55381.

INFORMATION ABOUT AUTHORS:

Dmitry V. Kuzmenko — Graduate Student, Traumatology and Orthopedics Department, Maxim Gorky Donetsk National Medical University, Donetsk

Лобанов Григорий Викторович — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и хирургии экстремальных состояний Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького, г. Донецк

Gregory V. Lobanov — Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of Traumatology and Orthopedics Department, Maxim Gorky Donetsk National Medical University, Donetsk

Шатова Ольга Петровна — канд. мед. наук, доцент, заведующая кафедрой биологической химии Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького, г. Донецк

Olga P. Shatova — Cand. Sci. (Med.), Head of Biological Chemistry Department, Maxim Gorky Donetsk National Medical University, Donetsk

XI ВСЕРОССИЙСКИЙ СЪЕЗД ТРАВМАТОЛОГОВ-ОРТОПЕДОВ

С 11 по 13 апреля 2018 г. в Санкт-Петербург пройдет XI Всероссийский съезд травматологов-ортопедов, организованный Ассоциацией травматологов-ортопедов России (АТОР) при поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Всероссийский съезд травматологов-ортопедов традиционно проводится один раз в четыре года и является самым масштабным событием для национального профессионального сообщества.

Идея Всероссийского съезда травматологов-ортопедов — объединение усилий общества и власти для решения приоритетных задач практического здравоохранения, используя передовые достижения медицины.

Основные разделы научной программы

- Хирургия тазобедренного сустава
- Лечение пациентов с переломами костей
- Вопросы спортивной травматологии и артроскопической хирургии
- Хирургия плечевого и локтевого суставов
- Хирургия кисти
- Онкопатология опорно-двигательной системы
- Хирургическая вертебрология
- Технологии регенеративной медицины в травматологии и ортопедии, костно-пластическiereконструкции
- Травматолого-ортопедические аспекты остеопороза
- Травматология и ортопедия детского возраста
- Реабилитация после травмы и заболеваний опорно-двигательной системы
- Организация травматолого-ортопедической помощи и вопросы подготовки кадров
- Новые технологии в травматологии и ортопедии
- Хирургия коленного сустава
- Хирургия стопы и голеностопного сустава

По итогам проведения Всероссийского съезда травматологов-ортопедов всем участникам будет выдано свидетельство координационного совета по НМО с зачетными единицами (кредитами), обеспеченными Ассоциацией травматологов-ортопедов России.

Регистрация для участия в съезде обязательна на сайте: www.atorcongress.ru

Место проведения: Санкт-Петербург, Петербургское ш., 64, «Экспофорум»
+7 495 134 25 65, info@atorcongress.ru

Официальный сервис-агент съезда — Международное Агентство Конгрессного Обслуживания (МАКО)
www.makongress.ru