

УДК 612.017.1 616.71-018.46-002 616.712.1-089.844

ЧУЧВАРЕВ Р.В., ДОНЧЕНКО Л.И., ВДОВИЧЕНКО М.Д., ШАМАРДИНА И.А., СТЕПУРА А.В.

НИИ травматологии и ортопедии Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ IL-1 β И IL-6 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ С ЛОЖНЫМИ СУСТАВАМИ КОСТЕЙ ГОЛЕНИ НА ФОНЕ ТРАВМАТИЧЕСКОГО ОСТЕОМИЕЛИТА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ КОСТНОЙ ПЛАСТИКИ

Резюме. У 45 больных с ложными суставами костей голени на фоне травматического остеомиелита изучены изменения уровня IL-1 β и IL-6, а также содержание креатинина и активность креатинкиназы в сыворотке крови после пластики костных дефектов аутокостью, гидроксиапатитом, обработанным антибиотиком, и комбинированием данных материалов. Установлено, что для данного контингента больных характерна повышенная концентрация в сыворотке крови провоспалительных интерлейкинов и нарушение их межклеточного взаимодействия. Удаление инфицированных тканей и пластика дефектов кости, независимо от имплантируемого материала, обуславливают в период 7–14 суток уменьшение концентрации IL-6 в сравнении с показателями до лечения. Наиболее благоприятные условия для процессов репарации достигаются при замещении дефектов костной ткани сочетанием аутокости и гидроксиапатита, обработанного антибиотиком, так как только в этом случае имеет место восстановление межклеточного взаимодействия данных интерлейкинов.

Ключевые слова: интерлейкины, остеомиелит, костная пластика.

Введение

Проблема лечения ложных суставов костей голени, осложненных травматическим остеомиелитом, предусматривает решение задач, направленных на купирование гнойно-некротического процесса и последующее сращение перелома путем пластики дефектов кости [1]. Золотым стандартом для репаративной регенерации поврежденной кости считается аутокость, однако применение этого метода в условиях воспаления ограничено из-за риска рецидива [2, 3]. Перспективным направлением в решении данного вопроса является использование биоактивных материалов на основе фосфатов кальция, близких по своему составу к костной ткани человека. Согласно данным литературы, оптимальным материалом для выполнения пластики костных дефектов у больных остеомиелитом является гидроксиапатит, обработанный антибиотиком [4, 5]. Но данный материал, обладая антибактериальным эффектом, не всегда обеспечивает активные процессы репаративной регенерации кости. Вследствие этого возникла идея комбинированной пластики дефектов кости, когда имеет место сочетание аутокости и гидроксиапатита. Объективно оценить эффективность того или иного вида пластики дефектов кости можно на основании исследования содержания про- и противовоспалительных интерлейкинов, которые отражают динамику патологического процесса, коррелируют с активностью заболевания и позволяют судить об эффективности проводимого лечения [6]. Целесообразно также исследование состояния мышечной

ткани с точки зрения энергетических процессов. Маркерами метаболизма мышечной ткани являются креатинин и креатинкиназа. Креатинин образуется в мышцах и участвует в их энергетическом обмене. Креатинкиназа регулирует динамическое соотношение концентраций АТФ: АДФ в клетках путем обратимого переноса фосфорильной группы с АТФ на креатинин с образованием макроэргического соединения креатинфосфата [7].

Целью настоящей работы явилось исследование концентрации IL-1 β и IL-6, а также уровня креатинина и активности креатинкиназы в сыворотке крови больных с ложными суставами костей голени, осложненных хроническим остеомиелитом, в раннем послеоперационном периоде после аутопластики, пластики гидроксиапатитом, обработанным антибиотиком, и комбинированной пластики (аутокость + гидроксиапатит).

Методы исследования.

В отделении костно-гнойной инфекции ОТБ г. Донецка у 45 больных при хирургическом лечении хронического травматического остеомиелита проведена пластика костных дефектов с использованием различных материалов. Первую группу составили 16 больных, дефект ко-

© Чучварев Р.В., Донченко Л.И., Вдовиченко М.Д., Шамардина И.А., Степура А.В., 2013

© «Травма», 2013

© Заславский А.Ю., 2013

сти которых был замещен аутокостью. Во вторую группу вошли 14 больных, прооперированных с использованием гидроксиапатита, обработанного антибиотиком. Третью группу составили 15 больных, при оперативном лечении которых была использована комбинированная пластика (аутокость + гидроксиапатит).

Лабораторное обследование больных проводили до оперативного лечения и в период 7 и 14 суток после пластики. Концентрацию интерлейкинов в сыворотке крови больных определяли с помощью иммуноферментного анализатора «Мультискан» с использованием коммерческих наборов ЗАО «Вектор-Бест» в диапазоне концентраций: для IL-1 β — 0–250 пг/мл, IL-6 — 0–300 пг/мл.

С помощью биохимического анализатора Humalyzer Junior в сыворотке крови больных определяли активность креатинкиназы кинетическим методом с использованием креатинфосфата в качестве субстрата и содержание креатинина — по цветной реакции Яффе с пикриновой кислотой.

Статистическую обработку полученных результатов исследования проводили с помощью компьютерной программы Statistica.

Результаты исследования

Установлено, что до оперативного лечения у больных первой группы концентрация IL-1 β в сыворотке крови не имела существенных различий с референтными значениями, что характерно для хронического воспалительного процесса (табл. 1). В отличие от этого содержание IL-6 в сыворотке крови достоверно превышало референтные показатели, вероятно, вследствие противовоспалительного действия данного цитокина. При этом у данной группы больных отсутствовала характерная для нормы корреляционная взаимосвязь между показателями IL-1 β и IL-6, что свидетельствовало о нарушении механизмов межклеточного взаимодействия и обуславливало, по-видимому, неадекватный иммунный ответ на наличие инфекции.

После аутопластики дефекта кости в период 7 и 14 суток существенных изменений в содержании IL-1 β в сыворотке крови не отмечалось. В отличие от этого концентрация IL-6 достоверно уменьшалась в сравнении с показателями до лечения, но была выше референтных значений (табл. 1). Несмотря на снижение уровня IL-6 и выраженности воспалительного процесса, корреляционная связь между показателями IL-1 β и IL-6 не выявлялась, что дает основание полагать, что санация очага инфекции и аутопластика дефекта кости не способствовали восстанов-

лению межклеточных взаимодействий интерлейкинов. В результате нарушалась способность IL-6 ингибировать синтез провоспалительного IL-1 β , что в целом повышало риск развития рецидива инфекции.

Оперативное лечение с использованием метода аутопластики не оказало существенного влияния и на содержание креатинина в сыворотке крови больных. В то же время отмечалось снижение активности креатинкиназы по отношению к референтным значениям в период 14 суток, что можно оценить как результат ограничения двигательной активности пациентов после аутопластики (табл. 1).

Во второй группе больных до оперативного лечения содержание провоспалительного IL-1 β в сыворотке крови имело выраженную тенденцию к увеличению, а концентрация IL-6 была в 3,4 раза выше референтных значений (табл. 2). Повышенные показатели IL-1 β и IL-6 до оперативного лечения можно объяснить более обширным объемом воспалительного процесса в мышечной ткани, что подтверждали и более высокие, чем референтные значения, показатели активности креатинкиназы и креатинина в сыворотке крови больных. Дополнительным подтверждением данного факта явились положительные корреляционные связи между показателями IL-1 β и креатинином ($r = 0,83$) и IL-6 и креатинкиназой ($r = 0,78$).

Пластика дефектов кости с использованием гидроксиапатита, обработанного антибиотиком, обусловила у больных в период 7 суток достоверное уменьшение концентрации IL-1 β и IL-6 в сыворотке крови в сравнении с показателями до лечения (табл. 2). Параллельно выявлялась тенденция к снижению содержания креатинина и активности креатинкиназы в сыворотке крови больных. При корреляционном анализе результатов исследования была установлена положительная взаимосвязь между показателями IL-6 и креатинкиназой ($r = 0,75$). Следовательно, можно полагать, что снижение содержания IL-6 в сыворотке крови больных явилось результатом уменьшения воспалительного процесса в мышечной ткани вследствие санации очага инфекции.

В период 14 суток после пластики с использованием гидроксиапатита, обработанного антибиотиком, у больных возрастала концентрация IL-1 β в сыворотке крови в сравнении с 7-ми сутками. Уровень же IL-6 превышал референтные значения, но существенно не отличался от уровня 7-х суток (табл. 2). Со стороны биохимических показателей следует отметить существенное уменьшение активности креатинкиназы как по отношению к референтным значениям, так и к показателям до лечения, что

Таблица 1. Изменения уровня интерлейкинов и биохимических показателей в сыворотке крови больных остеомиелитом с замещением дефекта костной ткани аутокостью

Показатели	Референтные значения	До лечения	7-е сутки	14-е сутки
IL-1 β , пг/мл	1,62 \pm 0,16	1,44 \pm 0,15	1,32 \pm 0,46	1,71 \pm 0,28
IL-6, пг/мл	2,10 \pm 0,24	4,89 \pm 0,58*	3,24 \pm 0,33**	3,37 \pm 0,31**
Креатинкиназа, Ед/л	65,10 \pm 4,62	53,50 \pm 4,54	57,60 \pm 5,66	45,80 \pm 4,88*
Креатинин, мкмоль/л	80,86 \pm 4,70	92,34 \pm 7,97	94,20 \pm 6,42	87,46 \pm 6,53

Примечания: * — $p < 0,05$ по сравнению с референтным значением; ** — $p < 0,05$ по сравнению с показателями до лечения.

указывает на снижение энергетических процессов в мышечной ткани, возможно, связанное с иммобилизацией больного. Установлена отрицательная корреляционная взаимосвязь между показателями ИЛ-6 и креатинкиназой ($r = -0,77$), которая указывала на противовоспалительное действие интерлейкина.

В третьей группе больных показатели ИЛ-1 β и ИЛ-6 в сыворотке крови до лечения статистически достоверно превышали референтные значения, что было обусловлено большим, чем у больных 1-й и 2-й групп, объемом дефекта кости (табл. 3). Содержание креатинина и активность креатинкиназы в сыворотке крови больных 3-й группы не имели существенных различий с референтными значениями (табл. 3).

На 7-е сутки после комбинированной пластики костных дефектов содержание провоспалительного ИЛ-1 β в сыворотке крови было на уровне показателей до лечения. В отличие от этого концентрация ИЛ-6 в сыворотке крови больных уменьшилась в 3,2 раза в сравнении с показателями до лечения, что можно оценить как существенное уменьшение активности воспалительного процесса вследствие санации очага инфекции.

Следует отметить, что после оперативного лечения у больных к 7-м суткам достоверно уменьшилась активность креатинкиназы в сравнении с референтными показателями. Уровень креатинина был такой же, как и до лечения. При этом имела место отрицательная корреляция между показателями ИЛ-1 β и креатинином ($r = -0,85$).

На 14-е сутки после оперативного лечения содержание интерлейкинов в сыворотке крови больных существенно не отличалось от показателей 7-х суток. Но при этом выявлялась отрицательная корреляционная связь между по-

казателями ИЛ-1 β и ИЛ-6 ($r = -0,91$), что можно оценить как положительный фактор в плане межклеточного взаимодействия.

Активность креатинкиназы и содержание креатинина в сыворотке крови больных к 14-м суткам не имела различий в сравнении с аналогичными показателями 7-х суток (табл. 3). При этом содержание ИЛ-1 β прямо коррелировало с активностью креатинкиназы ($r = 0,78$). Соответственно, между показателями ИЛ-6 и креатинкиназой выявлялась отрицательная корреляционная связь ($r = -0,95$), которая давала основание говорить о противовоспалительном действии интерлейкина.

Таким образом, у больных с ложными суставами костей голени, осложненными хроническим травматическим остеомиелитом, имеет место повышенная концентрация в сыворотке крови провоспалительных интерлейкинов. Установлен факт нарушения межклеточного взаимодействия данных интерлейкинов, подтвержденный результатами корреляционного анализа. Удаление инфицированных тканей и пластика дефектов кости, независимо от имплантируемого материала, обуславливает в период 7–14 суток уменьшение концентрации ИЛ-6 в сравнении с показателями до лечения. В отличие от этого изменения ИЛ-1 β после оперативного лечения зависели от вида пластического материала. Так, использование аутокости и гидроксиапатита, обработанного антибиотиком, в качестве пластического материала обуславливало у больных к 14-м суткам тенденцию к повышению содержания провоспалительного ИЛ-1 β в сыворотке крови, что можно рассматривать как риск-фактор развития воспалительного процесса и возможности рецидива или замедленного сращения. Напротив, комбинированная пластика

Таблица 2. Изменения уровня интерлейкинов и биохимических показателей в сыворотке крови больных остеомиелитом с замещением дефекта костной ткани гидроксиапатитом, обработанным антибиотиком

Показатели	Референтные значения	До лечения	7-е сутки	14-е сутки
ИЛ-1 β , пг/мл	1,62 \pm 0,16	2,05 \pm 0,18	1,37 \pm 0,17*	1,91 \pm 0,147
ИЛ-6, пг/мл	2,10 \pm 0,24	7,06 \pm 1,10*	3,25 \pm 0,36**	3,73 \pm 1,93**
Креатинкиназа, Ед/л	65,1 \pm 4,6	92,20 \pm 7,53*	78,40 \pm 5,68	45,40 \pm 5,77**7
Креатинин, мкмоль/л	80,86 \pm 4,70	103,20 \pm 9,42*	83,52 \pm 6,89	94,78 \pm 7,80

Примечания: * — $p < 0,05$ по сравнению с референтным значением; * — $p < 0,05$ по сравнению с показателями до лечения; 7 — $p < 0,05$ по сравнению с показателями 7-х суток после лечения.

Таблица 3. Изменения уровня интерлейкинов и биохимических показателей в сыворотке крови больных остеомиелитом с комбинированной пластикой дефектов кости

Показатели	Референтные значения	До лечения	7-е сутки	14-е сутки
ИЛ-1 β , пг/мл	1,62 \pm 0,16	2,64 \pm 0,27*	2,70 \pm 0,26*	2,25 \pm 0,21
ИЛ-6, пг/мл	2,10 \pm 0,24	22,90 \pm 4,43*	7,24 \pm 1,10**	9,35 \pm 1,56**
Креатинкиназа, Ед/л	65,1 \pm 4,6	54,17 \pm 5,19	43,83 \pm 3,66*	46,60 \pm 5,63*
Креатинин, мкмоль/л	80,86 \pm 4,70	86,10 \pm 1,60	87,43 \pm 2,65	87,80 \pm 2,86

Примечания: * — $p < 0,05$ по сравнению с референтным значением; * — $p < 0,05$ по сравнению с показателями до лечения.

костних дефектов обуславливала к 14-м суткам снижение уровня в сыворотке крови больных IL-1 β и восстановление межклеточного взаимодействия между IL-1 β и IL-6, что создавало благоприятные условия для процессов репарации.

Выводы

1. Для больных с ложными суставами костей голени, осложненными хроническим остеомиелитом, характерны повышенные концентрации в сыворотке крови провоспалительных интерлейкинов IL-1 β и IL-6 и нарушение их межклеточного взаимодействия.

2. Удаление инфицированных тканей и пластика дефектов кости, независимо от материала, обуславливают в период 7–14 суток уменьшение концентрации IL-6 и активности креатинкиназы в сыворотке крови больных в сравнении с показателями до лечения, что является результатом уменьшения выраженности воспалительного процесса.

3. Установлено, что только в группе больных с комбинированной пластикой костных дефектов имеет место восстановление нарушенных патологическим процессом межклеточных взаимодействий интерлейкинов, что обуславливает эффективную противoinфекционную защиту в раннем послеоперационном периоде. Данный факт позволяет объяснить лучшие в сравнении с пластикой аутокостью и гидроксипатитом клинические результаты лечения больных с ложными суставами костей голени на фоне травматического остеомиелита.

Список литературы

1. Амирасланов Ю.А., Светухин А.М., Митиш В.А. Основные принципы лечения больных с хроническим остеомиелитом длинных костей // *Вестник хирургии*. — 2000. — № 2. — С. 91-97.

2. Голубев В.Г. Свободная пересадка костных аутоотрансплантатов на сосудистой ножке при дефектах трубчатых костей: Автореф. дис... д-ра мед. наук. — М., 1986. — 39 с.
3. Прокочук В.Ф. Костная и костно-мышечная аутопластика при лечении больных хроническим остеомиелитом // *Травматология и ортопедия России*. — 1999. — № 1. — С. 4-7.
4. Кесян Г.А., Берченко Г.Н., Уразильдеев Р.З., Арсеньев И.Г., Микелаишвили Д.С., Карапетян Г.С., Шайкевич А.В. Применение отечественного препарата «Коллапан» в комплексном лечении переломов и ложных суставов длинных трубчатых костей // *Биоматериалы*. — 2008. — № 9. — С. 8-9.
5. Левченко С.Ф., Лукашев О.В., Оганов А.И., Колос П.Г. Применение препарата «Коллапан» в гнойной хирургии при остеомиелите длинных трубчатых костей // *Биоматериалы*. — 2008. — № 9. — С. 11-12.
6. Зайцева Г.А., Вершинина О.А., Матрохина О.И., Сенькина Е.А., Карпова М.В. Цитокиновый статус доноров крови и ее компонентов // *Фундаментальные исследования*. — 2013. — № 1. — С. 61-65.
7. Клиническая биохимия / Под ред. М.А. Базарнова, В.Т. Морозова. — 1990. — 319 с.
8. Инструкция по применению набора реагентов для иммуноферментного определения концентрации человеческого интерлейкина-1 бета / ЗАО «Вектор-Бест». — Новосибирск, 15.10.08. — 23 с.
9. Инструкция по применению набора реагентов для количественного определения человеческого интерлейкина-6 (ИЛ-6) в биологических жидкостях человека и культуральных средах / ЗАО «Вектор-Бест». — Новосибирск, 20.05.08. — 23 с.

Получено 17.06.13 □

Чучварьов Р.В., Донченко Л.І., Вдовиченко М.Д., Шамардіна І.А., Степура А.В.

НДІ травматології та ортопедії Донецького національного медичного університету ім. М. Горького

ЗМІНИ ВМІСТУ IL-1 β ТА IL-6 У СИРОВАТЦІ КРОВІ ХВОРИХ З ХИБНИМИ СУГЛОБАМИ КІСТОК ГОМІЛКИ НА ФОНІ ТРАВМАТИЧНОГО ОСТЕОМІЄЛИТУ З РІЗНИМИ ВИДАМИ КІСТКОВОЇ ПЛАСТИКИ

Резюме. У 45 хворих із хибними суглобами кісток гомілки на фоні травматичного остеомиєліту вивчено зміни рівня IL-1 β та IL-6, а також вміст креатиніну і активність креатинкінази у сироватці крові після пластики кісткових дефектів аутокосткою, гідроксипатитом, обробленим антибіотиком, та комбінуванням даних матеріалів. Встановлено, що для даного контингенту хворих характерна підвищена концентрація у сироватці крові прозапальних інтерлейкінів і порушення їх міжклітинної взаємодії. Видалення інфікованих тканин та пластика дефектів кістки, незалежно від матеріалу, що імплантується, обумовлює у період 7–14 діб зменшення концентрації IL-6 у порівнянні з показниками до лікування. Найбільш сприятливі умови для процесів репарації досягаються при заміщенні дефектів кісткової тканини сполученням аутокістки і гідроксипатиту, обробленого антибіотиком, тому що тільки у цьому випадку має місце відновлення міжклітинної взаємодії даних інтерлейкінів.

Ключові слова: інтерлейкіни, остеомиєліт, кісткова пластика.

Chuchvaryov R.V., Donchenko L.I., Vdovichenko M.D., Shamardina I.A., Stepura A.V.

Research Institute of Traumatology and Orthopedics of Donetsk National Medical University named after M. Gorky, Donetsk, Ukraine

CHANGES OF IL-1 β AND IL-6 CONTENT IN BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH FALSE JOINTS OF SHIN BONES AGAINST TRAUMATIC OSTEOMYELITIS IN DIFFERENT TYPES OF OSTEOPLASTY

Summary. In 45 patients with false joints of shin bones against traumatic osteomyelitis we have studied changes in levels of IL-1 and IL-6 level, as well as the content of creatinine and activity of creatine kinase in blood serum after autogenous bone grafting, hydroxyapatite processed by an antibiotic and combination of these materials. It is found that these patients are characterized by increased concentration of pro-inflammatory interleukins in blood serum and violation of their cell-cell interaction. Removal of the infected tissues and plasty of bone, regardless of an implanted material, causes within 7–14 days reduction of IL-6 concentration in comparison with indicators before treatment. The most favorable conditions for the repair processes are achieved by replacing of bone defects by combination of autogenous bone graft and hydroxyapatite processed by antibiotic, since only in this case there is a restoration of cell-cell interaction of these interleukins.

Key words: interleukins, osteomyelitis, osteoplasty.