

© Д.А. Попков, 2004

**Показатели метаболизма коллагена
при оперативном лечении врожденных укорочений
нижних конечностей у детей и подростков**

Д.А. Попков

***The indices of collagen metabolism in surgical treatment
of the congenital shortenings of the lower limbs in children
and adolescents***

D.A. Popkov

Государственное учреждение

Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова, г. Курган
(генеральный директор — заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАМН, д.м.н., профессор В.И. Шевцов)

У 28 пациентов с врожденным укорочением нижних конечностей исследовали содержание в крови фракций гидроксипролина в процессе удлинения конечностей по методу Илизарова. Полученные данные указывают, что при дистракционном остеосинтезе происходит как биосинтез коллагена, так и его распад. Максимальное содержание пептидного и свободного гидроксипролина определяется к концу периода дистракции, а затем уменьшается. Тем не менее активный фибриллогенез продолжается, на что указывает дальнейший рост соотношения фракций пептидного и свободного гидроксипролина.

Ключевые слова: дистракционный остеосинтез, фракции гидроксипролина.

The content of blood hydroxyproline fractions were studied in 28 patients with congenital shortening of the lower limbs during limb lengthening by the Ilizarov technique. The data obtained demonstrated the occurrence of both biosynthesis of collagen and its lysis in the process of distraction osteosynthesis. Maximal content of peptide and free hydroxyproline was determined by the end of distraction period and decreased subsequently. Nevertheless active fibrillogenesis continued that was shown by further growth of the ratio of the fractions of peptide and free hydroxyproline.

Keywords: distraction osteosynthesis, hydroxyproline fractions.

Содержание коллагена в организме млекопитающих составляет 20-25% от общего количества белков [7]. В работах отечественных и зарубежных ученых было показано, что ряд заболеваний опорно-двигательного аппарата сопровождается нарушениями в метаболизме коллагена [1, 10, 11, 13]. Известно, что специфическим маркером коллагена является аминокислота гидроксипролин [9, 11]. Исследование содержания в крови гидроксипролина и его фракций: свободного, пептидного и белковосвязанного — доступный способ оценки состояния обмена коллагена [11, 16].

У детей в возрасте 6-12 лет при ахондроплазии и врожденном укорочении голени выявлено ускоренное созревание коллагена костной ткани

при нормальном уровне неколлагеновых белков [6]. При удлинении голени у больных ахондроплазией отмечено максимальное выделение с мочой метаболитов коллагена к 6-7-ому месяцу после начала лечения, когда исследователями отмечается усиление процессов образования органического матрикса костной ткани и его минерализации [5].

Отсутствие данных о динамике показателей обмена коллагена в крови при удлинении конечностей у детей и подростков побудило нас провести исследование содержания пептидного и свободного гидроксипролина, а также их соотношения в процессе оперативного лечения врожденных укорочений нижних конечностей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили у 28 пациентов с врожденным укорочением нижних конечностей в возрасте от 6 до 16 лет (в среднем 12,2±0,65 лет). Пациентам осуществлялся дистракцион-

ный остеосинтез аппаратом Илизарова. В 11 случаях удлиняли бедро, у 14 пациентов — голень, у остальных больных (три человека) был выполнен бисегментарный дистракционный

остеосинтез. Величина удлинения колебалась от 3 до 7,5 см, длительность остеосинтеза аппаратом Илизарова не превышала 5 месяцев.

Кровь забирали утром натощак из локтевой вены. При этом были соблюдены условия, необходимые при исследовании содержания гидроксипролина [1]. Использовали фотометрический метод определения гидроксипролина и его форм, основанный на его окислении в слабощелочной среде и выявлении окисленного продукта по цветной реакции с п-диметиламинобензальдегидом (реактивом Эрлиха) [18].

Все биохимические исследования выполнены старшим научным сотрудником Л.С. Кузнецовой. Исследования проводили до операции, на 30 и 45 день distraction, 10-14, 30 и 45-60 день фиксации, в первые 2-3 дня после снятия аппарата внешней фиксации.

Все результаты в таблице представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое выборки, m – ошибка среднего, достоверность различий оценивалась с помощью критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Изменения содержания фракций свободного и пептидного гидроксипролина в крови в процессе удлинения конечностей носят односторонний характер, что отражено в таблице 1. В процессе distraction происходит постепенное увеличение их содержания в крови. Максимальные значения свободного и пептидного гидроксипролина определялись к концу периода distraction (45-50-ый день) у всех пациентов, когда они достигали $23,0 \pm 2,36$ мкмоль/л и $13,2 \pm 0,99$ мкмоль/л соответственно.

В последующем, в период фиксации, наблюдалось постепенное снижение содержания в крови обеих фракций гидроксипролина. Так, к 10-14 дню после окончания удлинения содержание свободного гидроксипролина составляло $19,1 \pm 2,19$ мкмоль/л, пептидного – $11,8 \pm 2,58$ мкмоль/л. А через месяц после прекращения distraction – $17,2 \pm 1,28$ мкмоль/л и $8,5 \pm 0,87$ мкмоль/л соответственно. К 45-60 дню периода фиксации содержание гидроксипролина определяли лишь у пациентов с удлинением 6 см и более, так как у прочих аппарат к данному сроку был уже снят. На 2-3-ий день после демонтажа внешнего фиксатора отмечается незначительное увеличение содержания как свободного, так и пептидного гидроксипролина.

Динамика соотношения пептидного и свободного гидроксипролина крови представлена

на рисунке 1. Здесь максимальные значения этого показателя отмечаются в конце distraction ($0,58 \pm 0,04$) и начале периода фиксации ($0,6 \pm 0,01$), когда имеются достоверные различия по сравнению с дооперационными значениями ($p < 0,05$). В дальнейшем происходит постепенное снижение соотношения.

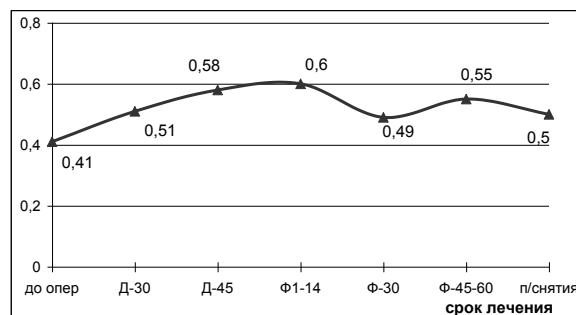


Рис. 1. Динамика соотношения пептидного и свободного гидроксипролина в крови при удлинении нижних конечностей

Что касается белковосвязанного гидроксипролина (таблица 1), то его максимальное содержание в крови на 30-ый день периода distraction ($74,6 \pm 4,7$ мкмоль/л) сменяется последующим постепенным снижением до исходных цифр к концу фиксации.

Таблица 1

Содержание свободного, пептидного и белкового гидроксипролина в крови при удлинении нижних конечностей; мкмоль/л ($M \pm m$)

Фракции гидроксипролина	Сроки исследования						
	до операции (n=28)	Д 30* (n=25)	Д 45-50* (n=13)	Ф 10-14** (n=23)	Ф 30** (n=20)	Ф 45-60** (n=12)	после снятия (n=19)
свободный	$21,2 \pm 5,14$	$21,7 \pm 2,64$	$23,0 \pm 2,36$	$19,1 \pm 2,19$	$17,2 \pm 1,28^3$	$17,9 \pm 1,69$	$20,4 \pm 2,27$
пептидный	$8,2 \pm 1,66$	$10,8 \pm 1,11$	$13,2 \pm 0,99^{1,2}$	$11,8 \pm 2,58$	$8,5 \pm 0,87^3$	$10,0 \pm 2,03$	$9,9 \pm 0,81^3$
белково-связанный	$57,7 \pm 4,71$	$74,6 \pm 2,71^1$	$70,2 \pm 2,11^1$	$67,6 \pm 4,19^1$	$57,2 \pm 3,59^3$	$63,5 \pm 5,37$	$57,3 \pm 3,92^3$

Примечание: * – дни периода distraction, ** – дни периода фиксации, 1 – достоверные различия по сравнению с дооперационным уровнем, 2 – достоверные различия по сравнению с предыдущим сроком исследования, 3 – достоверные различия по сравнению с концом периода distraction.

ОБСУЖДЕНИЕ

Гидроксипролин – аминокислота, содержащаяся только в коллагене (13-14%), что и придает определению ее содержания в биологических жидкостях важное диагностическое значение при различных заболеваниях опорно-двигательного аппарата. Известно, что рост свободного гидроксипролина в крови или моче отражает ускорение распада коллагена, в то время как нормальное его содержание свидетельствует об отсутствии нарушений в терминальной стадии распада коллагена [11]. Пептидный коллаген крови и мочи на 65% представлен продуктами неполного распада нерастворимого коллагена, т.е. коллагена уже сформированных коллагеновых волокон, а на 35% – из вновь синтезированного коллагена, еще растворимого, еще не входившего в состав сформированных коллагеновых волокон [7, 11]. Резкое увеличение соотношения пептидного и свободного гидроксипролина расценивается как результат активизации фибриллогенеза в соединительной ткани [9, 11]. Белковосвязанный гидроксипролин крови на 80-90% представлен коллагеноподобным белком – компонентом С1 классического пути системы комплемента [11].

Исследование суточной экскреции общего гидроксипролина, 90% которого имеет костное происхождение, у детей и подростков позволяет выявить нарушения в метаболизме коллагена, а в ряде случаев помочь в дифференциальной диагностике при заболеваниях костной ткани. Известно, что 90% костного гидроксипролина образуются в результате разрушения, а 10% – в результате созидания кости, так что этот показатель представляет собой лишь меру разрушения кости остеокластами [12, 13]. Определение экскреции фракций гидроксипролина имеет большее диагностическое значение, т.к. их сопоставление позволяет судить в некоторой степени о распаде и скорости биосинтеза коллагена [11].

При удлинении конечностей происходит активное образование коллагеновых волокон как в зоне дистракционного регенерата, так и в мягких тканях удлиняемой конечности [3, 4]. Однако исследование продуктов метаболизма коллагена были выполнены лишь у больных с врожденным укорочением голени и ахондроплазией. На основании лишь определения экскреции общего гидроксипролина в моче авторы пришли к выводу, что у детей в возрасте 6-12 лет при ахондроплазии и врожденном укорочении голени созревание коллагена костной ткани ускорено при нормальном уровне неколлагеновых белков [5]. При удлинении голени у больных ахондроплазией отмечено максимальное выделение с мочой метаболитов коллагена к 6-7-ому месяцу после оперативного вмешательства, ко-

гда исследователями было отмечено усиление процессов новообразования коллагена и его минерализации [6].

Полученные нами данные о содержании фракций гидроксипролина в крови при оперативном удлинении врожденно укороченных нижних конечностей у 28 детей и подростков позволили показать, что период дистракции сопровождается как активным биосинтезом коллагена, так и его распадом. Происходит синхронное увеличение содержания и свободного, и пептидного гидроксипролина. Максимальных значений эти показатели достигают к 45-50-ому дню дистракции, т.е. к окончанию данного периода лечения. Также в это время продолжает расти соотношение пептидного и свободного гидроксипролина. С началом периода фиксации снижение содержания фракций гидроксипролина не сопровождается снижением их соотношения, наоборот, продолжается дальнейшая активизация фибриллогенеза в соединительной ткани в течение первых дней периода фиксации. На наш взгляд, этот факт отражает продолжающуюся регенерацию, происходящую под влиянием напряжения растяжения [2]. Известно, что спад дистракционных усилий на 50% происходит на протяжении именно двух недель после окончания дистракции, в последующем отмечается более медленное снижение дистракционных усилий [8].

Через месяц периода фиксации происходит снижение активности фибриллогенеза, а также значительно замедляется распад коллагена. В данное время, как известно, происходит активная минерализация на протяжении всего дистракционного регенерата. Содержание гидроксипролина на 45-60-ый день фиксации отражает процессы созревания дистракционного регенерата и изменения в мягких тканях оперированной конечности у пациентов с удлинением 6 см и более, т.к. у прочих аппарат к данному сроку был уже снят. На 2-3-ий день после демонтажа внешнего фиксатора отмечается незначительное увеличение содержания как свободного, так и пептидного гидроксипролина, что, по-видимому, отражает процесс заживления ран после удаления спиц аппарата внешней фиксации.

Таким образом, полученные данные о содержании гидроксипролина в крови можно интерпретировать следующим образом. В процессе удлинения конечностей существует фаза активного фибриллогенеза в соединительной ткани. Продолжительность ее определяется действием напряжения растяжения. После исчезновения дистракционных усилий созревание дистракционного регенерата и изменения в мягких тканях удлиненной конечности сопровождаются

постепенным снижением коллагенообразования. Определение фракций гидроксипролина и их соотношения отражает состояние фибриллогенеза

в процессе удлинения врожденно укороченных нижних конечностей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балаба, Т.Я. Метаболизм коллагена у детей и подростков при заболеваниях костной системы / Т.Я. Балаба, Л.Н. Фурцева, Н.Н. Нефедьева // Ортопед. травматол. – 1977. - №7. – С.9-15.
2. Илизаров, Г.А. Некоторые теоретические и клинические аспекты чрескостного остеосинтеза с позицией открытых нами общебиологических закономерностей / Г.А. Илизаров // Экспериментально-теоретические и клинические аспекты чрескостного остеосинтеза, разрабатываемые в КНИИЭКОТ: Тез. докл. междунар. конф. - Курган, 1986. - С. 7-12.
3. Илизаров, Г.А. Ультраструктурные проявления формогенного эффекта напряжения растяжения в фасциях скелетных мышц при удлинении по Илизарову / Г.А. Илизаров, С.Н. Асонова // Гений ортопедии. – 1995. - №2. – С.30-37.
4. Илизаров, Г.А. Морфофункциональные особенности остеогенных клеток дистракционного регенерата / Г.А. Илизаров, Ю.М. Ирьянов, Н.В. Петровская // Значение открытых Г.А. Илизаровым общебиологических закономерностей в регенерации тканей: Сб. науч. тр. – Курган, 1988. – Вып.13. – С. 3-11.
5. Лепехова, Н.П. Отклонение в биохимическом статусе у больных детей в возрасте 6-12 лет при ахондроплазии и врожденном укорочении голени / Н.П. Лепехова // Актуальные проблемы чрескостного остеосинтеза по Илизарову: Сб. науч. тр. – Курган, 1987. – Вып.12. – С.88-92.
6. Динамика показателей метаболизма основного вещества костной ткани у детей в возрасте 6-12 лет, больных ахондроплазией, в процессе первого этапа лечения по Илизарову / Н.П. Лепехова, В.И. Грачева, С.В. Макаров, К.И. Новиков // Значение открытых Г.А. Илизаровым общебиологических закономерностей в регенерации тканей: Сб. науч.тр. – Курган, 1988. – Вып.13. – С. 168-173.
7. Мазуров, В.И. Биохимия коллагеновых белков / В.И. Мазуров. - М.: Медицина, 1974. – 248 с.
8. Попков, А.В. Дистракционные усилия при удлинении нижних конечностей / А.В.Попков // Ортопед. травматол. - 1990. - №10. - С. 69-73.
9. Саломатин, В.В. Роль $\alpha 1$ -кислого гликопротеина в патогенезе термических поражений и перспективы его лечебного применения: Автореф. дис... д-ра мед. наук / Саломатин В.В. – Челябинск, 1993. – 40 с.
10. Франке, Ю. Остеопороз / Пер. с нем. / Ю. Франке, Г. Рунге. – М.: Медицина, 1995. – 304с.
11. Диагностическое значение анализа показателей обмена коллагена / П.Н. Шараев, Н.С.Стрелков, Ж.В. Афсари, И.А. Зворыгин // Клини. лаб. диагностика. – 1997. - №6. – С. 48.
12. Burtis, W.J. Chemical abnormalities / W.J. Burtis, R. Lang // Orthop. Clin. North Amer. – 1984. – N 4. – P. 653-669.
13. Dambacher, M.A. Praktische Osteologie / M.A. Dambacher. – Stuttgart; New York: Thieme, 1982.
14. Firschein, H.E. Collagen turnover in calcified tissue / H.E. Firschein // Arch. Biochem. Biophys. – 1967. Vol. 119, N 1. – P. 119.
15. Harkness, R.D. Biological functions of collagen / R.D. Harkness // Biol. Rev. of the Cambridge Phil. Soc. – 1961. – Vol. 36. – P. 399.
16. Kibrick, A.C. Hydroxyproline in human blood: forms in which it is present / A.C. Kibrick // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 1965. – Vol. 119. – P. 622.
17. Kivirikko, K.J. Excretion of urinary hydroxyproline peptides in the assessment of bone collagen deposition and resorption / K.J. Kivirikko // Clinical disorders of bone and mineral metabolism. – Amsterdam; Oxford; Princeton: Excerpta Medica, 1983. – P. 105-107.
18. Prockop, O.Y. Hydroxyproline and metabolism of collagen / O.Y. Prockop, K.J. Kivirikko // Treatise collagen. - New York, 1968. – P. 215-246.

Рукопись поступила 08.12.03.