

ИЗМЕНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ЗАКРЫТЫМИ ПЕРЕЛОМАМИ КОСТЕЙ ГОЛЕНИ В НИЖНЕЙ ТРЕТИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПО МЕТОДУ ИЛИЗАРОВА

С.Н. Лунева, М.В. Стогов, С.А. Столбиков*

ФГУ «РНЦ «Восстановительная травматология и ортопедия»
им. акад. Г.А. Илизарова Росмедтехнологий»,
генеральный директор – з.д.н. РФ,
чл.-кор. РАМН, д.м.н. профессор В.И. Шевцов
г. Курган
*Городская больница № 36 (травматологическая)
г. Екатеринбург

Любое внешнее воздействие, в том числе и скелетная травма, вызывает изменения во внутренней среде организма, связанные с адаптационной перестройкой обменных процессов, позволяющих ему существовать в новых условиях [2]. При всем разнообразии различных по силе и качеству раздражителей в организме в ответ на травматическое воздействие происходят общие неспецифические и специфические изменения всех звеньев метаболизма, регулируемые местными и системными факторами и сопровождаемые колебанием концентрации субстратов обмена в сыворотке крови [4, 7]. Поэтому посттравматические изменения, на наш взгляд, складываются из неспецифических (системных) и специфических ответных реакций. Первые развиваются на уровне целостного организма независимо от локализации и тяжести перелома и находятся под действием системных факторов (таких как гормоны); вторые происходят под влиянием местных факторов (ауто- и паракринная регуляция) и связаны с активацией репаративных процессов тканей зоны перелома.

Цель настоящей работы – анализ изменений биохимических показателей сыворотки крови у пациентов в процессе лечения закрытых переломов костей в нижней трети голени по методу Г.А. Илизарова.

Мы исследовали сыворотку крови и суточную мочу 24 пациентов с закрытыми переломами костей голени в нижней трети в возрасте 18 – 51 лет (средний возраст – 33,6) в процессе лечения методом чрескостного остеосинтеза по Илизарову. Срок между травмой и наложением аппарата Илизарова составлял 1 – 3 суток. Забор крови осуществляли на 3, 14, 30 сутки после наложения аппарата и его снятия в соответствии с Методическими рекомендациями Минздрава (1979) и требованиями инструкций по проведению специальных исследований [5]. Результаты исследования биохимических показателей обследованных пациентов срав-

нивали с показателями сыворотки крови и суточной мочи 19 практически здоровых людей обоего пола от 18 до 42 лет (средний возраст – 32,9), составивших контрольную группу.

Для оценки реакций организма на травму в сыворотке крови определяли активность щелочной (ЩФ) и костной фракций кислой фосфатазы (так называемый тартратрезистентный изофермент [ТрКФ]), концентрацию общего кальция и неорганического фосфата, глюкозуриновых кислот (ГУК), а также уровень суточной экскреции оксипролина, кальция и фосфата. Для выявления информативных показателей оценки состояния скелетных мышц в сыворотке крови определяли активность ферментов: креатинкиназы (КК), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), аланиновой (АлАТ) и аспарагиновой (АсАТ) трансаминаз. Для ЛДГ определяли также изоферментный спектр. Об интенсивности углеводного и липидного обмена судили: по изменению в сыворотке крови концентрации продуктов обмена углеводов: молочной (МК) и пирувиноградной (ПВК) кислот; по изменению содержания субстратов липидного обмена сыворотки крови, таких как общие липиды (ОЛ), общий холестерин (ОХЛ), триглицериды (ТГ); по интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ), оценивая содержание продуктов ПОЛ – малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгатов (ДК), а также активность антиоксидантного фермента – супероксиддисмутазы (СОД).

Активность ферментов ЩФ, ТрКФ, КК, ЛДГ, АлАТ, АсАТ, концентрацию МК, общего кальция, неорганического фосфора, общего холестерина, триглицеридов определяли на биохимическом фотометре Stat Fax® 1904 Plus (США), используя наборы фирмы Vital Diagnostic (Санкт-Петербург). Уровень ПВК сыворотки определяли после депротеинизации по реакции с динитрофенилгидразином, ГУК – по реакции с карбазолом. Активность СОД выявляли модифициро-

ванным методом N. Nishikimi [1]. МДА определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой, ДК – спектрофотометрически в гептановой фазе после их экстракции гептан-изопропанольной смесью при длине волны 232 нм [3]. Концентрацию продуктов ПОЛ пересчитывали на мг общих липидов сыворотки, которые, в свою очередь, определяли с помощью наборов фирмы “LaChema” (Чехия). Содержание оксипролина в моче определяли по реакции с реактивом Эрлиха. Электрофорез ЛДГ проводили на системе Paragon фирмы “Beckman” (США) с использованием реактивов и пластин этой же фирмы.

Для нахождения достоверности различий использовали непараметрический W-критерий Вилкоксона для независимых выборок. Данные в таблицах представлены в виде средней арифметической и ошибки средней арифметической.

Данные, полученные при изучении показателей обмена костной ткани в динамике лечения закрытых переломов голени, представлены в таблицах 1 – 3.

Активность обеих фосфатаз в сыворотке крови пациентов достоверно возросла уже на 3 сутки после операции. При этом значимо увеличилось и их соотношение (ЩФ/ТрКФ), что говорило о большем росте активности ЩФ относительно ТрКФ (табл. 1). В дальнейшем, на 14 сутки после опера-

ции, активность ЩФ продолжала расти более значительно, чем ТрКФ, о чем также свидетельствовало увеличение отношения ЩФ/ТрКФ, достигавшее на этом сроке максимума, и превышавшее норму на 134% ($p<0,01$). К 30 суткам после операции активность ЩФ и отношение ЩФ/ТрКФ незначительно снижались. Тем не менее, на момент снятия аппарата эти показатели также оставались достоверно выше нормы. В свою очередь, уровень ТрКФ к 30 суткам фиксации достоверно от нормы уже не отличался.

Концентрация общего кальция в ходе лечения травматологических больных значимо не изменялась, тогда как уровень фосфата к 14 и 30 суткам фиксации достоверно возрастал (табл. 2).

Динамика изменения экскреции кальция и фосфата с мочой имела обратную тенденцию: уровень кальция в суточной моче пациентов на этапах лечения был выше нормы, а фосфата – ниже (табл. 3). Экскреция оксипролина – конечного продукта обмена основного белка костного матрикса – коллагена, на всех сроках наблюдения была значимо выше, чем у здоровых людей, при этом максимальные значения экскреции обнаруживались также на 14 сутки после наложения аппарата. В этот же срок в сыворотке крови отмечалось достоверное увеличение уровня ГУК, являющихся продуктами деградации межклеточного вещества соединительной ткани (рис. 1).

Таблица 1

Динамика ферментативной активности фосфатаз и их соотношения в сыворотке крови пациентов в ходе лечения закрытых переломов костей голени методом чрескостного остеосинтеза

Сроки	Уровень показателей		
	ЩФ, Е/л	ТрКФ, Е/л	ЩФ/ТрКФ
Норма	49,0±3,2	3,3±0,2	13,6±2,1
3 сутки после операции	96,4±8,9*	4,1±0,2*	23,8±2,5*
14 сутки после операции	140,8±11,8**	4,6±0,4*	31,8±3,4**
30 сутки после операции	121,3±13,9*	4,0±0,5	28,5±4,7*
После снятия аппарата	116,6±9,5*	3,8±0,7	26,1±4,7*

* - достоверность различий с нормой при уровне значимости $p<0,05$, ** - $p<0,01$.

Таблица 2

Динамика концентрации общего кальция и неорганического фосфата в сыворотке крови пациентов в ходе лечения закрытых переломов костей голени методом чрескостного остеосинтеза

Сроки	Уровень показателей	
	Кальций, ммоль/л	Фосфат, ммоль/л
Норма	2,38±0,12	1,12±0,10
3 сутки после операции	2,39±0,10	1,31±0,07
14 сутки после операции	2,41±0,07	1,59±0,25*
30 сутки после операции	2,36±0,09	1,48±0,10*
После снятия аппарата	2,59±0,07	1,32±0,06

* - достоверность различий с нормой при уровне значимости $p<0,05$.

Таблица 3

Суточная экскреция кальция, фосфора, оксипролина у пациентов в ходе лечения закрытых переломов костей голени методом чрескостного остеосинтеза

Сроки	Уровень показателей		
	Кальций, ммоль/24часа	Фосфат, ммоль/24часа	Оксипролин, мкмоль/24часа
Норма	3,09±0,37	25,90±2,61	167±22
3 сутки после операции	4,74±1,02	18,52±2,82*	366±55**
14 сутки после операции	6,25±3,21	23,04±9,30	513±261**
30 сутки после операции	7,25±1,86 *	20,95±4,20	273±37**
После снятия аппарата	5,02±1,58	16,53±4,73*	280±25*

* - достоверность различий с нормой при уровне значимости $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$.

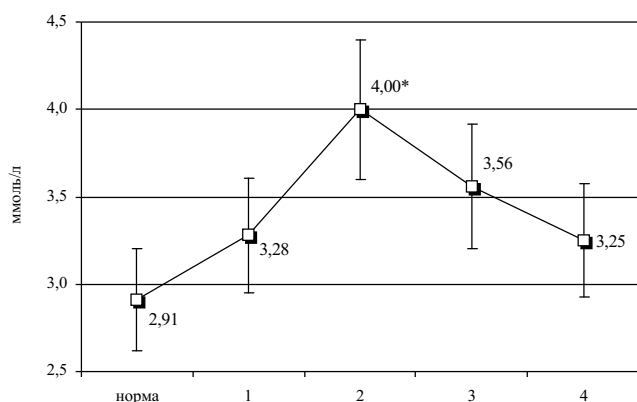


Рис. 1. Динамика концентрации глюконовых кислот в сыворотке крови пациентов в ходе лечения закрытых переломов костей голени методом чрескостного остеосинтеза.

Примечание. Здесь и на рис. 2, 4: * - достоверные различия с нормой при уровне значимости $p < 0,05$. По оси абсцисс - сутки после операции: 1 - третьи; 2 - четырнадцатые; 3 - тридцатые; 4 - на момент снятия аппарата

Несмотря на то, что ферменты, использованные нами для оценки степени травмирования скелетных мышц имели разную специфичность для данной ткани, оказалось, что средние значения активности всех изученных энзимов увеличивались на 3 сутки после операции и не отличались от нормы на последующих сроках наблюдения (рис. 2). Однако интенсивность их роста имела различия. Максимально увеличивалась активность КК на 114% ($p < 0,05$), затем в порядке убывания — АсАТ на 61% ($p < 0,05$), ЛДГ — на 40% ($p < 0,05$), АлАТ — на 29% ($p < 0,10$). Такие изменения, на наш взгляд, были связаны с нарушением целостности скелетных мышц в зоне перелома.

Учитывая, что ЛДГ сыворотки представлена пятью изоформами различного тканевого генеза, электрофоретическое разделение показало, что наблюдаемое после травмы увеличение активности фермента имело мышечное происхождение. На это указывает значимое повышение процентного содержания ЛДГ5 мышечной фракции на 3 сутки после операции (рис. 3).

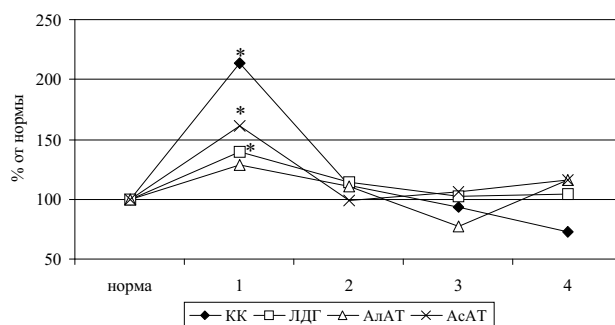


Рис. 2. Динамика ферментативной активности креатинкиназы (КК), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), аминотрансфераз (аланиновой [АлАТ] и аспарагиновой [АсАТ]) сыворотки крови пациентов в ходе лечения закрытых переломов костей голени методом чрескостного остеосинтеза.

Среди изученных ферментов наибольшую диагностическую значимость для оценки поражения скелетных мышц после травмы, на наш взгляд, имеет определение КК. Определение активности ЛДГ также имеет некоторую ценность, если доказано ее мышечное происхождение с помощью электрофоретического разделения изоэнзимов. Необходимо отметить, что использование определения уровня

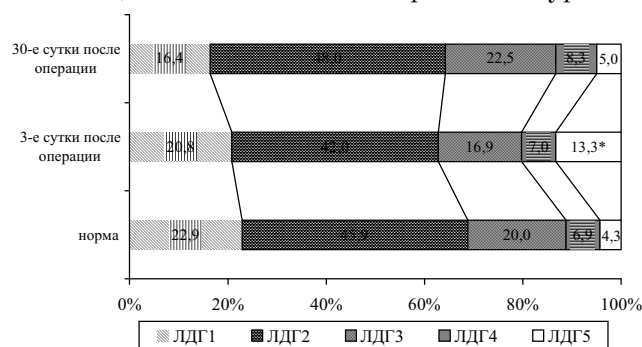


Рис. 3. Изоферментный спектр лактатдегидрогеназы (ЛДГ) сыворотки крови пациентов в ходе лечения закрытых переломов костей голени методом чрескостного остеосинтеза.

Примечание: * - достоверные различия с нормой при уровне значимости $p < 0,05$.

трансаминаз для оценки степени мышечного повреждения не лишено диагностической значимости только в случае совместного их определения с КК и ЛДГ, и необходимо, прежде всего, для исключения печеночной или сердечной патологий, при которых также повышается активность ЛДГ и КК соответственно.

Изучение показателей, характеризующих неспецифические реакции организма на травму, показало, что на этапах лечения в тканях увеличивалась интенсивность углеводного обмена. Это сопровождалось накоплением в сыворотке крови его продуктов – молочной и пировиноградной кислот (табл. 4). Максимальное содержание этих метаболитов углеводного обмена приходилось на 14 – 30 сутки периода фиксации. К моменту снятия аппарата уровень данных органических кислот и их суммарное содержание (МК*ПВК) оставались достоверно выше средних значений нормы.

Хотя некоторые авторы указывают, что в первые недели после травмы концентрация продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – МДА и ДК в сыворотке крови увеличивается [6], мы не обнаружили их существенного роста. По нашим данным,

содержание МДА, наоборот, статистически значимо снижалось на 14 сутки фиксации (табл. 5). Однако на 30 сутки отмечались рост уровня ДК в сыворотке на 45% ($p<0,05$) и тенденция к увеличению МДА. Статистически значимые изменения на 3 сутки после наложения аппарата были отмечены для активности СОД в эритроцитах, которая снижалась на 48% ($p<0,05$). Тем не менее, активность данного фермента уже на второй неделе фиксации достоверно превышала норму, а на 30 сутки после наложения аппарата, когда наблюдалось максимальное увеличение содержания продуктов перекисного окисления в сыворотке, активность СОД достигала максимального уровня, превышая средний показатель нормы на 101% ($p<0,01$). К моменту снятия аппарата содержание продуктов ПОЛ и активность СОД у обследованных пациентов находились в границах физиологической нормы.

Концентрация субстратов липидного обмена на этапах лечения имела общую тенденцию к снижению, при этом наиболее значительные изменения наблюдались для общего холестерина: его содержание к 14 суткам фиксации достоверно снижалось (рис. 4).

Таблица 4

Динамика концентрации молочной (МК) и пировиноградных (ПВК) кислот в сыворотке крови пациентов в ходе лечения закрытых переломов костей голени методом чрескостного остеосинтеза

Сроки	Уровень показателей		
	МК, ммоль/л	ПВК, ммоль/л	МК*ПВК
Норма	2,07±0,23	0,13±0,01	0,25±0,04
3 сутки после операции	2,39±0,52	0,19±0,03	0,45±0,08*
14 сутки после операции	3,53±0,29*	0,25±0,03*	0,83±0,16**
30 сутки после операции	3,13±0,56*	0,26±0,05*	0,85±0,28*
После снятия аппарата	3,21±0,27*	0,25±0,02*	0,83±0,02*

* - достоверность различий с нормой при уровне значимости $p<0,05$, ** - $p<0,01$.

Таблица 5

Динамика концентрации диеновых конъюгат (ДК), малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови и активности супероксиддисмутазы (СОД) эритроцитов у пациентов в ходе лечения закрытых переломов костей голени методом чрескостного остеосинтеза

Сроки	Уровень показателей		
	ДК, нмоль/мг липидов	МДА, нмоль/мг липидов	СОД, мкМ НСТ-1*10 ⁹ Эр/мин
Норма	2,31±0,28	1,11±0,09	15,01±1,94
3 сутки после операции	2,41±0,46	0,94±0,07	7,74±1,67 *
14 сутки после операции	2,58±0,34	0,82±0,07 *	20,35±2,51 *
30 сутки после операции	3,35±0,39*	1,38±0,22	30,11±3,62 **
После снятия аппарата	2,26±0,56	0,89±0,17	18,57±3,16

* - достоверность различий с нормой при уровне значимости $p<0,05$, ** - $p<0,01$.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в течение первых двух недель после наложения аппарата в сыворотке крови пациентов происходили значительные изменения биохимических показателей, пик которых приходился на 14 сутки после операции. Через месяц фиксации происходила нормализация изученных показателей.

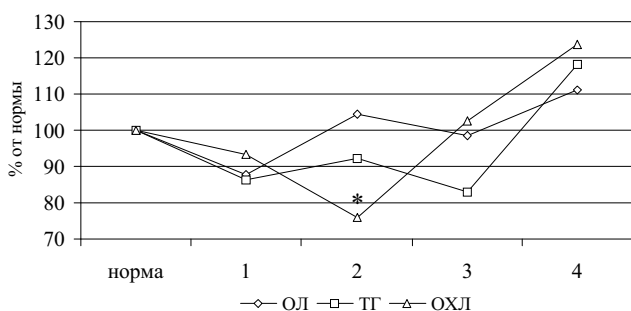


Рис. 4. Динамика концентрации общих липидов (ОЛ), триглицеридов (ТГ) и общего холестерина (ОХЛ) в сыворотке крови пациентов в ходе лечения закрытых переломов костей голени методом чрескостного остеосинтеза.

Увеличение активности ряда ферментов (КК, ЛДГ и АсАТ) в раннем послеоперационном периоде свидетельствовало о незначительной травматизации скелетных мышц, развивавшейся либо в результате самой скелетной травмы, либо в результате оперативного вмешательства.

Представленные данные показателей углеводного и липидного обменов свидетельствовали о том, что на 14 сутки фиксации происходила активизация не только местных (в зоне перелома), но и системных биохимических реакций организма, суть которых состояла в увеличении процессов катаболизма углеводов и липидов. Последнее обстоятельство на наш взгляд наиболее существенно. Так, если участие углеводов в энергетическом обмене тканей в посттравматический период было показано давно, то наблюдаемое снижение уровня сывороточных

липидов указывает на то, что липиды также являются источником для энергообеспечения тканей в процессе репаративного остеогенеза. Высокая активность антиоксидантного фермента СОД в этот период, в свою очередь, предупреждало развитие неконтролируемого перекисного окисления липидов.

Заключение

В результате исследования мы выявили, что максимальная активность репаративного остеогенеза при заживлении закрытых переломов костей голени в нижней трети по методу Г.А. Илизарова приходилась на 14 сутки после наложения аппарата. Высокая интенсивность процессов репарации поддерживалась за счет активации биохимических реакций энергообеспечения. При этом нами выявлено, что наряду с углеводами основными субстратами энергетического обмена тканей при заживлении переломов могут являться сывороточные липиды.

Литература

1. Векслер, Б.М. Характеристика системы перекисного окисления липидов крови в семьях больных ишемической болезнью сердца : дис. ... канд. биол. наук / Векслер Б.М. — СПб., 1995. — 76 с.
2. Власов, В.В. Реакция организма на внешние воздействия: общие закономерности развития и методические проблемы исследования / В.В. Власов. — Иркутск : изд-во Иркутского ун-та, 1994. — 344 с.
3. Современные методы в биохимии / под ред. В.Н. Ореховича. — М. : Медицина, 1977.
4. Соков, С.А. Информационное моделирование адаптационных синдромов травматических стресс-ситуаций / С.А. Соков, Л.П. Соков // Вестн. РУДН. Серия «Медицина». — 1999. — № 1. — С. 91–99.
5. Травматическая болезнь / под ред. И.И. Дерябина, О.С. Насонкина. — Л. : Медицина, 1987. — 303 с.
6. Травматическая болезнь и ее осложнения / под ред. С.А. Селезнева, С.Ф. Багненко, Ю.Б. Шапота, А.А. Курыгина. — СПб. : Политехника, 2004. — 414 с.
7. Справочник по лабораторным методам исследования / под ред. Л.А. Даниловой. — СПб. : Питер, 2003. — 727 с.