

Тукмачев А.Г., Цапок П.И., Загородний Н.В.,
Шешунов И.В.

**ЛИПИДОГРАММА И ПРОЦЕССЫ
ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ У ПОСТРАДАВШИХ
С ПОВРЕЖДЕНИЕМ СВЯЗОК КОЛЕННОГО
СУСТАВА И ПЕРЕЛОМАМИ КОСТЕЙ ГОЛЕНИ**
ГОУ ВПО «Кировская ГМА Росздрава», г. Киров

Изучение интимных сторон в динамике репаративных процессов, происходящих в организме вследствие травмы, представляет значительный научный и практический интерес. Детально изучена ультраструктура фибробластов, хондробластов, остеобластов, одонтобластов, кератобластов, синовиоцитов, обеспечивающих всю разновидность соединительной ткани коллагеновыми белками и липидами. Убедительно показано, что любое травматическое воздействие вызывает глубокие и многообразные сдвиги в организме, как общего, так и местного характера. Среди таких сдвигов важное место занимают биохимические изменения метаболизма. Несмотря на значительные успехи, достигнутые в изучении биохимических процессов, до сих пор не существует единых общепринятых представлений о закономерностях сдвигов липидного обмена в сыворотке крови при костных и мягкотканых повреждениях. В настоящее время доказано, что липиды выполняют в организме не только энергетическую и пластическую функции, но и регуляторную, непосредственно контролируя активность многих мембраносвязанных и цитоплазматических ферментов, а также выступая в роли вторичных мессенджеров и хранителей информации [1,2]. В связи с этим липиды играют основную роль в процессах «биохимической» адаптации на клеточном уровне и активно участвуют в процессах метаболизма.

Материал и методы исследования. Обследованы 3 группы пациентов: 1-я служила контролем, в неё входили 30 добровольцев: здоровые лица в возрасте от 18 до 59 лет, из них 14- мужского пола и 16- женского; вторую группу составили 70 пострадавших с

повреждением связок коленного сустава в возрасте от 17 до 55 лет; третью группу составили 230 человек с диафизарными переломами костей голени в возрасте от 17 до 70 лет. Для лечения второй группы больных были применены различные операции на сухожильно-связочном аппарате по стабилизации коленного сустава. Пластика передней крестообразной связки в 50% случаев производилась по предложенной нами методике [6]. Для лечения больных третьей группы были применены различные методы лечения (иммобилизационный - 13 человек, экстензионный - 86, оперативный у 131 больного). Из оперативных методов лечения использован компрессионно-дистракционный остеосинтез аппаратом Г.А. Илизарова в 46 случаях, ЧКДО стержневыми аппаратами - 10, остеосинтез гвоздём - 8 операций, остеосинтез пластиной - 50 операций, остеосинтез шурупами - 18 операций. Исследования проводились сразу после травмы, в момент проведения противошоковых мероприятий и при динамическом наблюдении за больными в процессе репаративного восстановления повреждённых структур. Показатели биохимических исследований сопоставляли с тяжестью состояния больного, а также со степенью восстановления функции повреждённого сегмента.

Материалом для биохимического исследования служила кровь из локтевой вены, полученная венопункцией в количестве 7,0 мл в пробирки для взятия крови фирмы «VACUTANER» (США), в качестве консерванта был использован раствор этилендиаминтетрацетата (ЭДТА) в концентрации 1 мг/мл.

Общие липиды определяли по реакции с сульфифосфованилиновым реактивом; уровень общего холестерина (ХС) и его фракций - эстерифицированного (ЭХС) и свободного ХС по реакции с хлорным железом по методу Златкиса-Зака; триацилглицеролы (ТАГ) - стандартным набором реактивов фирмы «LACHEMA» (Чехия). Для изучения процессов липопероксидации (ЛПО) использовали определение содержания малонового диальдегида (МДА), как конечного продукта ЛПО по реакции с тиобарбитуровой кислотой, спектрофотометрически при длине волны 535 нм. Определение первичных продуктов ЛПО производили путём измерения интенсивности хемилюминесценции (ХЛ), инициированной пероксидом водорода в присутствии избытка ионов двухвалентного железа за 30 и 60 сек., а также по интенсивности максимальной вспышки ХЛ за исследуемое время на хемилюминометре *EMILITE EL 1105*. Особое значение придавали ХЛ выделенных фракций липопroteинов низкой плотности (ХЛ-ЛПНП) и липопroteинов высокой плотности (ХЛ-ЛПВП).

Из элементов системы антиоксидантной защиты сыворотки определяли содержание церулоплазмينا модифицированным методом с парафенилендиамином; уровень аскорбиновой кислоты - колориметрическим методом с динитрофенилгидразинным реактивом; α -токоферола - с α -

пиридилдиацетиллом. Липидную фракцию для определения диеновых конъюгатов (ДК) экстрагировали гептан-изопропаноловой смесью. В гептановой фазе измеряли количество ДК при длине их максимального поглощения (233нм) на спектрофотометре СФ- 46. Детальное описание приведённых методов биохимического исследования изложено в работах [3,4]. Полученный цифровой

материал обработан методом вариационной статистики. Средние величины вычисляли параметрическими методами, достоверность разницы определяли по t-критерию Стьюдента.

Результаты исследований, представленные в таблицах 1 и 2, свидетельствуют о существенных нарушениях липидного обмена в организме при травме. Так, уровень общих липидов почти в два раза

Таблица 1

Липидограмма в зависимости от репаративных процессов у пострадавших с повреждением связок коленного сустава и переломами костей голени (M+m; n=15)

Показатели	1 группа (здоровые)	2 группа		3 группа	
		До лечения	При восстановлении	До лечения	При восстановлении
Общие липиды, г/л	4,84±0,98 <i>P=P1<0,001</i>	3,34±0,41 <i>P2<0,001</i>	5,45±0,78 <i>P2<0,001</i>	2,39±0,32 <i>P3<0,001</i>	5,56±0,48' <i>P3<0,001</i>
ТАГ, ммоль/л	0,83±0,12 <i>P=P1<0,001</i>	0,57±0,1 <i>P2<0,001</i>	0,75±0,05 <i>P2<0,001</i>	0,49±0,05 <i>P2>0,05</i>	0,72±0,08' <i>P2<0,001</i>
Общий ХС, ммоль/л	4,22±0,35	4,31±0,23	4,27±0,07	4,67±0,43	4,45±0,31
ЭХС, ммоль/л	3,04±0,27	3,13±0,12	3,0±0,21	3,41±0,39	2,98±0,19
Свободный ХС, ммоль/л	1,17±0,19	1,19±0,13	1,25±0,12	1,24±0,18	1,45±0,13
Коэффициент эстерификации, %	72,0±4,2	72,1±3,2	71±3,2	72,9±4,8	66,9±4,4

Примечание: *P* - достоверность различий между 1 и 2 группой, *P1*- между 1 и 3 группой до лечения; *P2*- достоверность различий 2 группой, до лечения и в процессе восстановления; *P3*- достоверность различий 3 группой, до лечения и в процессе восстановления; ' - различия статистически достоверны.

Таблица 2

Показатели ЛПО и АОА в сыворотке крови в зависимости от репаративных процессов у пострадавших с повреждением связок коленного сустава и переломами костей голени (M±m; n=15).

Показатели	1 группа (здоровые)	2 группа		3 группа	
		До лечения	При восстановлении	До лечения	При восстановлении
Интенсивность ХЛ за 30 с, фотон	1108±94	1520±135'	1230±98''	1956±142'	1294±103''
Интенсивность ХЛ за 60 с, фотон	1648±152	1980±120'	1870±180''	2948±294'	1872±198''
Максимальная вспышка ХЛ, фотон	94±12	110±13'	102±13''	153±35'	102±14''
МДА, ммоль/л	2,12±0,54	4,6±0,23'	2,12±0,51''	12,28±0,64	2,1±0,2''
ДК, усл.ед/мл	0,24±0,03	0,34±0,07'	0,21±0,08''	0,52±0,05'	0,2±0,03''
АОА, %	71,4±4,4	64±4,2'	69±4,8''	52,4±6,2'	69,3±5,4''
Церулоплазмин, г/л	0,28±0,03	0,11±0,01'	0,25±0,02''	0,11±0,01'	0,25±0,02''
Аскорбиновая кислота, мг/л	7,5±0,6	6,5±0,5	7,4±0,3	3,5±0,5	7,2±0,8''
α-токоферол, мг/л	8,4±0,8	6,9±0,9'	7,8±0,8''	5,8±0,8'	7,3±0,6''
ХЛ-ЛПНП, фотон за 60 с	2230±176	1720±125'	2396±132''	1741±120'	2406±130''
ХЛ-ЛПВП, фотон за 60 с	1460±180	538±64'	1549±110''	558±52'	1557±98''

Примечание: ' - различия статистически достоверны с 1-й группой (до лечения);

'' - различия статистически достоверны в группе до лечения и в процессе регенерации.

был ниже у пострадавших с повреждением связок коленного сустава и переломами костей голени до проведения лечения, снижение содержания ТАГ во второй группе составило 47,3%, в третьей - 40,7% по сравнению со здоровыми людьми. Полученные данные согласуются с результатами исследований о развитии общей метаболической реакции организма на травму в первые сутки после получения повреждения, имеющей катаболическую направленность и выражающуюся в усиленном распаде тканевых белков, углеводов и жиров. В тоже время существенных изменений со стороны общего, эстерифицированного и свободного холестерина не наблюдали, в результате чего коэффициент эстерификации практически не изменился и составил $72,1 \pm 3,2$ во второй группе и $72,9 \pm 4,8\%$ в третьей группе, по сравнению с $72,0 \pm 4,2$ у здоровых людей. В процессе регенерации повреждённых тканевых и клеточных структур отмечали увеличение уровня общих липидов в сыворотке крови и практически нормализацию содержания ТАГ при тенденции к снижению эстерифицированного ХС на фоне увеличения фракции свободного ХС, в результате чего произошло незначительное снижение коэффициента эстерификации. Еще более существенные изменения метаболизма выявлены нами при сопоставлении показателей, характеризующих ЛПО и антиоксидантную активность (АОА) организма (табл.2). Интенсивность процессов ЛПО значительно возросла при травме, указанное явление регистрировалось, как хемилюминесцентным методом, так и по уровню МДА, который в 2 раза у пострадавших второй группы и более чем в 6 раз у пациентов третьей группы, превысил содержание данного показателя у контрольных лиц. Содержание диеновых конъюгатов (ДК) - промежуточных продуктов свободно-радикального окисления также было увеличено во 2-й группе на 34%, а в 3-й группе более чем в два раза по сравнению со здоровыми лицами. При этом АОА была существенно снижена на 17% у пострадавших 2-й группы и на 36,2% в группе лиц с переломами костей голени по сравнению со здоровыми лицами. Имело место снижение показателей хемилюминесценции липопротеинов низкой плотности (ХЛ-ЛПНП) во 2-й группе на 7% от контрольной группы. У пострадавших 3-й группы ХЛ-ЛПНП снижалась в среднем на 13% по сравнению с 1-й группой и при неудовлетворительных исходах лечения оставалась сниженной в пределах 10%. Так же имело место снижение значений хемилюминесценции липопротеинов высокой плотности (ХЛ-ЛПВП) до уровня 26 % во 2-й группе, которые при неудовлетворительных результатах лечения оставались сниженными в среднем на 24%. В 3-й группе ХЛ-ЛПВП снижалась в среднем до 53%, а при неудовлетворительных результатах лечения оставались сниженными в среднем на 44%. При сопоставлении интенсивности процессов ЛПО и АОА сыворотки крови в процессе регенерации и

восстановления повреждённых структур отмечена нормализация процессов свободнорадикального окисления и тенденция к нормализации АОА при адекватном лечении и благоприятных исходах. При неблагоприятных исходах (замедленная консолидация, ложный сустав, нарушение функции коленного сустава и т.д.) показатели АОА оставались низкими на фоне повышенных величин биохимических показателей, характеризующих процессы ЛПО. Не вызывает сомнений тот факт, что образующиеся свободные радикалы принимают активное участие в повреждении клеточных мембран и субклеточных структур как в области повреждённого связочного аппарата, так и в области формирования костной мозоли, а также оказывают пагубное влияние на клетки других органов и систем [1,5].

Анализ возможных причин снижения АОА показал, что происходит уменьшение антиоксидантной активности церулоплазмينا и снижение содержания не ферментативных антиоксидантов - аскорбиновой кислоты и α -токоферола. Известно, что церулоплазмин обладает ферментативными свойствами ферроксидазы, катализируя окисление двухвалентных ионов железа, и в сыворотке крови осуществляет функцию «перехватчика» супероксидных радикалов [5,9].

Учитывая всю сложность биохимических взаимоотношений в травмированном организме, для наиболее полной характеристики ЛПО и АОА, нами предложен коэффициент эффективности проводимого лечения - k^* , вычисляемый по формуле:

$$k^* = (\text{ХЛ-ЛПНП} \times \text{ОЛ}) \div (\text{ХЛ-ЛПВП} \times \text{ЦП}),$$

где: ХЛ-ЛПНП - хемилюминесценция липопротеинов низкой плотности, в фотонах за 60 сек;

ОЛ - общие липиды плазмы крови в г/л;

ХЛ-ЛПВП - хемилюминесценция липопротеинов высокой плотности, в фотонах за 60 сек;

ЦП - церулоплазмин плазмы крови в г/л;

Диагностический коэффициент - k^* наиболее полно раскрывает взаимосвязь процессов ЛПО и АОА и позволяет судить об эффективности проводимого лечения ортопедотравматологического больного. Коэффициент k^* - у здоровых людей равен или меньше 30, что подтверждают исследования, проводимые у контрольной группы людей. При недостаточной эффективности проводимого лечения, либо при неудовлетворительных исходах заболевания показатель остаётся на высоких цифрах. При адекватно проводимом лечении и благоприятных исходах заболевания показатель с течением времени нормализуется [7,8].

Выводы.

1. Изменения интенсивности процессов липопероксидации, а также показатели антиоксидантной защиты в сыворотке крови могут служить надежными критериями для оценки активности репаративных процессов, протекающих в повреждённых клеточных и тканевых структурах.

2. Динамические сдвиги показателей липидного обмена в сыворотке крови могут служить для оценки качества и эффективности проводимого лечения, а также для прогнозирования исходов данного заболевания.

3. Диагностический коэффициент - k^* , позволяет наиболее полно оценить уровень клеточного метаболизма при репаративных процессах.

Литература

1. Горев С.Г., Еликова Е.П., Тукмачёв А.Г., Тукмачёв О.А., Цапок П.И., Показатели липидного обмена в сыворотке крови в зависимости от репаративных процессов при травме //Вестник новых медицинских технологий. – 2002. - Т. IX, № 2. - С. 31 – 32.
2. Курашвили Л.В., ВАСИЛЬКОВ В.Г. Липидный обмен при неотложных состояниях. – Пенза. – 2003. – 198 с.
3. Горячковский А.М. Справочное пособие по клинической биохимии. - Одесса: ОКФА, 1994. - 386 с.
4. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. - В 2-х томах. - Минск: Беларусь, 2000. - 463 с.
5. Терехина Н.А., Петрович Ю.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная система: Учебное пособие. – Пермь: ГОУ ВПО «ПГМА Минздрава России», 2005. - 57 с.
6. Тукмачёв А.Г. Способ пластики передней крестообразной связки //Вестник новых медицинских технологий. - 1998. - № 3-4. - С. 62 - 63.
7. Шешунов И.В., Стрелков Н.С., Цапок П.И., Тукмачев А.Г., Горев С.Г. Клинико-биохимические исследования клеточного метаболизма у больных с посттравматической нестабильностью коленного сустава.- Киров: Кировская ГМА, 2006. - 148с.
8. Шешунов И.В., Стрелков Н.С., Цапок П.И., Тукмачев А.Г., Горев С.Г. Клинико-биохимические исследования клеточного метаболизма у больных с диафизарными переломами костей голени.- Киров: Кировская ГМА, 2006. - 144с.
9. Pacht E.R., Davis W.B.//J. Lab. Clin. Med. –1988. - Vol.111, № 6. – P.661-668.