

Влияние простагландина E₁ на процессы формирования костной мозоли при моделировании перелома длинных костей конечностей

П.В.Липинский¹, А.В.Скороглядов¹, А.В.Ивков¹, И.В.Сиротин¹,
Е.Н.Мотылев², А.П.Эттингер³, М.Д.Поливода³

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии педиатрического факультета, Москва (зав. кафедрой – проф. А.В.Скороглядов);

²Городская клиническая больница №64, Москва (главный врач – д.м.н. А.А.Крапивин);

³Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, отдел экспериментальной хирургии НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований, Москва (руководитель отдела – проф. А.П.Эттингер)

Целью данной работы было экспериментальное обоснование влияния простагландина E₁ на стимуляцию костного сращения при переломах длинных костей конечностей. Изучены две группы кроликов-самцов по 7 особей в каждой группе. У всех животных произведены диафизарные переломы большеберцовой кости с последующей внутрикостной фиксацией штифтами. Основная группа в послеоперационном периоде получала препарат простагландина E₁ по 5 мкг/кг в сутки в течение 10 дней. Экспериментально отмечена высокая эффективность простагландина E₁ в качестве стимулятора сращения перелома.

Ключевые слова: перелом, простагландин E₁, кролик, эксперимент

Influence of prostaglandin E₁ on processes of formation of an osteal callus at modeling of long bones of extremities' fracture

P.V.Lipinskiy¹, A.V.Skoroglyadov¹, A.V.Ivkov¹, I.V.Sirotnin¹, E.N.Motylev², A.P.Oettinger³, M.D.Polivoda³

¹N.I.Pirogov Russian National Research Medical University, Department of Traumatology, Orthopedics and Battle Field Medicine of Pediatric Faculty, Moscow (Chief of the Department – Prof. A.V.Skoroglyadov);

²Municipal Clinical Hospital №64, Moscow (Chief Doctor – DMSci A.A.Krapivin);

³N.I.Pirogov Russian National Research Medical University, Department of Experimental Surgery of Institute for Fundamental and Applied Biomedical Research, Moscow (Head of the Department – Prof. A.P.Oettinger)

The purpose of the present work was the experimental substantiation of the influence of prostaglandin E₁ on stimulation of an osteal adnation at fractures of long bones of extremities. It was studied in two groups of rabbits-males, 7 individuals in each group. At all animals diaphyseal tibia fractures with the subsequent intramedullary osteosintesis were made. The basic group in the postoperative period received a preparation of prostaglandin E₁ of 5 mkg/kg a day within 10 days. High efficiency of prostaglandin E₁ as a stimulator of fracture adnation of a bone was experimentally noted.

Key words: fracture, prostaglandin E₁, a rabbit, experiment

Для корреспонденции:

Липинский Павел Владимирович, аспирант кафедры травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117292, Москва, ул. Вавилова, 61, корп. 11

Телефон: (495) 135-9154

E-mail: lipper@inbox.ru

Статья поступила 19.09.2011 г., принята к печати 14.12.2011 г.

Сложность лечения тяжелых открытых переломов длинных костей конечностей (type IIIb по классификации Gustilo–Andersen) велика. Это обусловлено как необходимостью ургентного использования максимального количества лечебных средств и мероприятий на начальном этапе лечения пострадавшего, длительностью стационарного этапа лечения больного, трудоемкостью лечебного процесса, так и большим числом неудовлетворительных результатов лече-

ния в виде гнойно-воспалительных осложнений (57,4%) и несращения перелома, контрактур суставов. В конечном итоге нередко (17,6%) инвалидизация пациентов или даже потеря конечности [1–4].

В настоящее время среди травматологов нет единого мнения о тактике лечения тяжелых открытых переломов. Не существует единой концепции в выборе метода фиксации отломков при открытом переломе, способе ведения раневого дефекта. Тактика послеоперационного ведения пациентов и необходимость применения средств, улучшающих микроциркуляцию в поврежденном сегменте, также остаются на усмотрение врача [5–8].

Синтетический аналог простагландина E₁ (ПГЕ₁), алпростадиол, разработали и широко применяют в терапии облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей, при лечении синдрома диабетической стопы.

Простагландин E₁ обладает вазодилатирующими, антитромботическими и эндотелий-стабилизирующими свойствами, т.к. ингибирует активацию нейтрофильных гранулоцитов и тромбоцитов, снижает агрегацию эритроцитов и увеличивает эластичность их стенки, обладает фибринолитической активностью и усиливает аэробное тканевое дыхание.

Данные литературных источников об успешном применении препаратов ПГЕ₁ в микрохирургии после реплантации травматических ампутированных пальцев конечностей [9], а также у пациентов после трансплантации кожно-мышечных лоскутов [10] позволили сделать вывод о возможности применения ПГЕ₁ как стимулятора кровообращения в комплексе лечения пациентов с открытыми переломами.

Больные с тяжелыми открытыми переломами длинных костей конечностей получают обширную медикаментозную и поддерживающую терапию, что не позволяет отдельно выделить действие того или иного вида препаратов. Один из проверенных способов объективизации полученных данных – это постановка контролируемого эксперимента с выделением механизмов действия препарата, в данном случае – ПГЕ₁.

Цель исследования – оценить эффективность простагландина E₁ в качестве стимулятора сращения перелома.

Задачи исследования:

1. Разработать адекватную модель перелома длинных костей конечностей у лабораторных животных и выбрать соответствующий метод остеосинтеза в данных условиях.
2. Определить параметры, качество и характер регенерации костной ткани и, соответственно, сращения переломов у лабораторных животных с использованием стандартной контрольной группы.
3. Наметить возможные механизмы действия простагландинов на репаративные процессы в костной ткани лабораторных животных.

Материалы и методы

В качестве лабораторных животных выбрали кроликов-самцов (вес – 3–5 кг, возраст – 2–3 года), поскольку строение длинных костей их конечностей позволяет в полной мере воссоздать модель перелома с последующим интрамедуллярным остеосинтезом.

Животных распределили на 2 группы по 7 особей в каждой. В группе сравнения (контрольной) выполняли моделирование перелома голени с последующей интрамедуллярной фиксацией и ведением без применения медикаментозных средств. В группе исследования (основной) после моделирования перелома и остеосинтеза в послеоперационном периоде проводили терапию препаратом ПГЕ₁.

Для эксперимента выбрали модель малоинвазивного перелома диафиза большеберцовой кости с последующей внутрикостной фиксацией штифтами Богданова, предложенную Сахно [11].

Исследование проведено с разрешения Этического комитета РНИМУ им. Н.И.Пирогова (протокол №82 от 15.12.2008), оперативные вмешательства выполняли в соответствии с требованиями обращения с лабораторными животными, что предусматривало соответствующие условия содержания, ветеринарный контроль и адекватное обезболивание.

Моделирование перелома выполняли под наркозом. Через кожный разрез по передней поверхности средней трети задней конечности животного длиной около 1,5 см обнажали диафиз кости в месте предполагаемого перелома. Затем сверлом диаметром 2 мм формировали три поперечных канала под углом 90° к диафизу кости. Вручную производили поперечный перелом средней трети большеберцовой кости. Для интрамедуллярной фиксации использовали 2 штифта Богданова с поперечным размером 1,2 × 2,4 мм, длину штифтов подбирали индивидуально интраоперационно (рис. 1). Для введения штифтов в костномозговой канал производили дополнительный разрез длиной 1,5 см в проекции связки надколенника. Ниже места прикрепления связки шилом вскрывали костномозговой канал. Затем интрамедуллярно вводили 2 штифта Богданова, сложенные вместе. Длину штифтов подбирали так, чтобы из кости проксимально выстоял фрагмент длиной 1,5–2 мм, что облегчало последующее удаление металлоконструкций. После гемостаза раны ушивали наглухо, асептические повязки на рану не накладывали. Дренажи и выпускники в ранах не оставляли.

В группе сравнения лекарственную терапию ограничивали введением обезболивающих средств в первые трое суток после операции. В группе исследования все животные первые 10 сут со дня операции получали алпростадиол



Рис. 1. Схема установки штифтов в костномозговом канале.

по 5 мг/кг в сутки подкожно в бедро задней конечности с неоперированной стороны.

С первых суток послеоперационного периода у всех животных оценивали клиническое состояние, особое внимание уделяли состоянию оперированной конечности, учитывали воспалительные проявления и другие клинические признаки.

На 10-е, 20-е и 30-е сутки всем животным в стандартных условиях в положении на спине и на боку без специальных укладок выполняли рентгенограммы оперированных конечностей. Рентгенологические исследования проводили мобильным рентгенаппаратом при экспозиции 40–50 кВ, 10 мс и фокусном расстоянии 40–60 см. Снимки регистрировали на пленку. При анализе рентгенограмм оценивали размер, рентгенологическую плотность, однородность, динамику формирования костной мозоли, положение отломков и металлофиксаторов.

На 30-й день животных выводили из эксперимента передозировкой наркотических средств. Для гистологического анализа получали макропрепарат большеберцовой кости без мягких тканей, удаляли металлофиксаторы, выполняли опиление по краям костной мозоли и измеряли диаметры костной мозоли и нативной кости.

Патогистологический анализ проводили на декальцинированных, фиксированных в парафине, окрашенных гематоксилином и эозином, а также по Ван-Гизону срезах толщиной 10 мкм при световой микроскопии в проходящем свете. Особое внимание уделяли процессам неоангиогенеза и количеству новообразованных хондроцитов. Для этого проводили подсчет среднего количества этих образований в основной и контрольной группах в 10 случайных полях зрения в каждом срезе препарата костной мозоли.

Достоверность полученных результатов оценивали при помощи непараметрических критериев – Вилкоксона для зависимых переменных и Манна–Уитни для независимых переменных. Статистическую обработку проводили с использованием программы «Statsoft Statistica v.7.0.61.0». Критическим уровнем значимости статистической ошибки первого рода была признана величина $p = 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Клинически послеоперационный период в группе исследования протекал без осложнений. У двух животных из группы сравнения на фоне отсутствия признаков консолидации перелома развилось прогрессирующее нагноение мягких тканей оперированной конечности, что заставило вывести их из эксперимента на 20-е сутки.

Опороспособность оперированной конечности и объем активных движений в смежных суставах в группе исследования восстановились на 10–15-е сутки после операции, в группе сравнения на 20–25-е сутки. На 10-е сутки у всех животных группы исследования возникли признаки формирования костной мозоли (рис. 2). В группе сравнения этих признаков не было.

На 20-е сутки после операции в группе сравнения у четырех животных отмечены признаки формирования костной мозоли, рентгенологическая картина которых соответствовала таковой в группе исследования на 10-й день (рис. 3).



Рис. 2. Рентгенограммы на 10-е сутки после операции в группах исследования (А) и сравнения (Б). Стрелкой обозначена костная мозоль.



Рис. 3. Рентгенограммы на 20-е сутки после операции в группах исследования (А) и сравнения (Б). Стрелкой обозначена костная мозоль.



Рис. 4. Рентгенограммы на 30-е сутки после операции в группах исследования (А) и сравнения (Б). Стрелкой обозначена костная мозоль.

У трех животных группы сравнения признаков формирования костной мозоли не было. У двух из них, как указано выше, развилось нагноение операционной раны, заставившее вывести животных из эксперимента.

На 30-е сутки у всех животных группы исследования выявлена консолидация перелома. В группе сравнения у четырех животных рентгенологическая картина соответствовала таковой в группе исследования на 20-й день (рис. 4).

Морфометрически на 30-е сутки установлено, что средний коэффициент утолщения костной мозоли в группе исследования составил $2,08 \pm 0,16$, а в группе сравнения на 18% меньше – $1,77 \pm 0,05$.

При патогистологической оценке костной мозоли среднее количество новообразованных сосудов по 10 полям зрения в группе исследования составило $78 \pm 9,82$ против $40 \pm 4,68$ в группе сравнения, что почти в два раза больше. Среднее количество хондроцитов по 10 полям зрения в группе исследования показало почти полуторакратное увеличение и составило $105 \pm 20,03$ против $67 \pm 6,25$ в группе сравнения.

Использованную в ходе работы экспериментальную модель можно оценить как адекватную, поскольку ни в одном случае не было выявлено прямого влияния способа моделирования перелома и остеосинтеза на полученный результат.

Использование ПГЕ₁ в послеоперационном периоде привело к снижению срока консолидации перелома, уменьшению числа инфекционных осложнений, формированию большей по объему и более качественной по составу костной мозоли. Нельзя исключить, что снижение числа инфекционных осложнений у животных группы исследования было следствием усиленного кровотока в поврежденной конечности и, соответственно, улучшенного гуморального иммунитета. В работе получено яркое подтверждение того, что ПГЕ₁ достоверно влияет на репаративный остеогенез. Кроме того, установлено, что количество хондроцитов достоверно выше в группе животных, где применяли ПГЕ₁, хотя в литературных источниках нет прямых указаний о его влиянии на костную ткань при переломах. Полученные нами данные подтверждают факт влияния ПГЕ₁ на пролиферацию костной ткани.

Э.А.Щербавская [12] высказала предположения о потенциальном действии ПГЕ₁ в качестве стимулятора образования костной ткани. Аналогичные факты приводят в своих работах Л.Риггз [13] и Р.Марие [14], указывая, что ПГЕ₁ стимулирует продукцию коллагена, синтез и секрецию инсулиноподобного фактора роста-1 (ИФР-1), который оказывает анаболическое действие на костную ткань и повышает костный обмен.

М.Нотманн [15] применял препараты ПГЕ₁ у пациентов после трансплантации печени и, по данным денситометрии, установил достоверное снижение потери костной плотности в сравнении с больными, не получавшими простагландины.

Таким образом, настоящее экспериментальное исследование уточняет и развивает имеющиеся сведения о влиянии ПГЕ₁ на неоангиогенез и стимулирующем воздействии на репаративные процессы в костной ткани, однако прямые данные о влиянии на репаративные процессы при переломах получены в этой работе впервые.

Заключение

Полученные экспериментальные данные убедительно показывают, что в условиях контролируемого стандартизованного моделированного перелома с последующей интрамедуллярной фиксацией применение ПГЕ₁ в послеоперационном периоде в дозе 5 мкг/кг в сутки приводит к достоверному сокращению сроков формирования костной мозоли. Кроме того, качество новообразованной костной мозоли достоверно выше и объем больше, однако он находится в среднефизиологических пределах.

В ходе эксперимента в группе сравнения наблюдали инфекционные осложнения, которые отсутствовали у животных группы исследования, хотя операции были выполнены стандартным оборудованием и в стандартных условиях операционной.

Литература

1. Гиршин С.Г. Клинические лекции по неотложной травматологии. М., 2004. С.234–284.
2. Georgiadis G., Behrens F.F., Joyce M.J. et al. Open tibia fractures with severe soft tissue loss. Limb salvage with microvascular tissue transfer versus below-knee amputation: Complications, functional results, and quality of life // J Bone Joint Surg Am. 1994. V.75. P.1431–1441.
3. Helfet D., Howey T., Sanders R. et al. Limb salvage versus amputation: Preliminary results of the mangled extremity severity score // Clin. Orthop. Relat. Res. 1990. V.256. P.80–86.
4. Johansen K., Daines M., Harvey T. et al. Objective criteria accurately predict amputation following lower extremity trauma // J Trauma. 1990. V.30. P.568–572.
5. Блаженко А.Н., Дубров В.Э., Афаунов А.А. Тактика лечения пострадавших с открытыми и закрытыми множественными переломами длинных костей нижних конечностей // Кубанск. науч. мед. вестн. 2010. №7. С.21–27.
6. Бялик И.Ф. Комплексный метод профилактики и лечения нагноений открытых переломов: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М., 1985. 24 с.
7. Рушай А.К. Лечебная тактика при открытых переломах конечностей / Под ред. А.К.Рушай // Травма. 2001. Т.2. №3. С.315–319.
8. Hauser C.J. Council of the Surgical Infection Society. Surgical Infection Society guideline: prophylactic antibiotic use in open fractures: an evidence-based guideline [Text] / Ed. by C.J.Hauser, C.A.Adams Jr., S.R.Eachempati // Surg Infect (Larchmt). 2006 Aug. V.7. №4. P.379–405.
9. Hou S. Use of prostaglandin E₁ (Promosan) in patients with replantation of extremities and vascularized free tissue transfer // Orthop Surg. 1986. №3. P.111–121.
10. Maruyama Y., Nakajama H., Fujino T., Koda E. The definition of cutaneous vascular territories over the black using selective angiography and the intraarterial injections of prostaglandin E₁: Some observations on the Use of the lower trapezius myocutaneous flap // Br J Plast Surg. 1981. №34. P.157–161.
11. Сахно Н.В. Стимуляция репаративных процессов костной ткани при переломах трубчатых костей у мелких домашних животных и профилактика хирургической инфекции: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. СПб., 2009. 34 с.
12. Щербавская Э.А., Гельцер Б.И. Состояние костной ткани у беременных с гестозом // Рос. вестн. акуш.-гин. 2003. №1. С.15–19.
13. Риггз Б.Л., Мелтон Л.Дж. Остеопороз. Этиология, диагностика, лечение. М: Бином, 2000. 558 с.
14. Marie P. Growth factors and bone formation in osteoporosis: role for IGF-I and TGF beta // Rev Rhum Engl. 1997. V.64. P.44–53.
15. Hommann M., Kämmerer D., Lehmann G. et al. Prevention of early loss of bone mineral density after liver transplantation by prostaglandin E₁ // Transplant. Proc. 2007 Mar. V.39. №2. P.540–543.

Информация об авторах:

Скороглядов Александр Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 952-5461
E-mail: traumaRSMU@gmail.com

Ивков Алексей Витальевич, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 952-5461
E-mail: traumaRSMU@gmail.com

Сиротин Иван Владимирович, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 952-5461
E-mail: traumaRSMU@gmail.com

Мотылев Евгений Николаевич, врач-патологоанатом патологоанатомического отделения Городской клинической больницы №64
Адрес: 117292, Москва, ул. Вавилова, 61
Телефон: (499) 134-7090
E-mail: gkb64@mosgorzdrav.ru

Эттингер Александр Павлович, доктор медицинских наук, профессор, директор НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований при Российском национальном исследовательском медицинском университете им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-4001
E-mail: oett@rsmu.ru

Поливода Михаил Дмитриевич, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела экспериментальной хирургии НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований при Российском национальном исследовательском медицинском университете им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-4001
E-mail: oett@rsmu.ru

СТРАНИЧКА УЧЕНОГО СОВЕТА РНИМУ им. Н.И.ПИРОГОВА

Информация о защитах диссертаций на соискание ученой степени доктора наук в ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздравсоцразвития России

Автор	Тема	Специальность
Куликов Сергей Владимирович	Структурная перестройка печени при моделировании некоторых врожденных пороков сердца и после их коррекции	14.03.02 – патологическая анатомия (медицинские науки)
<i>Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития РФ». Научные консультанты – д.м.н., проф. Ю.В.Новиков; д.м.н., проф. С.В.Шорманов. Защита состоится 20.02.2012 в 14.00 на заседании диссертационного совета Д 208.072.04 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: 434-84-64).</i>		
Рашитов Ленар Зулфарович	Гигиеническая оценка влияния загрязнения атмосферного воздуха бенз(а)пиреном на онкологическую заболеваемость населения крупного промышленного города (на примере г. Казани Республики Татарстан)	14.02.01 – гигиена (медицинские науки)
<i>Работа выполнена в ГОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет Росздрава». Научный консультант – д.м.н., проф. А.Б.Галлямов. Защита состоится 12.03.2012 в 14.00 на заседании диссертационного совета Д 208.072.06 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: 434-84-64).</i>		
Алферова Вера Вадимовна	Динамика и прогностическое значение клинических, нейрои иммунохимических и биохимических показателей у больных ишемическим инсультом	14.01.11 – нервные болезни (медицинские науки)
<i>Работа выполнена в ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздравсоцразвития России. Научные консультанты – д.м.н., проф. А.Б.Гехт; д.м.н., проф. М.Г.Узбеков. Защита состоится 19.03.2012 в 14.00 на заседании диссертационного совета Д 208.072.09 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: 434-84-64).</i>		
Краснова Ирина Алексеевна	Современные технологии в органосохраняющем лечении миомы матки	14.01.01 – акушерство и гинекология (медицинские науки)
<i>Работа выполнена в ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздравсоцразвития России. Научные консультанты – д.м.н., проф. В.Г.Бреусенко; д.м.н., проф. С.А.Капранов. Защита состоится 19.03.2012 в 14.00 на заседании диссертационного совета Д 208.072.12 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: 434-84-64).</i>		