УДК [612.398.12:616.718.5/.6-001.5-089.227.85]-092.9

ИЗМЕНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПОСЛЕ ОСТЕОТОМИИ КОСТЕЙ ГОЛЕНИ В ВЕРХНЕЙ ТРЕТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЕЛИЧИНЫ УДЛИНЕНИЯ ПО ИЛИЗАРОВУ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Кононович Н.А., Киреева Е.А, Тушина Н.В., Попков А.В.

ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, Курган, e-mail: n.a.kononovich@mail.ru

В работе проведен сравнительный анализ остеорепаративных и метаболических изменений в сыворотке крови у собак в ходе оперативного удлинения костей голени по Илизарову на величину 14–16% (серия 1) и 9% (серия 2) от исходной длины сегмента после остеотомии в верхней трети. Для оценки метаболического статуса у экспериментальных животных в сыворотке крови определяли концентрацию субстратов и активность ферментов всех звеньев обмена: белкового, углеводного, липидного, минерального, водно-солевого. Обнаружено, что у собак обеих серий в ходе дистракции в сыворотке крови увеличивалась активность щелочной фосфатазы и креатинкиназы, снижалась активность костного изофермента кислой фосфатазы. У собак 1-й серии, в отличие от животных 2-й серии, на этапах удлинения отмечалось более значительное снижение уровня общего белка и рост интенсивности его перекисного окисления. Обратимость наблюдаемых изменений, отсутствие серьезных нарушений других звеньев обмена, а также схожие сроки фиксации у собак 1-й серии (удлинение костей голени до 14–16% от исходной длины сегмента) относительно животных 2-й серии позволяет заключить о возможности применения данной методики удлинения после остеотомии костей голени в верхней трети.

Ключевые слова: удлинение костей голени, метод Илизарова, биохимия крови

CHANGES IN BLOOD SERUM BIOCHEMICAL PARAMETERS AFTER OSTEOTOMY OF LEG BONE UPPER THIRD DEPENDING ON THE AMOUNT OF LENGTHENING ACCORDING TO ILIZAROV (AN EXPERIMENTAL STUDY)

Kononovich N.A., Kireeva E.A, Tushina N.V., Popkov A.V.

FSBI «Russian Ilizarov Scientific Center Restorative Traumatology and Orthopaedics» of the RF Ministry of Health, Kurgan; e-mail: n.a.kononovich@mail.ru

We have made a comparative analysis of the osteoreparative and metabolic changes in canine blood serum during surgical lengthening of leg bones according to Ilizarov by 14–16% (Series 1) and by 9% (Series 2) of the initial length of segment after osteotomy in the upper third. In order to evaluate the metabolic status of experimental animals we determined blood serum substrate concentration and enzymatic activity of all the elements of metabolism (protein, carbohydrate, lipid, mineral, water-salt). As found, the activity of alkaline phosphatase and creatine kinase increased in blood serum during distraction in the dogs of both series, while the activity of acid phosphatase bone isoenzyme decreased. More significant decrease in the level of total protein, and the increasing intensity of its peroxidation observed at the stages of lengthening in the dogs of Series 1, unlike the animals of Series 2. The reversibility of the observed changes, the lack of the major disorders of metabolism other elements, as well as similar periods of fixation in the dogs of Series 1 (leg bone lengthening up to 14–16% of the segment initial length), relatively to the animals of Series 2, allowed to conclude about the possibility of using this technique of lengthening after osteotomy of leg bones in the upper third.

Keywords: lengthening of leg bones, the Ilizarov method, blood biochemistry

В настоящее время у пациентов с дефектами и укорочениями костей конечности для коррекции их формы и увеличения длины предпочтение отдается остеотомии в верхней трети голени, в частности в области проксимального метафиза [6]. По всей видимости, это связано с тем, что репаративные возможности костной ткани при ее удлинении после остеотомии на данном уровне считаются более благоприятными в сравнении с областью диафиза.

Однако, помимо уровня остеотомии не последнюю роль в исходе оперативного удлинения костей конечности имеют режим дистракции и величина удлинения по отношению к исходной длине сегмента [1, 5]. Как правило при удлинении голени, в том числе по эстетическим показаниям, остеотомию выполняют в области проксимального метафиза. Классическим режимом дистракции принято считать 1 мм за 4 приема в сутки. Функционально-допустимой величиной удлинения является 20% от исходной длины сегмента. Имеются работы, в которых показана взаимосвязь метаболических нарушений, развивающихся в тканях опорно-двигательного аппарата при оперативном удлинении костей конечностей, с интенсивностью дистракционного остеогенеза [3, 4, 7, 8].

В целом анализ литературных данных указывает на то, что успешность опера-

тивного удлинения костей конечности по Илизарову зависит от множества как механических, так и биологических факторов. Поэтому для обоснования новых вариантов и методик удлинения костей конечностей необходимо учитывать состояние комплекса условий, при которых происходит дистракционный остеогенез.

Цель исследования – сравнительный анализ остеорепаративных и метаболических изменений у собак в зависимости от величины оперативного удлинения костей голени по Илизарову после остеотомии в верхней трети.

Материалы и методы исследования

Выполнено две серии экспериментальных исследований на 12 взрослых беспородных собаках обоего пола. Во всех случаях наркотизированным животным в условиях операционной выполняли открытую поперечную остеотомию долотом на уровне проксимального метафиза берцовых костей. Отломки фиксировали аппаратом Илизарова. Высота проксимального отломка костей голени от исходной длины сегмента составила 22,9 ± 0,6%. Через 5 суток после операции начинали дистракцию с темпом 1 мм в сутки за 4 приема: в серии 1 (n = 6) – на величину 15,0 ± 0,8%, в серии 2 (n = 6) – на 9,0 ± 0,6% от исходной длины сегмента, что составило 28 суток и 17 суток удлинения соответственно. Фиксацию аппаратом прекращали на основании результатов рентгенографического исследования и клинической пробы.

Для оценки белково-азотистого обмена в сыворотке крови экспериментальных животных определяли концентрацию общего белка, альбуминов и мочевины. Изменения липидного обмена оценивали по уровню триглицеридов и общего холестерина. Углеводный обмен изучали по динамике изменения в крови содержания глюкозы и лактата. Минеральный и водно-солевой обмен оценивали по уровням общего кальция, неорганического фосфата, магния, калия, натрия, хлоридов. Активность перекисного окисления изучали по изменению концентрации продуктов перекисного окисления белков (ПОБ) в крови. Обмен органического компонента костного матрикса оценивали, изучая динамику активности щелочной (ЩФ) и тартратрезистентного изофермента кислой (ТрКФ) фосфатаз. Состояние скелетных мышц оценивали по сывороточной активности креатинкиназы (КК).

Активность ферментов, а также концентрации общего белка, альбуминов, мочевины, глюкозы, лактата, общего холестерина, триглицеридов, общего кальция, неорганического фосфата, магния, в сыворотке крови определяли на автоматическом биохимическом анализаторе Hitachi/BM 902 (F.Hoffmann-La Roche Ltd./ Roche Diagnostics GmbH), используя наборы реагентов фирмы Vital Diagnostics (Россия). Содержание натрия, калия и хлоридов – ионселективным методом на ионселективном блоке биохимического анализатора Hitachi/BM 902. Продукты ПОБ сыворотки крови определяли в белковом осадке по реакции с 2,4-динитрофенилгидразином. Продукты реакции регистрировали при длинах волн 270 нм (ПОБ270), 363 нм и 370 нм. Степень окислительной модификации белков выражали в единицах оптической плотности (ед. оп. пл.) на 1 мг белка.

На графиках результаты представлены в виде средней арифметической и стандартного отклонения. Достоверность различий между показателями, полученными на сроках эксперимента, сравнивали с дооперационными значениями с помощью W-критерия Вилкоксона для независимых выборок.

Эксперименты выполнены в соответствии с требованиями «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» и были одобрены Комитетом по этике ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова».

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты клинического и рентгенографического исследования показали, что формирование опороспособного участка диафиза у животных 1-й серии происходило через 34,4 ± 2,6 суток, во 2-й серии – через 33,6 ± 4,3 суток после прекращения удлинения. Данные сроки фиксации в обеих сериях опытов достоверных отличий между собой не имели. В проанализированных случаях на этапах эксперимента нами также не было выявлено факторов, способствующих нарушению течения репаративного костеобразования (неточная репозиция костных отломков, нестабильная фиксация, сосудистые расстройства, остеопороз и др.). Следовательно, репаративная активность, и, как следствие, клиническая эффективность обеих вариантов удлинения была одинакова.

Далее мы проанализировали биохимические отличия показателей сыворотки крови у животных экспериментальных серий. В обсуждение результатов включены данные только тех показателей, изменения которых в динамике эксперимента имели достоверные отличия относительно исходных дооперационных значений. В частности, нами обнаружено, что у собак 1-й серии наблюдалось значительное повышение активности ЩФ (на 66% относительно дооперационного уровня, $p < 0,05$) в середине периода дистракции (14-е сутки удлинения) и снижение активности ТрКФ во второй половине дистракции (рис. 1, а).

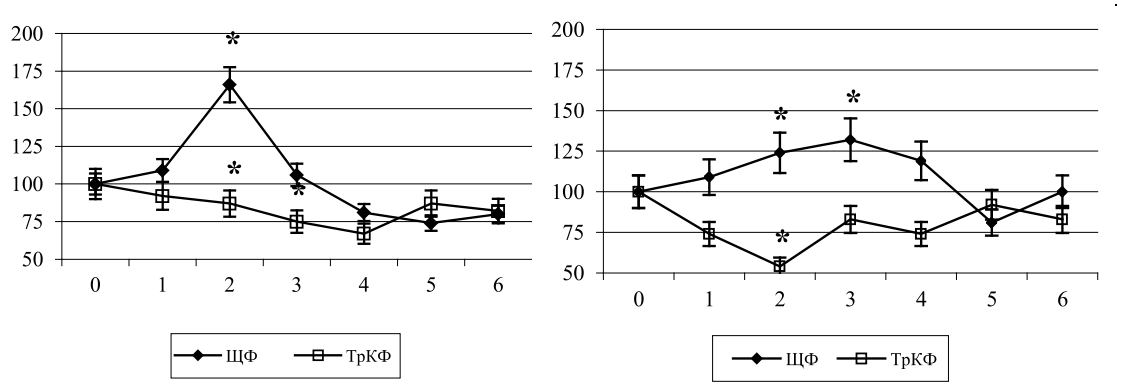
У собак 2-й серии в ходе дистракции также отмечалось увеличение активности ЩФ (рост на 32% относительно дооперационного уровня к концу дистракции, $p < 0,05$) на фоне достоверного снижения активности ТрКФ (рис. 1, б).

Значения показателей водно-солевого обмена у животных обеих серий на сроках эксперимента относительно дооперационных значений статистически значимо не отличались. Концентрация общего кальция в сыворотке крови собак всех серий на сроках эксперимента достоверно от доопера-

ционных значений не отличалась, однако, наблюдалась общая тенденция к снижению уровня данного элемента в крови животных на этапе дистракции и в первой половине фиксации (рис. 2, а).

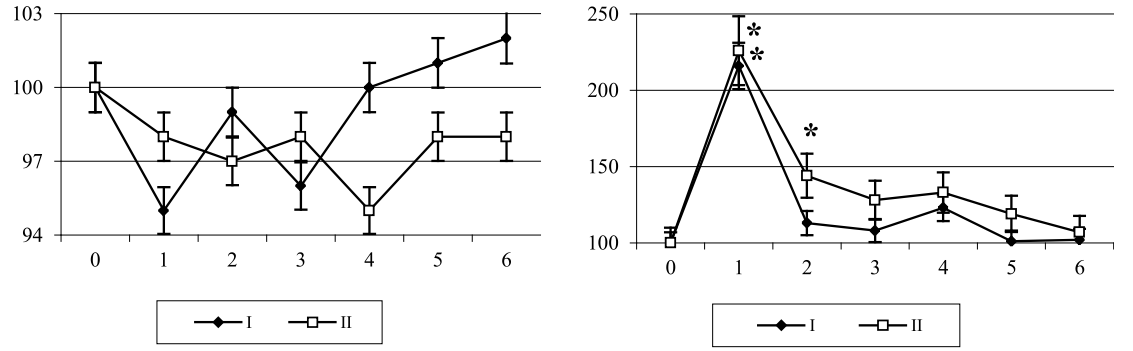
Активность КК – маркера повреждения скелетных мышц у животных обеих экспериментальных серий была достоверно повышена относительно дооперационного уровня в начале дистракции (рис. 2, б). У животных 1-й серии активность данного фермента снижалась к середине дистракции, тогда как у собак 2-й серии активность КК восстанавливалась к дооперационному уровню к концу этапа удлинения.

У собак 1-й серии к середине дистракции наблюдалось снижение концентрации общего белка в сыворотке крови, чего не наблюдалось у животных 2-й серии (рис. 3, а). При этом концентрация окисленно модифицированного белка в крови собак 1-й серии повышалась, а у животных 2-й группы, наоборот, отмечалось снижение уровня ПОБ (рис. 3, б).



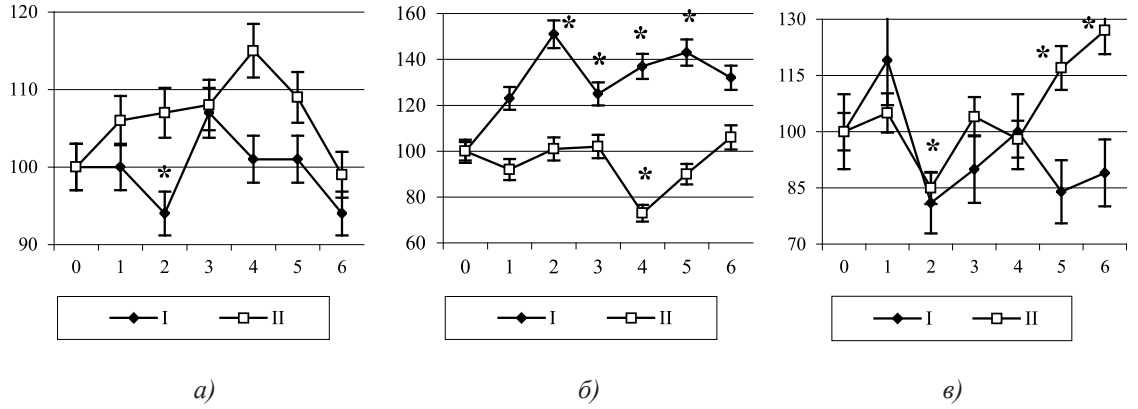
а) *б)*

*Рис. 1. Активность фосфатаз (% от дооперационных значений) в сыворотке крови собак 1-й (а) и 2-й (б) серий в динамике эксперимента. Примечание: * – достоверность различий с дооперационными значениями при уровне значимости p < 0,05. По оси OX сроки эксперимента: 0 – до операции; 1 – начало дистракции; 2 – середина дистракции; 3 – конец дистракции; 4 – 15-е сутки фиксации; 5 – конец фиксации; 6 – 30-е сутки без аппарата*



а) *б)*

*Рис. 2. Концентрация общего кальция (а) и активность креатинкиназы (б) (% от дооперационных значений) в сыворотке крови собак I и II серии в динамике эксперимента. Примечание: * – достоверность различий с дооперационными значениями при уровне значимости p < 0,05. По оси OX сроки эксперимента: 0 – до операции; 1 – начала дистракции; 2 – середина дистракции; 3 – конец дистракции; 4 – 15-е сутки фиксации; 5 – конец фиксации; 6 – 30-е сутки без аппарата*



а) *б)* *в)*

*Рис. 3. Концентрация общего белка (а), продуктов ПОБ270 (б) и триглицеридов (в) (% от дооперационных значений) в сыворотке крови собак I и II серии в динамике эксперимента. Примечание: * – достоверность различий с дооперационными значениями при уровне значимости $p < 0,05$. По оси ОХ сроки эксперимента: 0 – до операции; 1 – начала дистракции; 2 – середина дистракции; 3 – конец дистракции; 4 – 15-е сутки фиксации; 5 – конец фиксации; 6 – 30-е сутки без аппарата*

Концентрация триглицеридов в сыворотке крови животных обеих групп относительно дооперационных показателей снижалась в середине дистракции (рис. 3, в). У собак 2-й серии уровень триглицеридов восстанавливался до нормы и даже повышался на этапе фиксации. Концентрация глюкозы, лактата, альбумина и мочевины в сыворотке крови животных обеих групп достоверно относительно дооперационных значений на сроках эксперимента не отличалась.

В некоторых работах показано, что у пациентов процесс удлинения костей голени на 10% и на 17% не было отмечено значимых изменений системных и местных реакций организма, тогда как при удлинении на 20% и более последние выражены сильнее [2].

В нашей работе были получены аналогичные результаты. При сравнительном анализе данных биохимического исследования сыворотки крови собак экспериментальных серий не выявлено значительных отличий метаболических процессов в зависимости от величины удлинения. Единственные различия касались белкового обмена: рост величины удлинения у собак 1-й серии сопровождался снижением уровня общего белка и увеличением интенсивности его перекисного окисления. Обратимость наблюдаемых изменений, отсутствие серьезных нарушений других звеньев обмена, а также схожие сроки фиксации у собак 1-й серии (удлинение костей голени на 15% от исходной длины сегмента) относительно животных 2-й серии позволяет сделать заключение о возможности применения данной методики удлинения после остеотомии костей голени в верхней трети.

Выводы

Таким образом, анализ литературных данных и результаты проведенного исследования показали, что активность остеорепарации, состояние мягких тканей и системный уровень метаболизма в ходе дистракционного остеосинтеза костей голени по Илизарову после остеотомии на уровне верхней трети и удлинении на величину от 9% до 15% от исходной длины сегмента не имеют существенных отличий. Об этом косвенно свидетельствует отсутствие достоверной разницы сроков аппаратной фиксации при изучаемых величинах удлинения в эксперименте.

Список литературы

1. Абу Немер Джамаль А.М. Способ остеотомии костей голени при внутрикостном дистракционном остеосинтезе / А.М. Абу Немер Джамаль // Таврический медико-биологический вестник. – 2010. – том 13, № 3. – С. 63–68.

2. Изменения биохимических показателей сыворотки крови при удлинении голени в проксимальной трети методом чрескостного остеосинтеза по Илизарову / К.И. Новиков, М.В. Стогов, С.О. Мурадисинов, Э.С. Колесникова, Е.А. Киреева // Гений ортопедии. – 2015. – № 1. – С. 40–42.

3. Особенности энергетического метаболизма скелетных мышц собак в условиях удлинения голени по Илизарову / М.В. Стогов, Л.С. Кузнецова, С.Н. Лунева, С.А. Ерофеев // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. – 2002. – № 6. – С. 176–179.

4. Прогноз длительности созревания дистракционного регенерата / Н.В. Тушина, М.В. Стогов, Н.А. Кононович, А.А. Еманов // Травматология и ортопедия России. – 2012. – № 1. – С. 49–54.

5. Bone lengthening in children: how to predict the complications rate and complexity? / Antoci V, Ono CM, Antoci V Jr, Raney EM. // J Pediatr Orthop. – 2006. – Sep-Oct; 26(5) – P. 634–40.

6. Dinah AF. Predicting duration of Ilizarov frame treatment for tibial lengthening. // Bone. – 2004. Vol. 34(5). – P. 845–8.

7. Tissue response during monofocal and bifocal leg lengthening in patients / Aarnes G.T., Steen H., Kristiansen L.P., Ludvigsen P., Reikerås O. // J Orthop Res. – 2002. – v. 20. – № 1. – P. 137–141.

8. Tsujimura T., Kinoshita M., Abe M. Response of rabbit skeletal muscle to tibial lengthening // J Orthop Sci. – 2006. – № 11. – P. 185–190.