

УДК 612.11-002:599.742.1-092.9:616.718.5/6-001.5-089.227.84

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ У СОБАК ПРИ УДЛИНЕНИИ КОСТЕЙ ГОЛЕНИ ПО ИЛИЗАРОВУ

Тушина Н.В., Талашова И.А., Кононович Н.А., Попков А.В.

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

В сыворотке крови беспородных собак, которым проводили удлинение костей голени методом чрескостного дистракционного остеосинтеза, определяли концентрацию общего белка, белковых фракций, С-реактивного белка, сиаловых кислот. Животные были разделены на 3 группы: в 1-й группе – собакам после закрытой флекссионной остеоклазии проводили удлинение костей голени по Илизарову с режимом удлинения 1 мм/сутки за 4 приема вручную, во 2-й – собакам проводили удлинение костей голени по Илизарову с режимом удлинения 1,5 мм/сутки за 6 приемов вручную, в 3-й – собакам проводили удлинение костей голени по Илизарову с режимом удлинения 3 мм/сутки в автоматическом режиме за 120 приемов. У экспериментальных животных всех трех групп обнаружено увеличение уровня сиаловых кислот, общего белка и глобулиновых фракций на фоне гипоальбуминемии. На основании полученных результатов можно сделать вывод: воспалительная реакция – обязательный компонент дистракции, а ее интенсивность может определять дальнейший характер и исход репаративных процессов.

Ключевые слова: дистракционный остеосинтез, метод Илизарова, биохимия крови, воспалительная реакция

BIOCHEMICAL MARKERS OF INFLAMMATION IN DOGS DURING ILIZAROV TIBIAL LENGTHENING

Tushina N.V., Talashova I.A., Kononovich N.A., Popkov A.V.

FSBI «Russian Ilizarov Scientific Center Restorative Traumatology and Orthopaedics»
of Minzdrav of Russia, Kurgan, e-mail: office@ilizarov.ru

In blood serum of mongrel dogs, which underwent tibial lengthening by the method of transosseous distraction osteosynthesis, concentration of total protein, protein fractions, C-reactive protein, sialic acids were studied. The animals were divided into 3 groups: in the 1st group – the dogs after closed flexion osteoclasia underwent Ilizarov tibial lengthening at the rate 1 mm/day subdivided into 4 movements manually, in the 2nd group – the dogs underwent Ilizarov tibial lengthening at the rate 1,5 mm/day subdivided into 6 movements manually, in the 3rd – the dogs underwent Ilizarov tibial lengthening at the rate 3 mm/day subdivided into 120 movements in automatic mode. In experimental animals of all three groups we discovered increase of the level of sialic acids, total protein and globulin fractions secondary to hypoalbuminemia. Based on the results we can conclude: inflammatory reaction is a mandatory component of distraction, and its intensity can determine further character and outcome of reparative processes.

Keywords: distraction osteosynthesis, Ilizarov method, blood biochemistry, inflammatory reaction

Удлинение костей конечностей остается одним из основных разделов реабилитации больных с аномалиями развития, последствиями травм и ортопедическими заболеваниями скелета [3]. Наиболее часто для оперативного удлинения костей конечностей используется метод чрескостного дистракционного остеосинтеза по Илизарову.

Способы уравнивания длины конечностей по методу Илизарова обеспечивают восстановление анатомии, строения и функции костного органа, но требуют много времени для трансформации сформировавшегося дистракционного регенерата в новую кость. Общий срок лечения больных в зависимости от величины удлинения колеблется от 4 до 18 месяцев [5].

В связи с этим в последние годы актуальна потребность в дополнительных воздействиях на процесс дистракционного костеобразования с целью ускорения консолидации, дифференцировки и созревания регенератов с последующим сокращением сроков лечения больных,

а также для усиления вялотекущей регенерации у некоторых категорий пациентов.

Исследуются возможности использования новых режимов дистракции, в частности применение высокочастотной круглосуточной автодистракции, которая позволяет увеличивать суточный темп дистракции до 3,0 мм [1, 4, 6].

Цель исследования – оценить динамику общего и С-реактивного белка, белковых фракций, сиаловых кислот как маркеров воспаления, в сыворотке крови собак, которым проводили оперативное удлинение костей голени.

Материал и методы исследования

Биохимические показатели изучали в сыворотке крови 38 беспородных собак (возраст 1–3 года). Животные были разделены на три группы. В 1-й группе – 19 взрослым беспородным собакам после закрытой флекссионной остеоклазии проводили удлинение костей голени по Илизарову с режимом удлинения 1 мм/сутки за 4 приема вручную в течение 28 суток, во 2-й группе – 9 взрослым беспородным собакам после закрытой флекссионной остеоклазии проводили удли-

нение костей голени по Илизарову с режимом удлинения 1,5 мм/сутки за 6 приемов вручную, в 3-й группе – 10 взрослым беспородным собакам после закрытой флекссионной остеоклазии проводили удлинение костей голени по Илизарову с режимом удлинения 3 мм/сутки в автоматическом режиме за 120 приемов.

В сыворотке крови животных в динамике определяли концентрацию общего белка, белковых фракций, С-реактивного белка, уровень сиаловых кислот (СК). Биохимические показатели сравнивали со значениями, полученными до начала эксперимента.

Концентрацию общего белка, С-реактивного белка в сыворотке крови определяли на автоматическом биохимическом анализаторе Hitachi/ВМ 902 (Япония) (регистрационный № МЗ РФ 2000/564), используя наборы реагентов фирмы Vital Diagnostics (Россия). Содержание сиаловых кислот – наборами реагентов «Сиалотест 100» (Россия). Электрофоретическое разделение белковых фракций проводили на системе Paragon (Beckman, США) (регистрационный № 2005/282) с использованием реактивов и пластин этой же фирмы.

На проведение экспериментального исследования получено разрешение комитета по этике при ФГБУ «РНИЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России.

Результаты в таблицах представлены в виде средней арифметической и стандартного отклонения. Би-

химические показатели, полученные на сроках эксперимента, сравнивали с дооперационными значениями, достоверность различий при этом оценивали с помощью W-критерия Вилкоксона для независимых выборок. Достоверность межгрупповых различий на сроках наблюдения определяли с помощью непараметрического критерия Крускала – Уоллиса, с последующим множественным сравнением с использованием критерия Данна.

Результаты исследования и их обсуждение

В сыворотке крови экспериментальных животных была изучена концентрация общего белка и его фракций (табл. 1).

Концентрация общего белка у животных всех групп на разных этапах эксперимента была увеличена: уровень общего белка в сыворотке крови собак 1-й группы был достоверно выше дооперационных значений в конце distraction (74 ± 5 г/л, p < 0,05); во 2-й группе – в середине и в конце distraction, соответственно 74 ± 5 г/л и 74 ± 4 г/л (p < 0,05); в 3-й группе – в середине distraction и во время периода фиксации.

Таблица 1

Концентрация общего белка и белковых фракций (г/л) в сыворотке крови собак при удлинении костей голени в различных режимах ($X_i \pm \sigma$)

Срок	Группа	Общий белок	Альбумин	Глобулины			
				$\alpha 1$	$\alpha 2$	β	γ
До операции	1	69 ± 7	37 ± 3	2,4 ± 0,8	6,7 ± 1,1	14,6 ± 2,9	7,7 ± 2,7
	2	68 ± 2	38 ± 2	2,4 ± 0,6	6,5 ± 1,2	14,0 ± 1,1	7,4 ± 1,9
	3	69 ± 5	37 ± 4	2,5 ± 0,8	7,1 ± 1,8	14,8 ± 1,5	7,3 ± 2,5
Начало distraction	1	69 ± 6	30 ± 6*	4,8 ± 1,1*	10,2 ± 1,5*	16,1 ± 4,9	6,7 ± 1,4
	2	66 ± 6	31 ± 3*	4,7 ± 1,3*	9,2 ± 0,7*	14,9 ± 2,1	7,5 ± 1,7
	3	71 ± 6	32 ± 4*	3,7 ± 0,7*	10,4 ± 1,9*	16,2 ± 1,3	8,1 ± 2,4
Середина distraction	1	72 ± 8	33 ± 4*	3,5 ± 1,2	8,8 ± 1,6* ^{2,3}	19,7 ± 3,1*	8,3 ± 1,7
	2	74 ± 5*	33 ± 4*	3,0 ± 1,5	11,7 ± 1,8* ¹	16,1 ± 2,0*	9,1 ± 1,6*
	3	74 ± 5*	30 ± 5*	4,2 ± 1,9*	11,3 ± 1,6* ¹	18,8 ± 2,5*	8,2 ± 1,3
Конец distraction	1	74 ± 5*	32 ± 2*	7,2 ± 3,1* ^{2,3}	9,4 ± 1,2* ³	18,3 ± 3,0*	10,1 ± 2,6
	2	74 ± 4*	33 ± 3*	3,0 ± 1,0 ¹	10,9 ± 1,6*	18,1 ± 1,8*	11,7 ± 1,6*
	3	72 ± 3	30 ± 3*	3,1 ± 1,1 ¹	12,4 ± 2,0* ¹	16,7 ± 2,2	10,0 ± 2,1*
15-е сутки фиксации	1	72 ± 5	34 ± 2*	2,1 ± 0,1 ²	8,3 ± 1,0*	18,2 ± 3,4*	10,0 ± 1,0
	2	71 ± 4	34 ± 4*	4,2 ± 1,3* ¹	9,8 ± 2,0*	16,2 ± 2,1*	9,0 ± 1,2
	3	76 ± 5*	31 ± 3*	2,8 ± 1,1	10,3 ± 1,9*	18,6 ± 3,9*	11,6 ± 2,9*
Конец фиксации	1	74 ± 7	36 ± 3 ³	2,0 ± 0,3	8,5 ± 2,4	17,8 ± 6,0	10,3 ± 4,4
	2	72 ± 6	35 ± 5*	3,3 ± 0,7	9,5 ± 2,1*	17,2 ± 2,4*	7,7 ± 1,4
	3	76 ± 6*	32 ± 6* ¹	2,0 ± 0,6	9,8 ± 1,3*	19,3 ± 1,9*	10,9 ± 0,9*
30-е сутки после снятия аппарата	1	70 ± 6	41 ± 2*	2,3 ± 0,1	5,2 ± 0,4*	14,8 ± 3,3	6,9 ± 1,3
	2	69 ± 3	39 ± 2	2,2 ± 0,5	7,0 ± 0,7	14,0 ± 2,1	7,6 ± 1,1
	3	73 ± 4	38 ± 4	3,3 ± 1,3	6,8 ± 0,6	15,2 ± 1,2	7,6 ± 1,3

Примечания:

* – достоверность различий с дооперационными значениями при уровне значимости p < 0,05; верхний индекс – достоверность различий с указанной группой при уровне значимости p < 0,05. 1-я группа – удлинение 1 мм в сутки за 4 приема; 2-я группа – удлинение 1,5 мм в сутки за 6 приемов; 3-я группа – удлинение 3 мм в сутки за 120 приемов в автоматическом режиме.

На фоне роста уровня общего белка на протяжении всего периода наблюдения у собак всех групп была отмечена гипоальбуминемия. Лишь в первой группе в конце фиксации концентрация альбуминов восстанавливалась до значений дооперационного уровня. Рост уровня общего белка у экспериментальных животных, при выраженной гипоальбуминемии, происходил за счет увеличения глобулиновых фракций. Во всех трех группах достоверный рост относительно исходных значений $\alpha 1$ -глобулинов, представленных преимущественно $\alpha 1$ -антитрипсином ($\alpha 1$ -АТ), был отмечен уже в начале distraction. Известно, что $\alpha 1$ -АТ играет важную регуляторную роль в противовоспалительном ответе, являясь основным инактиватором сериновых протеаз в плазме человека, ингибируя трипсин, химотрипсин, плазмин, тромбин и др. Белок действует как первичный ингибитор эластазы полиморфоядерных лейкоцитов (PMN-эластаза) и секретируется во время воспаления, снижая протеолитическую активность PMN-эластазы в месте воспаления [2]. У собак 2-й группы это увеличение было максимальным по сравнению с другими сроками наблюдения. Максимальный рост концентрации $\alpha 1$ -глобулинов у собак 1-й группы отмечался в конце distraction, у животных 3-й группы – в середине distraction.

Концентрация $\alpha 2$ -глобулинов, состоящих из $\alpha 2$ -макроглобулина ($\alpha 2$ -МГ) и гаптоглобина, также достоверно возрастала у собак всех групп одновременно, в начале distraction, и сохранялась высокой до середины фиксации; $\alpha 2$ -МГ – ингибитор всех известных классов эндопептидаз (серин-, цистеин-, аспаргатметаллопротеиназ); как острофазный белок защищает эндотелий от действия протеаз.

Гаптоглобин – специфический белок (острофазовый протеин, транспротейн), участвующий в связывании с гемоглобином и тем самым предохраняющий его от выделения с мочой, что сохраняет очень ценное для организма железо. Усиление гемолиза эритроцитов сопровождается падением уровня гаптоглобина крови, тогда как стрессовые, воспалительные и некробиотические состояния, наоборот, приводят к возрастанию его содержания. Увеличение уровня гаптоглобина в крови отмечается при острых воспалительных процессах, опухолях, нефротическом синдроме [7].

При этом можно отметить определенную тенденцию: на сроках distraction

и фиксации уровень $\alpha 2$ -глобулинов крови был повышен в ряду $1 < 2 < 3$ группы. У собак 2-й и 3-й групп восстановление уровня $\alpha 2$ -глобулинов до исходных значений отмечено на 30-е сутки после снятия аппарата.

Бета-глобулины (трансферрин, С3- и С4- компоненты комплемента) также являются острофазными белками. Содержание β -глобулинов в крови животных всех групп достоверно возрастало с середины этапа distraction и сохранялось до конца фиксации.

Уровень γ -глобулинов у собак 1-й группы в течение всего эксперимента достоверно от исходных значений не отличался. Во 2-й группе статистически значимое увеличение γ -глобулинов по сравнению с дооперационным уровнем было в середине и конце distraction, а в 3-й группе – в конце distraction и во время фиксации.

Таким образом, представленные данные говорят о развитии диспротеинемии в ходе оперативного удлинения костей голени на фоне гипоальбуминемии и наличии достаточно выраженной воспалительной реакции организма животных на удлинение, причем не зависящей от режима distraction.

Для оценки воспалительной реакции дополнительно в сыворотке крови экспериментальных животных мы определяли концентрацию С-реактивного белка и сиаловых кислот (табл. 2).

Уровень С-реактивного белка был максимально увеличен у животных всех групп в начале distraction. Затем в 1-й группе его содержание постепенно снижалось и к концу фиксации было в пределах дооперационных значений. У животных 2-й и 3-й групп отмечалось повторное резкое увеличение концентрации С-реактивного белка, соответственно в конце фиксации и на 15-е сутки фиксации. В безаппаратном периоде уровень С-реактивного белка у животных всех групп был в пределах дооперационных значений. Такое наблюдение однозначно свидетельствовало в пользу того положения, что поддержание определенного уровня воспалительной реакции – обязательный компонент distraction, а интенсивность первичной воспалительной реакции (рост α -глобулинов и С-реактивного белка) может определять дальнейший характер репаративных процессов, поэтому определение данных показателей может использоваться для прогноза течения и мониторинга distractionного остеогенеза.

Таблица 2

Концентрация С-реактивного белка и сиаловых кислот в сыворотке крови собак при удлинении костей голени в различных режимах ($X_1 \pm \sigma$)

Срок	Группа	СРБ, мг/л	СК, ммоль/л
До операции	1,0×4	0,1 ± 0,01	3,11 ± 0,46
	1,5×6	0,1 ± 0,01	3,11 ± 0,21
	3,0×120	0,1 ± 0,01	3,07 ± 0,44
Начало distraction	1,0×4	3,5 ± 0,28*	3,81 ± 0,40*
	1,5×6	2,7 ± 0,22* ¹	3,90 ± 0,78*
	3,0×120	2,9 ± 0,23*	4,02 ± 0,67*
Середина distraction	1,0×4	1,8 ± 0,14*	3,56 ± 0,40* ²
	1,5×6	1,5 ± 0,12*	4,59 ± 0,18* ¹
	3,0×120	1,7 ± 0,14*	3,80 ± 0,44*
Конец distraction	1,0×4	2,0 ± 0,16*	3,86 ± 0,26* ²
	1,5×6	1,9 ± 0,15*	4,31 ± 0,11* ¹
	3,0×120	1,7 ± 0,14*	4,30 ± 0,48*
15-е сутки фиксации	1,0×4	0,6 ± 0,05* ^{2,3}	4,14 ± 0,66*
	1,5×6	1,4 ± 0,11* ^{1,3}	3,90 ± 0,58*
	3,0×120	2,7 ± 0,22* ^{1,2}	3,93 ± 0,52*
Конец фиксации	1,0×4	0,2 ± 0,01 ²	4,00 ± 0,35*
	1,5×6	2,5 ± 0,18* ^{1,3}	3,59 ± 0,49
	3,0×120	0,2 ± 0,01 ²	3,72 ± 0,38*
30-е сутки после снятия аппарата	1,0×4	0,1 ± 0,01	3,79 ± 0,30*
	1,5×6	0,1 ± 0,01	3,90 ± 0,56*
	3,0×120	0,1 ± 0,01	3,07 ± 0,57

Примечания: * – достоверность различий с дооперационными значениями при уровне значимости $p \leq 0,05$; верхний индекс – достоверность различий с указанной группой при уровне значимости $p \leq 0,05$. 1,0×4 – 1-я группа, удлинение 1 мм в сутки за 4 приема; 1,5×6 – 2-я группа, удлинение 1,5 мм в сутки за 6 приемов; 3,0×120 – 3-я группа, удлинение 3 мм в сутки за 120 приемов в автоматическом режиме.

В ходе исследования нами было обнаружено, что концентрация СК у животных 1-й группы была достоверно высокой на протяжении всего эксперимента, при этом максимум отмечался на 15-е сутки фиксации, составляя $4,14 \pm 0,66$ ммоль/л, что на 33 % ($p \leq 0,05$) превышало дооперационный уровень $3,11 \pm 0,46$ ммоль/л.

У собак 2-й группы достоверно высокий уровень СК, как и у животных 1-й группы, был отмечен с начала периода distraction. Максимальная концентрация СК у собак 2-й группы была зафиксирована в середине этапа distraction – $4,59 \pm 0,18$ ммоль/л, что на 48 % ($p \leq 0,05$) превышало исходные значения. Значимое увеличение уровня СК у собак

данной группы сохранялось и после снятия аппарата.

Уровень СК у собак 3-й группы, как и в других группах, был достоверно высоким с начала периода distraction. Максимальное значение данного метаболита было зарегистрировано в конце distraction $4,30 \pm 0,48$ ммоль/л, что на 40 % ($p \leq 0,05$) превышало дооперационный уровень, на 30-е сутки после снятия аппарата концентрация СК статистически значимо от нормы не отличалась.

У животных с темпом удлинения 1,5 и 3 мм в сутки наблюдалась гиперактивация воспалительных и защитных механизмов, что приводило к нарастанию интоксикации и быстрому истощению их резервов.

Выводы

Таким образом, в результате эксперимента выявлено у животных всех трех групп во время этапа distraction увеличение концентрации в сыворотке крови С-реактивного белка, сиаловых кислот, а также общего белка, за счет роста уровня глобулинов на фоне гипоальбуминемии.

Проведенное исследование позволяет сделать следующее заключение: поддержание определенного уровня воспалительной реакции – обязательный компонент distraction, а интенсивность первичной воспалительной реакции может определять дальнейший характер и исход репаративных процессов, в связи с чем определение показателей воспаления может использоваться для прогноза течения и мониторинга distractionного остеогенеза.

Список литературы

1. Биохимические исследования сыворотки крови и скелетных мышц при удлинении голени аппаратом Илизарова с темпом distraction 3 мм в сутки в автоматическом режиме / С.А. Ерофеев, С.Н. Лунева, М.В. Стогов, Н.В. Тушина // Вестник новых медицинских технологий. – 2005. – № 3–4. – С. 89–91.
2. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике (в 2-х томах). – Минск, 2000. – 463 с.
3. Каплунов О.А. Косметическое увеличение роста // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 2002. – № 3. – С. 27–33.
4. 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.
5. Попков А.В. Оперативное удлинение нижних конечностей у взрослых больных методом Илизарова: дис. ... д-ра. мед. наук в форме науч. докл. – Иркутск, 1992. – 63 с.
6. Шевцов В.И. Удлинение конечности в автоматическом режиме / В.И. Шевцов, А.В. Попков // Ортопедия, травматология, протезирование. – 2002. – № 4. – С. 403–412.
7. Электрофорез в клинической лаборатории. I. – М.: Реафарм, 2006. – 160 с.