

УДК 577.12:616-018.2:616.71-002.3-089.168-06

МАГОМЕДОВ С., ПОЛИЩУК Л.В., КУЗУБ Т.А., КОЛОВ Г.Б., ГОРДИЙ А.С.
ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», г. Киев, Украина

МЕТАБОЛИЗМ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ У БОЛЬНЫХ С ГНОЙНЫМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ ПОСЛЕ ОСТЕОСИНТЕЗА ОТЛОМКОВ ДЛИННЫХ КОСТЕЙ

Резюме. Остеосинтез (*osteosynthesis*; греч. *osteon* (кость) + *synthesis* (соединение)) — это хирургическое соединение отломков костей в правильном положении с целью стабильной фиксации до полной их консолидации (костного сращения) и восстановления целостности и функции кости.

Обследовано 34 больных в возрасте 17–58 лет с гнойными осложнениями после остеосинтеза при переломах длинных костей, в том числе у 29 мужчин и 5 женщин. В сыворотке крови больных определяли следующие биохимические показатели: активность коллагеназы, фракции гидроксипролина, гликозаминогликаны, кальций, фосфор и электролиты (Na^+ , K^+ , Ca^{++}).

Результаты исследования показывают, что у больных с гнойными осложнениями после остеосинтеза длинных костей при рецидиве воспалительного процесса усиливается катаболическая фаза метаболизма основных компонентов органической основы костной ткани. Об этом свидетельствуют показатели, отражающие синтетическую и катаболическую фазы метаболизма основных компонентов соединительной ткани — коллагена и гликозаминогликанов. Данные, полученные при исследовании минерального обмена, отражают нарушения минерализации костной ткани, что подтверждается показателями содержания общего кальция, ионизированного кальция, фосфора и электролитов.

Ключевые слова: гидроксипролин, гликозаминогликаны, коллагеназа, кальций, фосфор, электролиты.

Введение

Остеосинтез (*osteosynthesis*; греч. *osteon* (кость) + *synthesis* (соединение)) — это хирургическое соединение отломков костей с целью стабильной фиксации, полной консолидации (костное сращение) и восстановления целостности и функции кости. Остеосинтез применяется при лечении свежих, несросшихся, неправильно сросшихся отломков и ложных суставов [1].

В нашем государстве ежегодно травмируется около 2 млн взрослого населения и более 300 тыс. детей. Среди главных причин смертности и первичной инвалидности в Украине последствия травм стойко занимают третье место, уступая лишь сердечно-сосудистым и онкологическим заболеваниям. Ежегодные экономические затраты государства, связанные с травмами, составляют более 5,2 млрд грн. Внедрение мировых стандартов, классификаций и соответствующих диагностических и хирургических технологий, а также предоставление высокоспециализированной травматологической помощи предусматривают специальную подготовку ортопедов-травматологов и операционных се-

стер для выполнения остеосинтеза на современном уровне [1].

Наиболее информативными биохимическими показателями гнойного воспалительного патологического процесса и регенерации костной ткани являются изменения обмена коллагена и гликозаминогликанов (ГАГ), составляющих органической основы костного матрикса [5].

Анализ данных литературы, посвященной изучению коллагеназы при различных патологических состояниях, показывает, что увеличение активности этого фермента сопровождается повышением концентрации свободной фракции гидроксипролина (ГП), который образуется при распаде основного белка органической основы соединительной ткани. Наличие в коллагене гидроксипролина, который не встречается в других белках, позволяет рассматривать его в качестве природной метки и

© Магомедов С., Полищук Л.В., Кузуб Т.А., Колов Г.Б.,
Гордий А.С., 2016

© «Травма», 2016

© Заславский А.Ю., 2016

проследить метаболизм этого белка путем анализа продуктов обмена в моче и сыворотке крови. Распад этой аминокислоты на свободную и протеинсвязанную фракции и их определение в жидкостях организма дают возможность судить о развитии синтетической и катаболической фаз метаболизма белка коллагена в условиях гнойных осложнений при переломах костей. Экспериментальными исследованиями доказано, что свободная фракция гидроксипролина, которая образуется при распаде коллагена, не может быть повторно включена в метаболические процессы в отличие от других аминокислот (за исключением гидроксисилизана). Поэтому отклонение от нормальных величин концентрации свободной фракции гидроксипролина позволяет судить о катаболизме коллагена, то есть оно является биохимическим маркером резорбции костной и хрящевой тканей, поскольку основным белком этих тканей является коллаген [7].

Нами исследован метаболизм коллагена, гликозаминогликанов и минеральный обмен в биологических жидкостях и тканях больных с инфекционными осложнениями после остеосинтеза отломков длинных костей [6, 9].

Активность коллагеназы возрастает при опухолях и воспалительных процессах, таких как ревматоидный артрит, остеомиелит, несовершенный остеогенез, болезнь Педжета, при которых нарушения метаболизма коллагена сопровождаются ее изменением [5].

При старении организма уменьшается растворимость коллагена и эластина, увеличивается количество поперечных связей в белках, снижается содержание протеогликанов и гликозаминогликанов в тканях. Характерно также общее уменьшение клеточных элементов соединительной ткани. Нарушения метаболизма соединительной ткани играют важную роль и в развитии многих хронических заболеваний. Так, избыточный синтез коллагена наблюдается при фиброзных процессах в легких, печени, нарушении регенерации при заживлении ран (коллоидные рубцы). Различные нарушения обмена веществ, очевидно, лежат в основе диффузных заболеваний соединительной ткани [7, 8].

Значение минеральных веществ для нормального функционирования костной ткани трудно переоценить. Основными структурными компонентами минерального состава костной ткани является кальций и фосфор. Концентрация этих элементов особенно важна в детском возрасте. При интенсивном росте потребность детского организма в кальции и фосфоре большая и любые нарушения метаболизма этих элементов приводят к развитию ортопедических заболеваний [4].

Цель исследования — изучить метаболические нарушения обмена основных компонентов органической основы костной ткани в сыворотке крови больных с гнойными осложнениями после остеосинтеза отломков длинных костей при переломах.

Для достижения поставленной цели нами были изучены:

- активность коллагеназы;
- изменения содержания фракций гидроксипролина;
- содержание кальция, фосфора и электролитов (Na^+ , K^+ , Ca^{++});
- содержание гликозаминогликанов.

Материалы и методы

Обследовано 34 больных в возрасте 17–58 лет с гнойными осложнениями после остеосинтеза длинных костей при переломах у 29 мужчин и 5 женщин. Средний возраст больных составил $38,0 \pm 0,3$ года. Сыворотку крови отделяли на центрифуге при 1500 об/мин. В сыворотке крови больных определяли следующие биохимические показатели: активность коллагеназы, фракции гидроксипролина, гликозаминогликаны, кальций, фосфор и электролиты (Na^+ , K^+ , Ca^{++}). Контролем служили показатели, полученные у практически здоровых доноров в возрасте 18–50 лет.

Для определения этих биохимических показателей использованы следующие методики: активность коллагеназы определяли методом S. Lindy, J. Halme [11]; гликозаминогликаны в сыворотке крови — орциновым методом по С.А. Кляцкину и Р.И. Лифшиц [3]; фракции гидроксипролина выделяли по S. Frey из сыворотки крови [10], а гидроксипролин в них определяли по методу H. Stegemann [12].

Содержание кальция в сыворотке крови определяли с помощью набора реактивов фирмы «Ольвекс диагностикум». Принцип метода заключается в том, что при взаимодействии ионов кальция с хромогеном Арсеназо III образуется окрашенный комплекс, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации ионов кальция в пробе [2].

Неорганический фосфор определяли с помощью набора фирмы «Ольвекс диагностикум». Метод основан на свойстве фосфат-ионов образовывать с молибдатом аммония фосфорно-молибдатный комплекс, оптическая плотность которого при длине волны 340 нм пропорциональна концентрации неорганического фосфора в пробе исследуемого [2]. Электролиты определяли с помощью автоматического анализатора электролитов Easylyte (Medica, США) Na/K/Ca/pH — с использованием набора реактивов. Полученные биохимические данные обработаны статистически по Стьюденту.

Результаты исследования

Анализируя полученные результаты, выявили, что у больных с инфекционными осложнениями после остеосинтеза отломков длинных костей активность коллагеназы сыворотки крови достигает 211 % относительно нормы, а в абсолютных

цифрах это составляет $6,64 \pm 0,07$ мкмоль/л·ч (норма $3,14 \pm 0,04$ мкмоль/л·ч).

Наряду с повышением активности коллагеназы — фермента, который участвует в катаболической фазе метаболизма коллагена, увеличивается содержание свободной фракции гидроксипролина — биохимического маркера распада белка коллагена. В то же время биохимический маркер синтетической фазы метаболизма коллагена, протеинсвязанный гидроксипролин, находится в пределах нормы. Так, свободная фракция ГП составляет 150 % от нормы, в абсолютных цифрах — $8,71 \pm 0,09$ мкмоль/л (норма $5,75 \pm 0,21$ мкмоль/л), а протеинсвязанная фракция составляет 101 % относительно нормы (норма $11,90 \pm 0,29$ мкмоль/л). При анализе данных, отражающих содержание межклеточного вещества протеогликана, а именно углеводного состава — гликозаминогликанов, наблюдали, что содержание ГАГ в сыворотке крови выше нормы и составляет 158 %, а в абсолютных цифрах это составляет $0,049 \pm 0,009$ г/л (норма $0,031 \pm 0,003$ г/л) (табл. 1, рис. 1).

Концентрация электролитов (K^+ , Ca^{++}) несколько выше физиологической нормы — 103 %, исключая содержание Na^+ , который составляет 96 % от нормы, а в абсолютных цифрах $136,27 \pm 0,63$ ммоль/л (норма $142,0 \pm 4,0$ ммоль/л). Ионизированный кальций, как наиболее физиологически активный микроэлемент, проявляет себя в функциональной активности скелетных, сердечных и гладких мышц. Многочисленными физиологическими и биохимическими исследованиями достоверно доказана регуляторная роль кальция в обеспечении энергетических процессов в мышцах [7].

Данные, полученные при исследовании минерального обмена, свидетельствуют о том, что

концентрация фосфора в сыворотке крови превышает физиологическую норму, характерную для здоровых людей, и составляет $2,03 \pm 0,04$ ммоль/л, а в процентном отношении к норме — 157 %. Показатели общего кальция снижены и составляют $1,97 \pm 0,04$ ммоль/л, а в процентном отношении — 83 %. Учитывая полученные данные, отражающие концентрацию кальция и фосфора в сыворотке крови у обследованных больных, можно сказать, что в минеральном обмене особых изменений по сравнению с физиологическими показателями не наблюдается, но при этом отмечается тенденция к росту, превышающая норму (табл. 2, рис. 2).

Обсуждение

Результаты исследования свидетельствуют о том, что у больных с гнойными осложнениями после остеосинтеза отломков длинных костей усиливается катаболическая фаза метаболизма основных компонентов органической основы костной ткани. Об этом свидетельствуют показатели, отражающие синтетическую и катаболическую фазы обмена основных компонентов соединительной ткани, коллагена и ГАГ.

Одновременно с ростом свободной фракции гидроксипролина повышается активность фермента коллагеназы (превышает норму в 2 раза, а в абсолютных цифрах это составляет $6,64 \pm 0,07$ мкмоль/л·ч при норме $3,14 \pm 0,04$ мкмоль/л·ч), которая участвует в катаболической фазе метаболизма основного белка костной ткани — коллагена. Наряду с ростом концентрации свободной фракции гидроксипролина (биохимического маркера резорбции костной ткани) снижается содержание протеинсвязанной фракции этой аминокислоты (биохимический маркер синтетической фазы метаболизма коллагена).

Таблица 1. Биохимические показатели сыворотки крови больных с гнойными осложнениями после остеосинтеза отломков длинных костей

Активность коллагеназы, мкмоль/л·ч	Фракция ГП, мкмоль/л		ГАГ, г/л
	свободная	протеинсвязанная	
$6,64 \pm 0,07$	$8,71 \pm 0,09$	$12,07 \pm 0,04$	$0,049 \pm 0,009$
Норма			
$3,14 \pm 0,04$	$5,75 \pm 0,21$	$11,90 \pm 0,29$	$0,031 \pm 0,003$

Таблица 2. Содержание макроэлементов в сыворотке крови больных с гнойными осложнениями после остеосинтеза отломков длинных костей (ммоль/л)

Ca	P	Na^+	K^+	Ca^{++}
$1,97 \pm 0,04$	$2,03 \pm 0,04$	$136,27 \pm 0,63$	$4,63 \pm 0,80$	$1,26 \pm 0,01$
Норма				
$2,37 \pm 0,25$	$1,15 \pm 0,21$	$142,0 \pm 4,0$	$4,50 \pm 0,8$	$1,22 \pm 0,10$

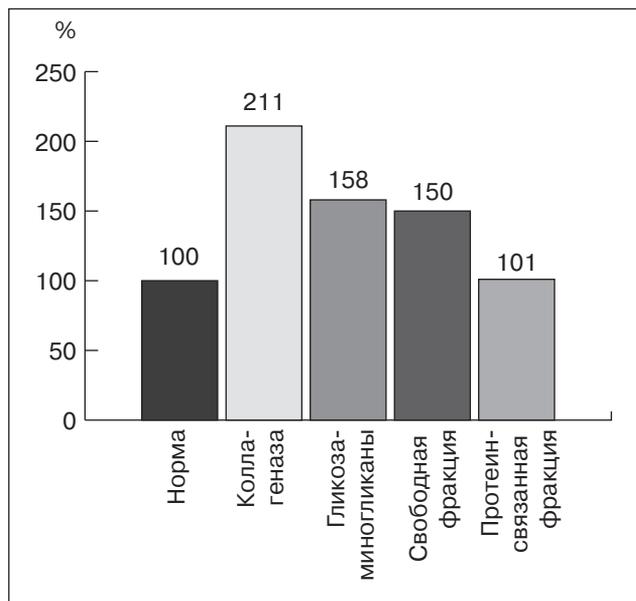


Рисунок 1. Биохимические показатели сыворотки крови больных с гнойными осложнениями после остеосинтеза отломков длинных костей

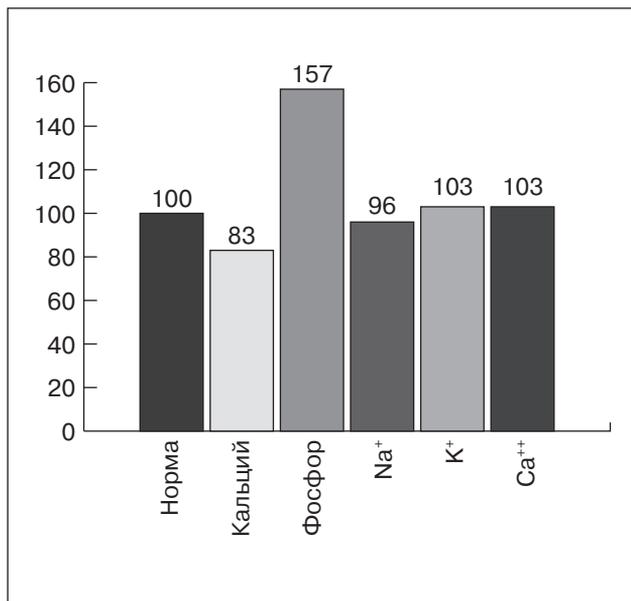


Рисунок 2. Содержание макроэлементов в сыворотке крови больных с гнойными осложнениями после остеосинтеза отломков длинных костей

Биохимические маркеры синтетической и катаболической фаз также свидетельствуют о нарушении физиологических показателей метаболизма белка коллагена и межклеточного вещества — гликозаминогликанов. Следует отметить, что содержание ГАГ в сыворотке крови также становится выше нормы и составляет 158 %, а в абсолютных цифрах — $0,049 \pm 0,009$ г/л (норма $0,031 \pm 0,003$ г/л). Это свидетельствует о том, что усиливается катаболическая фаза метаболизма органической основы костной ткани.

Данные, полученные при исследовании минерального обмена, отражают нарушения минерализации костной ткани при гнойных осложнениях остеосинтеза костных отломков при переломах костей, что подтверждается показателями общего кальция, ионизированного кальция, фосфора и электролитов.

Эти биохимические показатели можно также использовать для оценки рецидива патологического процесса и эффективности лечения больных.

Список литературы

1. Баскевич М.Я. Актуальные аспекты закрытого интрамедуллярного остеосинтеза. — Тюмень, Тюменская государственная медицинская академия. — Т. 6. — 2005. — С. 30-36.
2. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике // М.: МЕД-пресс-информ, 2004. — С. 348-355; 653-657; 672-676.
3. Кляцкин С.А. Определение гликозаминогликанов орциновым методом в крови больных / Кляцкин С.А., Лифшиц Р.И. // Лаб. дело. — 1989. — № 10. — С. 51-53.
4. Кон Р.М. Ранняя диагностика болезней обмена веществ / Кон Р.М., Рот К.С. — М.: Медицина, 1986. — 637с.
5. Мінченко Б.І., Марченкова Л.А. Биохимические маркеры метаболизма костной ткани // Лабораторная медицина. — 2000. — № 3. — С. 45-52.
6. Серов В.В. Соединительная ткань / Серов В.В., Шехтер А.Б. — М.: Медицина, 1981. — 312 с.
7. Слуцкий Л.И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани. — Л.: Медицина, 1969. — 376 с.
8. Терновой К.С. Биохимические критерии эффективности лечения больных хроническим остеомиелитом / Терновой К.С., Магомедов С.М., Перфилова Т.Н. и др. // Врач. дело. — 1987. — № 3. — С. 74-77.
9. Ткачук В.А. Клиническая биохимия. Руководство по биохимии / В.А. Ткачук. — М.: Гэотар-мед, 2002. — 358 с.
10. Frey S. Etude d'une methode L'exploration et du taux normal de L'hydroxyproline du serum // Biochem., Biophys. — 1965. — № 2. — P. 446-450.
11. Lindy S., Halme J. Collagenolytic activity in rheumatoid synovial tissue // Clin. Chim. Acta. — 1973. — Vol. 4, № 2. — P. 153-157.
12. Stegemann H.J. A simple procedure for the determination of hydroxyproline in urine and bone // Biochem. Med. — 1952. — Vol. 3, № 1. — P. 23-30.

Получено 25.02.16 ■

Магомедов С., Поліщук Л.В., Кузуб Т.А., Колов Г.Б., Гордій А.С.
ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України»,
м. Київ, Україна

МЕТАБОЛІЗМ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ У ХВОРИХ ІЗ ГНІЙНИМИ УСКЛАДНЕННЯМИ ПІСЛЯ ОСТЕОСИНТЕЗУ ВІДЛАМКІВ ДОВГИХ КІСТОК

Резюме. Остеосинтез (osteosynthesis; грец. osteon (кістка) + synthesis (з'єднання)) — це хірургічне з'єднання відламків кісток у правильному положенні з метою стабільної фіксації до їх повної консолідації (кісткового зрощення) і відновлення цілості й функції кістки.

Обстежено 34 хворі віком 17–58 років із гнійними ускладненнями після остеосинтезу кісткових відламків при переломах довгих кісток, у тому числі 29 чоловіків і 5 жінок. У сироватці крові хворих визначали такі біохімічні показники: активність колагенази, фракції гідроксипроліну, глікозаміноглікани, кальцій, фосфор та електроліти (Na^+ , K^+ , Ca^{++}).

Результати дослідження свідчать, що у хворих із гнійними ускладненнями після остеосинтезу відламків довгих кісток при загостренні запального процесу посилюється катаболічна фаза метаболізму основних компонентів органічної основи кісткової тканини — колагену і глікозаміногліканів. Дані, одержані при дослідженні мінерального обміну, свідчать про порушення мінералізації кісткової тканини, що підтверджено показниками вмісту загально-го кальцію, іонізованого кальцію, фосфору та електролітів.

Ключові слова: гідроксипролін, глікозаміноглікани, колагеназа, фосфор, кальцій, електроліти.

Mahomedov S., Polishchuk L.V., Kuzub T.A., Kolov H.B., Hordii A.S.
State Institution «Institute of Traumatology and Orthopedics of
National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, Ukraine

THE METABOLISM OF CONNECTIVE TISSUE IN PATIENTS WITH SUPPURATIVE COMPLICATIONS AFTER OSTEOSYNTHESIS OF LONG BONE FRAGMENTS

Summary. Osteosynthesis (from the Greek: osteon (bone) + synthesis (connection)) — a surgical connection of bone fragments in the correct position for the purpose of stable fixation to complete their consolidation (bone union) and to restore the integrity and function of a bone.

The study involved 34 patients aged 17–58 years with suppurative complications after osteosynthesis of long bone fractures, including 29 men and 5 women. The following biochemical parameters were determined in the blood serum of patients: activity of collagenase, hydroxyproline levels, glycosaminoglycans, calcium, phosphorus and electrolytes (Na^+ , K^+ , Ca^{++}).

The findings show that in patients with suppurative complications after osteosynthesis of long bones, during the relapse of inflammation there is an increase in catabolic phase of metabolism of major components of organic matrix of the bone tissue. This is evidenced by indicators reflecting the synthetic and catabolic phases of metabolism of the major components of connective tissue — collagen and glycosaminoglycans. Data obtained in the study of mineral metabolism reflect the disorders of bone mineralization, as evidenced by indicators of total content of calcium, ionized calcium, phosphorus and electrolytes.

Key words: hydroxyproline, glycosaminoglycans, collagenase, calcium, phosphorus, electrolytes.