

© Группа авторов, 2005

**Особенности перекисного окисления липидов
при чрескостном дистракционном остеосинтезе
на внутрикостном стержне в эксперименте**

М.В. Стогов, Т.Н. Ерофеева, М.А. Степанов, С.А. Романенко

***The peculiarities of lipid peroxide oxidation during experimental
transosseous osteosynthesis with an intramedullary nail***

M.V. Stogov, T.N. Yerofeyeva, M.A. Stepanov, S.A. Romanenko

Федеральное государственное учреждение науки
«Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" имени академика Г.А. Илизарова
Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», г. Курган
(директор — заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАМН, д.м.н., профессор В.И. Шевцов)

Представлены результаты исследования концентрации продуктов перекисного окисления липидов плазмы крови и активности супероксиддисмутазы в эритроцитах беспородных собак при удлинении плечевой кости на внутрикостном стержне. Показано, что в условиях удлинения плечевой кости как на стержне, так и при удлинении в обычном режиме, отмечается активизация реакций перекисного окисления. Особенностью удлинения на стержне явилось ингибирование у экспериментальных животных активности ферментного звена антиоксидантной системы - супероксиддисмутазы.

Ключевые слова: удлинение, плечевая кость, внутрикостный стержень, эксперимент, перекисное окисление липидов.

The findings are presented about the concentration of the products of blood plasma lipid peroxide oxidation and those of the superoxide dismutase activity in the erythrocytes of mongrel dogs during humeral lengthening with an intramedullary nail use. It is demonstrated that during humeral lengthening both with an intramedullary nail and during that in a usual way the activation of peroxide oxidation reactions takes place. The inhibition of the activity of the antioxidant system enzymatic link – superoxide dismutase, has been the peculiarity of lengthening with an intramedullary nail use.

Keywords: lengthening, humerus, intramedullary nail, experiment, lipid peroxide oxidation.

В последние десятилетия наиболее адекватным методом устранения нарушения длины и формы конечностей является лечение методом чрескостного остеосинтеза, предложенного Г.А. Илизаровым. Несмотря на достигнутые успехи при лечении больных ортопедического профиля, продолжается усовершенствование этого метода в клинике и эксперименте. В последние годы для удлинения конечностей используются интрамедуллярные штифты различных конфигураций в сочетании с чрескостными аппаратами. Известно, что любое вмешательство на скелете вызывает существенные изменения во внутренней среде организма, связанные с проявлениями процессов адаптации к внешнему фактору [4]. При всем разнообразии различных по силе и качеству раздражителей в организме в ответ на их действие происходят общие неспецифические изменения всех звеньев метаболизма, при этом значительная роль в развитии ответных реакций отводится перекисному окислению липидов (ПОЛ). Перекисное окисление индуцируется высокореактивными свободными радикалами - активизированными кислородными метаболитами [8, 10]. Свободнорадикальное окисление в незначительной степени происходит во всех клетках в норме, обес-

печивая быструю модификацию структуры и свойств мембран, изменяя мембранозависимые процессы [3]. При развитии любой стресс-реакции отмечается существенный рост свободнорадикального окисления и активации ПОЛ, что, по мнению многих авторов, имеет важное адаптивное значение в начальной стадии реакции адаптации [1, 5]. Однако в итоге длительного стрессорного воздействия ПОЛ может превращаться в общее звено патогенеза [6]. Поэтому в организме существует защитная система, ограничивающая развитие перекисного окисления - антиоксидантная система (АОС), которая включает в себя специализированные ферментные и неферментные антиоксиданты, что позволяет отнести АОС к одной из стресс-лимитирующих систем организма [6]. Постоянное образование активизированных кислородных метаболитов в живых организмах уравновешено дезактивацией антиоксидантами, поэтому для поддержания гомеостаза необходима непрерывная регенерация антиоксидантной способности [7]. Цель настоящего исследования состояла в том, чтобы изучить особенности, происходящие в системе ПОЛ-АОС при чрескостном дистракционном остеосинтезе на внутрикостном стержне.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучались показатели ПОЛ и АОС у 25 беспородных собак, разделенных на 3 группы: 1-я группа – удлинение плеча на стержне (n=11); 2-я – удлинение плеча без стержня (n=7); 3-я – удлинение плеча после разрушения костного мозга (n=7). Для сравнительной оценки использовали группу животных с удлинением голени (4-я группа).

Объектом исследования служили плазма и эритроциты крови. Забор крови проводили до операции, на 5-е сутки после операции, 14-е, 28-е сутки distraction, 30-е сутки фиксации. Оценку интенсивности процессов ПОЛ осуществляли путем измерения в плазме крови содержания первичных (диеновые конъюгаты – ДК) и вторичных (малоновый диальдегид – МДА) продуктов ПОЛ. Содержание ДК определяли спектрофотометрически по разности оптической

плотности между опытной и контрольной пробами при длине волны 232 нм [9]. Определение МДА проводили методом Стальной [9]. Концентрацию ДК и МДА выражали в нмоль/мг липидов плазмы крови. Содержание общих липидов определяли с помощью наборов реактивов фирмы «Лаксма» (Чехия). АОС оценивали, изучая активность фермента супероксиддисмутазы (СОД; КФ. 1.15.1.1) модифицированным методом Nishikimi N. [2]. Для нахождения достоверности различий с нормой использовали непараметрические критерии рандомизации (R; для малых выборок $n < 12$) и Вилкоксона (W; выборки умеренной численности $n > 12$) для независимых выборок. Для нахождения межгрупповых различий использовали непараметрический критерий Крускала-Уоллиса (KW).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В таблицах 1-3 представлены результаты исследования системы ПОЛ-АОС в процессе эксперимента.

Изменение концентрации диеновых конъюгатов представлено в таблице 1. Достоверные различия содержания ДК в плазме крови между экспериментальными группами прослеживались на 28-е сутки distraction. Так, их уровень в 1-й, 2-й, 4-й группах статистически значимо отличался от 3-й группы соответственно на 150 % ($p_R=0,03$), 166 % ($p_R=0,02$) и 454 % ($p_R=0,02$). На 30-е сутки фиксации концентрация диеновых конъюгатов во всех группах животных достоверно не отличалась.

Таблица 1

Динамика диеновых конъюгатов (нмоль/мг липидов) в плазме крови собак в ходе эксперимента (медиана; 0,25-й ÷ 0,75-й процентиль; объем выборки; уровень значимости)

Срок	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа
до операции	1,54 (0,90÷2,80) n=19			
5-е сутки после операции	1,92 1,54÷7,54 n=7	2,64 1,89÷3,48 n=7	1,67 1,01÷3,98 n=6	3,58 2,74÷4,17 n=9
14-е сутки distraction	1,59 1,44÷2,10 n=9	2,65 1,46÷3,78 n=7	1,80 1,65÷2,54 n=6	5,49 ^{1,3} 3,33÷5,86 n=7 $p_R=0,01^{1,3}$
28-е сутки distraction	2,84 ³ 1,72÷3,29 n=8 $p_R=0,03$	2,98 ³ 2,43÷3,37 n=6 $p_R=0,02$	1,12 0,83÷2,45 n=6	6,21 ³ 5,61÷6,94 n=4 $p_R=0,02$
30-е сутки фиксации	2,76 1,20÷4,80 n=4	2,23 1,61÷3,96 n=4	2,45 1,43÷2,57 n=3	2,93 1,92÷2,94 n=3

Примечание: верхний индекс указывает на достоверные различия между группами при отмеченных уровнях значимости.

Сравнение динамики концентрации малонового диальдегида в плазме крови животных всех

групп (табл. 2) показало, что в целом уровень МДА в ходе эксперимента между группами не отличался. Незначительные межгрупповые различия были отмечены в постоперационный период. Так, у животных 1-й и 4-й групп содержание МДА в плазме крови на пятые сутки после операции было выше, чем в 3-й группе. К 28-м суткам distraction во всех группах наблюдалось повышение содержания малонового диальдегида плазмы. На 30-е сутки фиксации уровень МДА находился в пределах дооперационных значений.

Таблица 2

Динамика малонового диальдегида (нмоль/мг липидов) в плазме крови собак в ходе эксперимента (медиана; 0,25-й ÷ 0,75-й процентиль; объем выборки; уровень значимости)

Срок	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа
до операции	0,95 (0,68÷1,15) n=19			
5-е сутки после операции	1,60 ³ 1,02÷2,10 n=7 $p_R=0,02^3$	1,30 0,67÷2,29 n=7	0,84 0,49÷1,04 n=6	1,68 ³ 1,41÷1,69 n=9 $p_R=0,002^3$
14-е сутки distraction	0,88 0,74÷1,14 n=9	1,00 0,73÷1,41 n=7	1,36 1,09÷1,41 n=6	1,55 1,15÷2,00 n=7
28-е сутки distraction	1,21 0,98÷1,51 n=8	1,25 1,12÷1,62 n=6	1,52 1,37÷1,85 n=6	1,70 1,45÷1,80 n=4
30-е сутки фиксации	0,71 0,50÷1,03 n=4	1,03 0,95÷1,27 n=4	0,93 0,77÷1,22 n=3	1,37 1,11÷1,63 n=3

Примечание: верхний индекс указывает на достоверные различия между группами при отмеченных уровнях значимости.

Существенные различия между группами были отмечены для активности СОД в эритроцитах (табл. 3). Отличительной особенностью изменения данного показателя явилось выраженное

снижение фермента в эритроцитах животных 1-й группы. Так, на 14-е сутки distractionii содержание СОД в эритроцитах 1-й группы животных было статистически значимо ниже по сравнению с тремя другими ($p_{KW}=0,05$). Уровень фермента в первой группе был достоверно ниже уровня 2-й и 3-й групп и на 28-е сутки distractionii. Наиболее стабильной в ходе всего эксперимента сохранялась активность СОД в эритроцитах животных 3-й группы. На 30-е сутки фиксации значимых различий уровня супероксиддисмутазы между группами и контролем не было.

На наш взгляд, снижение активности СОД в ходе distractionii в 1-й группе животных могло быть вызвано тремя причинами: 1) расходом этого фермента в условиях повышенного образования свободных радикалов в результате постоянного травмирующего воздействия внутрикостного стержня; 2) ингибированием СОД, как металлопротеида, компонентами вещества, из которого состоит стержень; 3) ингибированием каталитической активности супероксиддисмутазы продуктами реакции дисмутирования [11].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, сравнительный анализ концентрации продуктов перекисного окисления, отражающих интенсивность ПОЛ, не выявил отличий в их динамике при distractionii и фиксации во всех группах. Это еще раз подтверждает точку зрения о том, что активация ПОЛ является неспецифичным проявлением адаптационной реакции организма в ответ на стресс любого генеза. Однако, как показали проведенные исследования, активация перекисного окисления поразному сказывалась на состоянии АОС. Осо-

Таблица 3
Динамика ферментативной активности (мкМ НСТ-1*10⁹ Эр/мин) супероксиддисмутазы в эритроцитах крови собак в ходе эксперимента (медиана; 0,25-й ÷ 0,75-й процентиль; объем выборки; уровень значимости)

Срок	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа
до операции	34,1 21,0÷48,9 n=10			
5-е сутки после операции	9,2 ³ 8,1÷12,7 n=5 $p_R=0,02^3$	13,7 13,0÷19,8 n=5	31,9 15,1÷51,0 n=5	9,4 ³ 6,9÷11,6 n=9 $p_R=0,008^3$
14-е сутки distractionii	13,4 7,7÷13,8 n=9	31,1 ¹ 24,8÷38,6 n=5 $p_R=0,008^1$	28,9 ¹ 18,9÷29,9 n=5 $p_R=0,04^1$	16,2 ^{1,2} 11,8÷19,5 n=7 $p_R=0,03^1$
28-е сутки distractionii	12,8 10,4÷18,2 n=8	44,9 ¹ 34,6÷45,3 n=4 $p_R=0,05^1$	30,1 ¹ 11,6÷50,4 n=5 $p_R=0,04^1$	18,4 13,6÷23,8 n=3
30-е сутки фиксации	23,1 17,5÷28,7 n=4	27,2 22,7÷31,4 n=4	42,3 24,4÷45,3 n=3	24,2 23,6÷25,9 n=3

Примечание: верхний индекс указывает на достоверные различия между группами при отмеченных уровнях значимости.

бенно ярко это отмечалось в первой экспериментальной группе, где использование внутрикостного стержня явилось дополнительным травмирующим фактором, что, в отличие от других групп, привело к выраженному ингибированию ферментативного звена АОС. Данное обстоятельство, по нашему мнению, надо учитывать при планировании длительности сроков distractionii и фиксации на внутрикостном стержне. Кроме того, возникает необходимость использования антиоксидантов в процессе лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барабой, В. А. Роль перекисного окисления в механизме стресса / В. А. Барабой // Физиол. журн. АН УССР. – 1989. – №5. – С.85 – 97.
2. Векслер, Б. М. Характеристика системы перекисного окисления липидов крови в семьях больных ишемической болезнью сердца : дис...канд. биол. наук / Б. М. Векслер; СПб хим.-фарм. ин-ут. - СПб, 1995. – 96 с.
3. Владимиров, Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. А. Владимиров, А. П. Арчаков. – М. : Наука, 1972. – 252 с.
4. Власов, В. В. Реакция организма на внешние воздействия : общие закономерности развития и методические проблемы исследования / В. В. Власов. - Иркутск : изд-во Иркут. ун-та, 1994. - 344 с.
5. Дубинина, Е. Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса / Е. Е. Дубинина // Вопр. мед. химии. - 2001. - № 6. - С. 561-581.
6. Меерсон, Ф. З. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам /Ф. З. Меерсон, М. Г. Пшенникова. - М. : Медицина, 1988. - 256 с.
7. Меньщикова, Е. Б. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов / Е. Б. Меньщикова, Н. К. Зенков // Успехи совр. биологии. – 1993. – №4. – С. 442–455.
8. Свободные радикалы в биологии / под ред. И. В. Фридовича. – М. : Мир, 1979.
9. Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – 392 с.
10. Fridovich, I. Oxygen toxicity : a radical explanation / I. Fridovich // J. Exp. Biol. – 1998. – Vol. 201, No 8. – P. 1203-1209.
11. Fridovich, I. Superoxide anion radical (O₂⁻), superoxide dismutases, and related matters / I. Fridovich // J. Biol. Chem. – 1997. – Vol. 272, No 30. – P. 18515-18517.

Рукопись поступила 15.07.04.