

Влияние экзогенного гепарина на систему гемостаза при удлинении голени

Л.И. Сбродова, В.С. Бунов, Н.И. Гордиевских

The effect of exogenous heparin on hemostasis system in the process of leg lengthening

L.I. Sbrodova, V.S. Bounov, N.I. Gordiyevskikh

Федеральное государственное учреждение науки

«Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова Росздрава», г. Курган
(генеральный директор — заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАМН, д.м.н., профессор В.И. Шевцов)

В эксперименте на 36 взрослых собаках проведены исследования состояния гемостаза при удлинении голени с применением и без применения гепарина в периоде distraction. Выявлено, что distraction остеосинтез приводит к повышению свёртываемости крови до нижней границы «нормальных значений» к 21-м суткам distraction. Одновременно нарастало потребление гепарина и уменьшалась фибринолитическая активность крови. В динамике изменения соответствовали проявлениям активности резорбции первично образованной кости. Применение экзогенного гепарина уменьшило активность свертывающей системы и продлило период уменьшения фибринолитической активности крови.

Ключевые слова: кость, удлинение, гемостаз, фибринолиз, гепарин.

The studies of hemostasis condition have been performed experimentally in 36 adult dogs during leg lengthening with heparin use and without it in the period of distraction. It has been established that distraction osteosynthesis leads to blood coagulability increase up to the lower limit of «normal values» by 21st day of distraction. At the same time heparin consumption grows and blood fibrinolytic activity decreased. Dynamically the changes conform to exhibitions of resorption activity of the bone formed initially. The use of exogenous heparin decreases the activity of the coagulating system and prolongs the period of blood fibrinolytic activity decrease.

Keywords: bone, lengthening, hemostasis, fibrinolysis, heparin.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что гепарин превращает естественный ингибитор свёртывания крови гликопротеид АТ III в антикоагулянт немедленного действия и образует комплексы с фибриногеном, плазмином и адреналином, оказывающие противосвёртывающее и фибринолитическое действие [4, 5]. Способность пролонгировать свёртываемость крови определила область применения гепарина в клинической практике - профилактика и терапия различных тромбоэмболических состояний [5, 6].

Исследования показали, что в диастазе между костными отломками новообразованные костные трабекулы появляются на 5-7-е сутки после операции, костеобразование преобладает до 14-21-х суток distraction, затем его уравновешивают процессы резорбции новообразованной кости. После окончания distraction, в периоде фиксации, костеобразование обеспечивает за-

мещение «зоны роста» distractionного костного регенерата веществом кости, после чего снимают аппарат с конечности [3, 4]. В растущих капиллярах регенерата эндотелиоциты ещё не обладают полным набором тромборезистентных свойств, их базальная мембрана не является полноценным барьером для биологически активных веществ, поступающих из тканей, а резорбцию костной ткани активирует тромбоз капилляров [6, 8]. Всё это повышает активность системы гемостаза, создаёт тенденцию к гиперкоагуляции, которая при сопутствующей сосудистой патологии может реализовываться в тромбоз участка сосудистого русла [6].

Нас заинтересовала возможность профилактики повышения свёртываемости крови при distractionном остеосинтезе, и были проведены исследования по влиянию гепаринотерапии на состояние системы гемостаза в периоде distraction.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на 36 взрослых беспородных собаках массой 10-12 кг при со-

блюдении правил работы с животными. Всем животным на голень накладывали аппарат Или-

зарова, состоящий из 4 замкнутых опор, и производили закрытую флексионную остеоклазию в средней трети диафиза для получения поднадкостничного перелома. Голень удлинляли путём distraction костных отломков с 6-х суток по 1 мм за 4 раза в течение 28 дней. Продолжительность фиксации и наблюдения после снятия аппарата с конечности составляли по 30 суток.

Животным 1-й серии экспериментов – 27 собак, производили только удлинение голени. Животным 2-й серии экспериментов – 9 собак, со дня операции и в течение периода distraction подкожно вводили гепарин в количестве 500 единиц на 1 кг веса за 4 инъекции в сутки (суммарно 5000-6000 единиц). Дозу гепарина уменьшали после начала фиксации по 1250 единиц через каждые 2-е суток, не меняя периодичность введения.

О величине диастаза между костными отломками судили по данным рентгенографии костей голени в 2 стандартных проекциях.

Для исследований системы гемостаза делали забор венозной крови из большой подкожной вены на голени. Кровь смешивали с 3,8 % раствором лимонно-кислого натрия в соотношении 9 : 1, центрифугировали в течение 15 минут при 1500 об/мин., затем - при 3000 об/мин. для получения бестромбоцитной плазмы. Определяли время свертывания крови (ВСК) по Ли-Уайту, время свободного гепарина (СГ) по методу Э. Сирмаи, толерантность плазмы к гепарину (ТГП) по методике Сигга в модификации В.П. Балуда, естественный лизис фибринового сгустка (ФА) по М.А. Котовщиковой и Б.И. Кузнику [1].

Исследования проводили до начала эксперимента – контроль (К), через каждые 7 суток distraction (Д), 30 суток фиксации (Ф) и через 1 месяц после снятия аппарата с конечности (БА). Из полученных данных составляли невзвешенные вариационные ряды, определяли средние, ошибку, достоверность средних и их различий по Стьуденту.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Время свертывания венозной крови в контроле составило 539 ± 15 с. (табл. 1). У животных 1-й серии экспериментов оно достоверно уменьшилось к 14-м суткам distraction до 420 ± 37 с., после чего до конца эксперимента менялось от 398 ± 47 до 433 ± 29 секунд. У животных 2-й серии экспериментов при аналогичной тенденции изменений (рис. 1) время свертывания крови достоверно не отличалось от такового в контроле. Различия времени свертывания крови у животных 1 и 2-й серий были также недостоверны. Следовательно, distractionный остеосинтез способствовал повышению свертывания крови до 14-х суток distraction, после чего оно не восстановилось до 30-х суток после снятия аппарата. Под влиянием экзогенного гепарина время свертываемости крови сокращалось менее значительно.

Время свободного гепарина в контроле составило 11 ± 1 с. (табл. 2). У животных 1-й серии экспериментов оно достоверно снизилось к 21-м суткам distraction, после чего менялось от $4 \pm 0,3$ до $5,7 \pm 1$ с. У животных 2-й серии время свободного гепарина сократилось уже к 7-м суткам distraction, после чего менялось от $3 \pm 0,3$ с. до $6 \pm 0,5$ с. ($p < 0,001$). Сравнения отражали, что различия в концентрации свободного гепарина у животных 1-й и 2-й серий экспериментов были достоверны на 7-е и 14-е сутки distraction, затем тенденции изменений совпадали (рис. 2). Следовательно, distractionный остеосинтез способствовал повышению свертываемости крови с 21-х суток distraction. Под влиянием экзогенного гепарина циркулирующий в крови свободный гепарин уменьшился к 7-м суткам distraction. После 21-х суток distraction различий в показателе концентрации свободного гепарина в крови

у животных, получавших гепарин, не было.

Показатель толерантности плазмы к гепарину в контроле составил 456 ± 28 с. (табл. 3). У животных 1-й серии экспериментов резистентность плазмы к гепарину достоверно повышалась с 7-х суток distraction. Максимальное повышение толерантности плазмы к гепарину происходило на 21-е сутки distraction, составляя 204 ± 26 с. Затем началось его снижение, и к 30-м суткам после снятия аппарата с конечности происходило восстановление данного показателя. У животных 2-й серии экспериментов время толерантности плазмы к гепарину на 7-е и 14-е сутки distraction сократилось более значительно – до 233 ± 16 с. и 247 ± 12 с. соответственно и достоверно отличалось от такового животных 1-й серии экспериментов. Затем различия были недостоверны. Изменения резистентности плазмы к гепарину у животных обеих серий имели одинаковую направленность (рис. 3). Следовательно, distractionный остеосинтез способствовал повышению толерантности плазмы к гепарину, продолжающемуся до 21-х суток distraction. Восстановление толерантности плазмы к гепарину постепенно происходило к 30-м суткам после снятия аппарата с конечности. Под влиянием экзогенного гепарина повышение толерантности плазмы к гепарину на 7-е и 21-е сутки distraction было более значительным.

Спонтанная фибринолитическая активность цельной крови по Котовщиковой и Кузнику в контроле составила $30,8 \pm 1,7$ % (табл. 4). У животных 1-й серии экспериментов фибринолиз уменьшался до 14-х суток distraction, составляя $14,2 \pm 2,2$ % ($p < 0,001$), затем увеличивался. Восстановление произошло к 30-м суткам по-

сле снятия аппарата с конечности. У животных 2-й серии экспериментов тенденции изменений совпали с таковыми у животных 1-й серии экспериментов до конца периода distraction (рис. 4). К 30-м суткам фиксации восстановления не произошло – фибринолитическая активность крови оставалась на уровне таковой в конце distraction, составляла 21 ± 2 %. Следовательно, distractionный остеосинтез спо-

собствовал уменьшению фибринолитической активности цельной крови до 14-х суток distraction, после чего она постепенно восстанавливалась. Применение экзогенного гепарина не отразилось на изменениях фибринолитической активности цельной крови до окончания периода distraction, и привело к задержке её восстановления.

Таблица 1

Время свёртывания крови по Ли и Уайту

	К	Д 7	Д 14	Д 21	Д 28	Ф 30	Ба 30
1-я серия экспериментов							
n	36	27	27	27	27	21	13
ВСК, с	539±15	458±48	420±37	421±32	433±29	400±42	398±47
%	100	82	75	75	77	72	71
p <		-	0,01	0,001	0,001	0,01	0,05
2-я серия экспериментов							
n	36	9	9	9	9	7	7
ВСК, с	539±15	512±22	534±24	476±28	495±44	483±40	434±53
%	100	92	99	85	88	86	78
p <		-	-	-	-	-	-
1 и 2		-	-	-	-	-	-

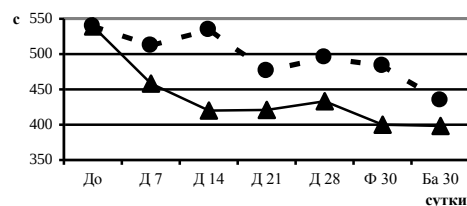


Рис. 1. Тенденции изменений времени свёртывания крови по Ли-Уайту, с. (норма 420 ± 120 с.)

Таблица 2

Время свободного гепарина крови по методу Сирмаи

	К	Д 7	Д 14	Д 21	Д 28	Ф 30	Ба 30
1-я серия экспериментов							
n	36	27	27	27	27	21	13
ВСК, с	11±1	13±1,2	9,5±0,6	5±0,5	4±0,3	5±,2	5,7±1
%	100	123	86	45	36	45	52
p <		-	-	0,05	0,05	0,05	0,01
2-я серия экспериментов							
n	36	9	9	9	9	7	7
ВСК, с	11±1	3±0,3	6±0,2	5,7±0,7	3±0,7	5±0,3	6±0,5
%	100	27	54	52	27	45	54
p <		0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
1 и 2		0,001	0,001	-	-	-	-

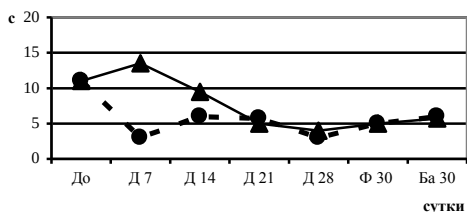


Рис. 2. Тенденции изменений времени свободного гепарина по Сирмаи, с. (норма 5-12 с.)

Таблица 3

Толерантность плазмы венозной крови к гепарину

	К	Д 7	Д 14	Д 21	Д 28	Ф 30	Ба 30
1-я серия экспериментов							
n	36	27	27	27	27	13	n
ТГП, с	456±28	382±22	299±15	204±26	232±49	373±38	ТГП, с
%	100	84	66	45	51	82	%
p <		0,05	0,001	0,001	0,001	-	p <
2-я серия экспериментов							
n	36	9	9	9	9	7	n
ТГП, с	456±28	233±16	247±12	224±19	295±10	38±34	ТГП, с
%	100	51	54	49	65	85	%
p <		0,001	0,001	0,001	0,001	-	p <
1 и 2		0,001	0,05	-	-	-	-

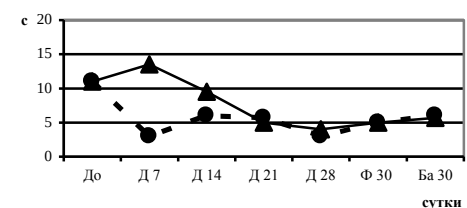


Рис. 3. Тенденции изменений толерантности плазмы к гепарину по Сигту в модификации В.П. Балуда, с. (норма 300-480 с.)

Таблица 4

Фибринолитическая активность, %

	К	Д 7	Д 14	Д 21	Д 28	Ба 30
1-я серия экспериментов						
n	36	27	27	27	27	13
ФА, %	30,8±1,7	22,5±2,5	14,2±2,2	17,2±1,7	24,4±1,8	31±1,2
p <		0,05	0,001	0,001	0,05	-
2-я серия экспериментов						
n	36	9	9	9	9	7
ФА, %	30,8±1,7	25,2±3	14,2±1	18,5±2	21,3±1	21±2
p <		-	0,001	0,001	0,001	0,01
1 и 2		-	-	-	-	0,001

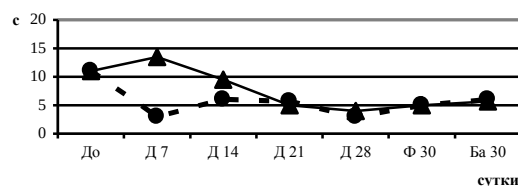


Рис. 4. Тенденции изменений фибринолитической активности цельной крови по М.А. Котовщицкой и Б.И. Кузнику, % (норма 16 %)

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследования показали, что в контроле время свертывания цельной крови соответствовало верхней границе диапазона «нормальных значений». Дистракционный остеосинтез привёл к укорочению периода накопления тромбина, и время свёртываемости крови стало соответствовать нижней границе диапазона. Так как время свёртывания крови не восстановилось после прекращения дистракции, фиксации, и через 30 суток после снятия аппарата с конечности, приходим к выводу, что его сокращение было связано с активно идущими всё это время изменениями в зоне новообразования участка кости.

Установлено, что в дистракционном костном регенерате сначала преобладают процессы новообразования костных трабекул, которые к 21-м суткам дистракции уравниваются процессами резорбции. Затем костеобразование превалирует в «зоне роста» дистракционного костного регенерата, а процессы резорбции – в зонах ремоделирования, у концов костных отломков, где идёт резорбция «избыточной» и перестройка остальной новообразованной костной ткани, что приводит к образованию органотипичного участка кости [3, 7]. Резорбции участка кости предшествует тромбоз части микроциркуляторного русла [8].

Сопоставление данных показало, что увеличение активности свёртывающей системы крови происходило после 14 суток дистракции, когда у концов костных отломков появлялись зоны резорбции первичной кости дистракционного костного регенерата. Стабилизация активности свёртывающей системы крови соответствовала сроку установления соответствия между активностью процессов костеобразования и резорбции первично образованной кости – 21-м суткам дистракции. После снятия аппарата с конечности, когда превалировали процессы резорбции, активность свёртывающей системы также оставалась высокой, тенденции к восстановлению не выявлено. На основании этого напрашивается вывод, что основной причиной повышения активности системы гемостаза служил тромбоз участков микроциркуляторного русла, активирующий резорбцию новообразованной кости.

Влияние экзогенного гепарина выразилось в недостоверном увеличении времени свёртывания крови по сравнению с таковым у животных 1-й серии экспериментов в послеоперационном периоде на 54 %, в периоде дистракции на 10-14 %, в периоде фиксации и после снятия аппарата с голени на 14 и 17 % соответственно. Следовательно, доза экзогенного гепарина была недостаточна для полной компенсации его потребления в преддистракционном периоде и, тем более, в периоде дистракции.

Для выявления срока появления дефицита гепарина в периоде дистракции проведено определение времени свёртывания плазмы крови по методу Сирмаи, отражающего количество свободного ге-

парина. У животных обеих серий экспериментов время свободного гепарина сократилось, что свидетельствовало об усиленном потреблении гепарина. При этом в условиях дистракционного остеосинтеза уменьшение концентрации свободного гепарина произошло к 21-м суткам дистракции, а в сочетании с введением экзогенного гепарина – к 7-м суткам. С 21-х суток достоверных различий в показателе у животных с применением экзогенного гепарина и без него не было. Следовательно, повышенная потребность в гепарине появилась уже на 7-е сутки дистракции, экзогенный гепарин способствовал мобилизации эндогенного гепарина, и их совокупное количество в плазме крови уменьшалось вследствие усиленного потребления.

Для подтверждения заключения о том, что потребление гепарина в процессе дистракции возрастает, сделаны определения толерантности плазмы крови к гепарину. Исследования показали, что до 21-х суток дистракции количество гепарина в плазме крови сокращалось, затем постепенно увеличивалось до восстановления к 30-м суткам после снятия аппарата с конечности. Применение экзогенного гепарина способствовало снижению свободного гепарина в плазме крови уже на 7-е сутки дистракции. С 21-х суток достоверных различий времени свертывания крови у животных с применением гепарина и без него не было. Исследование подтвердило достоверность заключения о нарастающем дефиците гепарина в периоде дистракции, стабилизации его потребления к 21-м суткам дистракции и восстановления его содержания до контрольных значений в плазме крови к 30-м суткам после снятия аппарата с конечности. Исследование также подтвердило то, что применение экзогенного гепарина приводило к усилению потребления эндогенного гепарина, вследствие чего дефицит гепарина проявлялся на 7-е сутки дистракции.

Известно, что образование фибрина – лишь временный этап в заживлении ран, ибо он начинает деградировать вскоре после возникновения. Чтобы отложения фибрина в процессе непрерывного физиологического гемостаза не закупорили просвет кровеносных сосудов, существует биохимический шомпол – фибринолитическая система с большой потенциальной активностью, наиболее очевидной и важной функцией которой является растворение фибриновых сгустков. Фибринолиз представляет собой процесс переваривания фибрина, в результате которого сгусток крови растворяется [2]. Исследования показали, что до 14-х суток дистракции происходило торможение фибринолиза с последующей медленной его активацией и восстановлением к 30-м суткам после снятия аппарата с конечности. Применение гепарина не привело к достоверным изменениям фибринолиза в периоде дистракции и задержало восстановление его активности после снятия аппарата с конечности. Следовательно, до 14-х суток дистракции нарастало потребление фермента плазмина – главного действующего

агента процесса фибринолиза, вероятно, вследствие увеличения количества тромбирующих сосудов микроциркуляторного русла дистракционного регенерата, что активировало процессы резорбции участков кости. Затем количество тромбирующих микрососудов сохранялось на одном уровне, и фибринолитическая активность крови стала медленно восстанавливаться. Применение гепарина не привело к изменениям активности фибринолитич-

ской системы в периоде дистракции – тромбоз микрососудов продолжался, и шло потребление плазмينا при лизисе фибрина. Его введение пролонгировало и ограничивало процессы тромбоза, что удлиняло время резорбции и перестройки дистракционного костного регенерата в органотипичную кость, и соответственно, продолжительность повышения свертывающей и уменьшения фибринолитической активности крови.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследования показали, что дистракционный остеосинтез способствовал повышению коагуляционной активности крови – сокращению времени свертываемости крови до минимума диапазона «нормальных» значений, но не приводил к грубым нарушениям в системе гемостаза. В динамике свертывающая активность крови увеличивалась до 14 суток дистракции, после чего состояние стабилизировалось, и не менялось до конца периода наблюдений. Совпадение срока увеличения и стабилизации активности свертывающей системы крови со сроком увеличения и резорбции новообразованной кости дистракционного костного регенерата позволило прийти к заключению о том, что процессы взаимосвязаны. Увеличение свертывающей активности крови происходило вследствие с тромбозом участков микроциркуляторного русла, активирующего резорбцию новообразованной кости.

На основании исследований толерантности плазмы к гепарину, увеличение коагуляционных свойств крови происходило одновременно с увеличением потребления гепарина. Это подтверждает заключение о причине изменений – активно идущих процессах тромбообразования. Исследования указали на то, что усиленное потребление гепарина начинается после оперативного вмешательства и увеличивается до 21-х суток дистракции.

Применение экзогенного гепарина привело к уменьшению напряжения системы гемостаза в послеоперационном периоде и периоде дистракции, и способствовало увеличению потребления эндогенного гепарина. Однако доза экзогенного гепарина была недостаточна, и в периоде дистракции активность системы гемостаза постепенно увеличивалась. Таким образом, применение экзо-

генного гепарина в послеоперационном периоде и периоде дистракции допустимо, но необходимо уточнение дозы препарата в зависимости от условий дистракционного остеосинтеза.

Определение фибринолитической активности цельной крови показало, что при увеличении свертывающих её свойств тормозился фибринолиз. Причиной служило нарастающее потребление плазмينا в процессе прироста количества подвергающихся тромбированию сосудов микроциркуляторного русла. Повышение коагуляционных свойств крови при одновременном уменьшении активности фибринолитической системы указывает на нарастающую вероятность тромбообразования до 14-х суток дистракции. Совпадение по времени увеличения и стабилизации активности коагуляционных и фибринолитических свойств крови с увеличением и стабилизацией активности процессов резорбции новообразованной кости позволило прийти к заключению о том, что причиной изменений служили процессы тромбообразования в капиллярах и лизис фибрина новообразованных тромбов.

Исследования показали, что при продолжительном применении экзогенного гепарина возможна задержка перестройки новообразованной кости в органотипичную кость, вероятно, вследствие тромбоза микроциркуляторного русла. Применение гепарина в послеоперационном периоде и периоде дистракции показано, но продолжительность гепаринотерапии следует ограничивать временем появления соответствия между синтезом и резорбцией кости – 14-21-ми сутками дистракции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балуда, В. П., Лабораторные методы исследования системы гемостаза / В. П. Балуда, З. С. Баркаган, Е. Д. Гольдберг. - Томск, 1980. - 312 с.
2. Зубаиров, Д. М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования / Д. М. Зубаиров. - Казань : ФЭН, 2000. - 364 с.
3. Илизаров, Г. А. Ультраструктурные особенности остеогенеза в дистракционном диастазе удлиняемой кости / Г. А. Илизаров, Ю. М. Ирьянов, Н. В. Петровская // Экспериментально-теоретические и клинические аспекты, разрабатываемого в КНИИ-ЭКТО метода чрескостного остеосинтеза : тез. докл. Междунар. конф. - Курган, 1986. - С. 20-25.
4. Илизаров, Г. А. Течение рапаративной регенерации компактной кости при дистракционном остеосинтезе в различных условиях фиксации костных отломков / Г. А. Илизаров, В. И. Ледаев, В. П. Штин // Экспериментальная хирургия. - 1969. - № 6. - С. 3-12.
5. Машковский, М. Д. Лекарственные средства. / М. Д. Машковский. - М. : Медицина. 1987. - 576 с.
6. Назаренко, Г. И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Г. И. Назаренко, А. А. Кишкун. - М. : Медицина, 2000. - С. 264, 510-533.
7. Сбродова, Л. И. Свертывающая и фибринолитическая активность крови при удлинении голени (экспериментальное исследование) / Л. И. Сбродова, С. А. Ерофеев // Гений ортопедии. - 1999. - № 2. - С. 38-42.
8. Стецула, В. И. Чрескостный остеосинтез в травматологии и ортопедии / В. И. Стецула, А. А. Девятков. - Киев : Здоровья, 1987. - 200 с.

Рукопись поступила 15.09.04.