

Влияние гипербарической оксигенации на состояние биоэнергетических процессов при удлинении конечностей

А.В. Попков, Н.В. Сазонова, Л.С. Кузнецова, Д.А. Попков

The effect of hyperbaric oxygenation on the condition on bioenergy processes in the process of limb lengthening

A.V. Popkov, N.V. Sazonova, L.S. Kuznetsova, D.A. Popkov

Государственное учреждение науки

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

У 11 пациентов, которым производилось удлинение длинных трубчатых костей в сочетании с использованием ГБО, были изучены биохимические показатели, характеризующие гликолиз, содержание АТФ и активность креатинкиназы в сыворотке крови. Было отмечено, что при использовании ГБО гликолиз протекает в аэробных условиях, утилизация энергии катаболических процессов в форме АТФ становится более эффективной. Уменьшение деструктивных процессов в мышцах удлиняемой конечности происходит в результате повышенной оксигенации тканей. Соотношение между системным индексом гликолиза и активностью креатинкиназы может служить биохимическим критерием качества регенерации мышечной ткани.

Ключевые слова: дистракционный остеосинтез, гипербарическая оксигенация, гликолиз, креатинфосфокиназа.

Biochemical indices, characterizing glycolysis, ATP content and creatine kinase activity in blood serum, were studied in 11 patients subjected to lengthening of long tubular bones combined with HBO use. It was noted that while using HBO glycolysis occurred in aerobic conditions, utilization of energy of catabolic processes as ATP became more effective. Decrease of destructive processes in muscles of the limb being lengthened took place as a result of increased oxygenation of tissues. Correlation of glycolysis system index and creatine kinase activity could serve as a biochemical criterion of quality of muscular tissue regeneration.

Keywords: distraction osteosynthesis, hyperbaric oxygenation, glycolysis, creatine phosphokinase.

Известно, что кровоснабжение играет исключительную роль в репаративном остеогенезе. Значение полноценной оксигенации регенерирующей костной ткани возрастает при удлинении конечности, т.к. гипоксия вследствие ишемии формирующегося костного регенерата является одной из причин угнетения остеогенеза [1]. Высокая интенсивность биосинтеза структурных (коллаген, гликопротеиды) и ферментативных (щелочная фосфатаза, ее костный изоинзим и тартратрезистентная кислая фосфатаза) белков дистракционного регенерата возможна лишь при высоком уровне биоэнергетических процессов в митохондриях остеогенных клеток [2]. Доказано, что в процессе дистракционного остеосинтеза происходит увеличение массы митохондрий в остеобластах. При этом наблюдаются значительные изменения ультраструктуры митохондрий, их локализации при дифференцировке остеогенных клеток и включении их в процесс биосинтеза органического матрикса костного дистракционного регенерата [3].

Гликолиз — начальный этап биологического

окисления, вследствие чего исследование его параметров широко применяется для оценки уровня оксигенации тканей [4]. Этими показателями являются активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ, КФ.1.1.1.27) и ее изоферментный спектр, на основании которого вычисляется соотношение Н- и М-субъединиц в сыворотке крови, содержание лактата, пирувата, их отношение. На основе этих показателей вычисляется интегральный показатель, наиболее точно отражающий состояние гликолитических процессов, — системный индекс гликолиза (СИГ) [5]. Кроме того, концентрация АТФ в сыворотке крови отражает суммарную способность тканей улавливать и запасать свободную энергию в процессе гликолиза, цикла лимонной кислоты и окислительного фосфорилирования.

Определение активности креатинфосфокиназы (КК, КФ 2.7.3.2) одновременно с показателями энергетического обмена важно в связи с тем, что она является ферментом, специфичным для скелетной мышечной ткани, обратимо катализирующим перенос фосфатной группы с АТФ на креатин, и активность этого фермента в сы-

воротке крови может служить для оценки степени травмирования мышц [6, 7, 8].

В процессе удлинения регенерация мышечной ткани происходит в условиях гипоксии, когда энергообеспечение этих процессов осуществляется в основном за счет гликолиза [4, 6].

Целью настоящего исследования является

изучение состояния биоэнергетических процессов при удлинении длинных трубчатых костей в условиях гипербарической оксигенации, а также разработка биохимических критериев качества регенерации мышечной ткани при distractionном остеосинтезе.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводили у 11 пациентов в возрасте от 5 до 14 лет (из них 5 – мальчики и 6 – девочки) с различными ортопедическими заболеваниями: врожденным укорочением и/или деформацией нижней конечности (9 пациентов), врожденной культей предплечья (1), укорочением плеча как последствием перенесенного в раннем детстве гематогенного остеомиелита (1).

Удлинение голени производилось в 7 случаях (величина удлинения от 2 до 10 см, в среднем 4,8 см), у 2-х больных была выполнена одномоментная коррекция деформации голени, удлинение культи предплечья – у 1 пациента, билатеральный distractionный остеосинтез плеча – у 1 пациента. Курс гипербарической оксигенации производился в одноместной камере БЛКС-303МК: на этапе distraction – десять сеансов

ГБО с продолжительностью компрессии 40 минут при рабочем давлении 1,3-1,4 ата; во время периода фиксации курс лечения состоял из 8-10 сеансов с продолжительностью изометрии 40 минут при рабочем давлении 1,3-1,5 ата.

Забор крови для анализа осуществлялся утром натощак из локтевой вены до операции, в начале периода distraction и после проведения курса ГБО, в начале периода фиксации и после проведения второго курса ГБО. Активность ферментов определяли спектрофотометрическим методом, используя наборы реактивов «Лаксма» (Чехия), изоферментный спектр – методом электрофореза на системе «Paragon», «Beckman» (США), содержание молочной (МК) и пировиноградной кислот (ПВК), АТФ – используя наборы реактивов «Vital Diagnostics» (Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изменения биохимических показателей гликолиза представлены в таблице 1. До проведения первого курса ГБО были отмечены изменения, характерные для протекания гликолиза в условиях гипоксии: увеличение активности ЛДГ в среднем до 2,47 мккат/л, повышение содержания лактата до 2,15 ммоль/л и увеличение СИГ до 21,9, снижение соотношения Н- и М-субъединиц в среднем до 1,53. По окончании первого курса ГБО на фоне продолжающейся distraction отмечен сдвиг в сторону аэробных процессов: снижение активности ЛДГ (в среднем 1,76 мккат/л), уменьшение лактата (в среднем 1,84 ммоль/л) и СИГ (в среднем 18,8), увеличение соотношения Н/М до 1,58. Однако имело место незначительное увеличение соотношения лактат/пируват, что указывает на некоторое относительное несоответствие оксигенации метаболической активности тканей.

Проведение второго курса ГБО в начале пе-

риода фиксации сопровождалось резким, более отчетливым, чем во время distraction, изменением показателей, что свидетельствует о протекании окислительно-восстановительных процессов в аэробных условиях: ЛДГ – 1,94 мккат/л и 1,82 мккат/л (до и после второго курса ГБО соответственно); Н/М – 1,6 и 1,7; лактат/пируват – 13,1 и 11,9; СИГ – 15,8 и 13,9. После снятия аппарата все вышеперечисленные показатели были близки или идентичны их дооперационным значениям.

Таким образом, ГБО обеспечивает протекание гликолиза в аэробных условиях, когда происходит реокисление NADH путем переноса восстановительных эквивалентов на дыхательную цепь и далее на кислород, при этом восстановительный потенциал NADH не тратится на восстановление пирувата в лактат для обеспечения протекания гликолиза.

Таблица 1.

Показатели гликолиза в процессе удлинения при использовании ГБО

Показатель	До операции	Distraction		Fixation		После снятия аппарата
		до ГБО	после ГБО	до ГБО	после ГБО	
ЛДГ; мккат/л	1,76±0,08	2,47±0,08	1,76±0,09	1,94±0,07	1,82±0,03	1,85±0,05
Н/М	1,77±0,02	1,53±0,02	1,58±0,04	1,64±0,04	1,70±0,01	1,79±0,05
лактат; ммоль/л	1,66±0,06	2,15±0,07	1,84±0,07	1,93±0,04	1,85±0,04	1,69±0,11
пируват; ммоль/л	0,13±0,004	0,16±0,004	0,15±0,006	0,15±0,006	0,14±0,006	0,14±0,005
лактат/пируват	12,3±0,33	13,5±0,33	13,7±0,83	13,1±0,18	11,9±1,02	12,5±0,35
СИГ	12,3±0,75	21,9±1,35	18,8±2,68	15,8±0,77	13,9±0,49	12,5±0,82

Концентрация АТФ в сыворотке крови, отражающая суммарную способность тканей улавливать и запасать свободную энергию в процессе гликолиза, цикла лимонной кислоты и окислительного фосфорилирования, неизменно увеличивалась после каждого курса ГБО. Наряду с показателями гликолиза это указывает на то, что утилизация энергии катаболических процессов в виде высокоэнергетических фосфатов более эффективная при использовании ГБО.

Интерес представляет динамика КК, фермента специфичного для скелетной мышечной ткани (таблица 2). Резкое увеличение активности КК в сыворотке крови в процессе distraction указывает на деструктивные структурно-метаболические процессы в мышечных волокнах. Однако первый же курс ГБО резко уменьшил активность этого фермента в крови, ее значения в последующем постепенно уменьшались к концу лечения. Можно предположить, что ГБО, уменьшая кислородное голодание мышечной ткани в процессе удлинения, ограничивает в ней деструктивные процессы.

Это предположение подтверждает вычисление коэффициента корреляции Пирсона между СИГ и КК. Была обнаружена прямая корреляционная связь в конце периода distraction и начале фиксации ($r = 0,65$ и $0,98$ соответственно). Это свидетельствует, что деструктивные процессы в мышцах удлиняемой конечности зависят от выраженности тканевой гипоксии. После проведения второго курса ГБО значимая корреляционная связь отсутствовала ($r = 0,29$).

Известно, что активизация анаэробного пути протекания окисления углеводов является приспособительным механизмом, позволяющим костной ткани функционировать в условиях низкой концентрации кислорода [9]. В то же время метаболический ацидоз и тканевая гипоксия в определенных пределах являются стимуляторами процесса пролиферации [10,11]. Однако дифференцировка и поддержание экспрессивной активности клеток, в частности остеобластов, возможны лишь при высоком уровне биоэнергетических процессов в митохондриях [2]. Однако на начальных этапах лечения репаративная регенерация костной ткани протекает в условиях относительной кислородной недостаточности, когда ткани с дыхания переходят на гликолиз [10]. Гипербарическая оксигенация,

как показало проведенное исследование, обеспечивает высокую оксигенацию для дифференцировки остеогенных клеток и их биосинтетической активности на протяжении всего лечения и, как следствие – более ранний переход в анаболическую фазу метаболической реакции. Подтверждением служит то, что утилизация энергии катаболических процессов в виде высокоэнергетических фосфатов более эффективная при использовании ГБО.

Предположение о том, что сывороточные показатели, характеризующие гликолиз, обусловлены влиянием distraction на мышцы удлиняемой конечности [6], находит свое подтверждение в экспериментальных исследованиях. Тенденция к снижению общей активности ЛДГ, нормализации ее изоферментного спектра, снижение концентрации лактата непосредственно в мышечной ткани наблюдается лишь по мере восстановления циркуляторно-метаболического соответствия, происходящего к середине второго месяца фиксации [4]. Биоэнергетическими изменениями в мышечной ткани, свидетельствующими о ее регенерации, является активизация гликолиза с постепенным его снижением по мере завершения репаративного процесса. Параллельно уменьшению активности гликолиза возрастает значение окислительного фосфорилирования [7].

Влияние ГБО на динамику активности КК в процессе удлинения конечности выражается в постоянном снижении последней. Можно предположить, что ГБО, уменьшая кислородное голодание мышечной ткани, ограничивает деструктивные процессы. Сопоставление интегрального показателя (СИГ), наиболее полно отражающего протекание гликолитических процессов, и активности КК позволило выявить между ними тесную прямую связь в конце distraction и начале фиксации – период, когда мышечная ткань наиболее сильно подвержена структурно-метаболическим изменениям. Это свидетельствует, что деструктивные процессы в мышцах удлиняемой конечности зависят от выраженности тканевой гипоксии. Кроме того, выраженность процессов регенерации зависит от условий удлинения, следовательно, сопоставление СИГ-КК может служить также биохимическим критерием качества регенерации мышц.

Таблица 2.

Содержание АТФ и активность креатинфосфокиназы при удлинении с использованием ГБО

Показатель	До операции	Distraction		Фиксация		После снятия аппарата
		до ГБО	после ГБО	до ГБО	после ГБО	
АТФ; ммоль/л	231±1,6	205±1,6	212±1,75	207±3,5	218±3,7	217±6,9
КК; мккат/л	0,185±0,005	0,465±0,031	0,395±0,017	0,392±0,029	0,388±0,020	0,345±0,049

ВЫВОДЫ

ГБО является способом повышения энергетического обеспечения дифференцировки остеогенных клеток, экспрессивной активности остеобластов и в конечном итоге синтеза матрикса дистракционного регенерата на протяжении всего периода лечения.

Уменьшение гипоксии скелетной мышечной ткани в результате проведения ГБО ограничива-

ет деструктивные изменения в мышечных волокнах.

Корреляционное взаимоотношение СИГ-КК в процессе дистракции и начале периода фиксации может служить биохимическим показателем качества регенерации мышц удлиняемой конечности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Илизаров Г.А. Значение комплекса оптимальных механических и биологических факторов в регенеративном процессе при чрескостном остеосинтезе // Эксперим.-теорет. и клин. аспекты разработ. в КНИИЭКОТ метода чрескост. остеосинтеза: Тез. докл. Всесоюз. симп. с участ. иностр. специал. - Курган, 1983. - С. 5-15.
2. Матвеев В.Н., Десятниченко К.С., Кузнецова Л.С. Биохимическая характеристика регенерации костной ткани, управляемой методом чрескостного остеосинтеза по Илизарову // Эксперим.-теорет. и клин. аспекты разработ. в КНИИЭКОТ метода чрескост. остеосинтеза: Тез. докл. Всесоюз. симп. с участ. иностр. специал. - Курган, 1983. - С. 34-36.
3. Илизаров Г.А., Ирьянов Ю.М., Мигалкин Н.С. Ультраструктурные аспекты биоэнергетики костного регенерата, формирующегося в условиях дистракции // Вопросы чрескостного остеосинтеза по Илизарову: Сб. науч. трудов КНИИЭКОТ. - Курган, 1981. - Вып.10. - С. 73-80.
4. Кузнецова Л.С., Шульгина Г.А. Гликолитические процессы в мышцах голени, удлиняемой по Илизарову // Лечение ортопедо-травматологич. больных методами чрескост. остеосинтеза в стационаре и поликлинике, разработан. в КНИИЭКОТ: Тез. докл. Всесоюз. науч.-практ. конф. - Курган, 1982. - С. 205-206.
5. Информативность лабораторных исследований в ортопедии и травматологии / К.С. Десятниченко, Л.С. Кузнецова, И.П. Гайдышев и др. // Современные методы диагностики: Тез. докл. - Барнаул, 1999. - С. 202-203.
6. Кузнецова Л.С., Аранович А.М., Десятниченко К.С. О роли активности гликолиза в контроле за течением репаративного процесса при удлинении голени по Илизарову у больных с врожденным отсутствием малоберцовой кости // Чрескостный компрессионно-дистракционный остеосинтез по Илизарову в травматологии и ортопедии: Сб. науч. трудов КНИИЭКОТ. - Курган, 1985. - Вып. 10. - С. 116-121.
7. Трифонова Е.Б., Кочуткина Л.Н., Осипенко А.В. Регенерация скелетной мышечной ткани при удлинении конечности. Морфо-энергетические аспекты // Адаптационно-компенсаторные и восстановительные процессы в тканях опорно-двигательного аппарата: Тез. докл. VIII школы по биологии опорно-двигательного аппарата. - Киев, 1990. - С. 216-217.
8. Saks V.A. Control of respiration in mitochondrial outer membrane and by creatinase. A new speculative hypothesis possible involvement of mitochondrial cytoskeleton interactions // J. Mol. Cell. Cardiol. - 1995. - Vol. 27, N 1. - P. 625-645.
9. Кузнецова Л.С., Наумов А.Д., Гордиевских Н.И. Состояние обменных процессов при удлинении голени по Илизарову в эксперименте // Метод Илизарова - достижения и перспективы: Тез. докл. междунар. конф., посв. памяти акад. Г.А. Илизарова. - Курган, 1993. - С. 350-351.
10. Кузнецова Л.С., Грачева Л.И. Состояние гликолиза при реабилитации больных с открытыми переломами костей голени // Значение открытых Г.А. Илизаровым общеприродных закономерностей в регенерации тканей: Сб. науч. тр. ВКНЦ «ВТО». - Курган, 1988. - Вып. 13. - С. 41-43.
11. Десятниченко К.С. Дистракционный остеосинтез с точки зрения биохимии и патофизиологии // Гений ортопедии. - 1998. - № 4. - С. 120-128.

Рукопись поступила 22.03.01.

Предлагаем вашему вниманию



Материалы научно-практической конференции молодых ученых "МЕДИЦИНА В XXI ВЕКЕ: ЭСТАФЕТА ПОКОЛЕНИЙ", опубликованные в журнале "Гений Ортопедии", №№ 2, 3. - Курган, 2001.