

Состояние гемокоагуляции при чрескостном остеосинтезе берцовых костей в эксперименте

В.И. Шевцов, Л.И. Сбродова, А.Н. Дьячков

Hemocoagulation status for experimental transosseous osteosynthesis of leg bones

V.I. Shevtsov, L.I. Sbrodova, A.N. Diachkov

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)

Изучена свертывающая и фибринолитическая активность крови при наложении аппарата на голень и чрескостном остеосинтезе берцовых костей у 10 взрослых беспородных собак. Установлено: операция наложения аппарата Илизарова из 4 колец и 8 спиц на здоровую голень собаки и его фиксация в течение месяца сопровождается повышением активности свертывающей и снижением фибринолитической систем крови. В первые 3-5 дней после операции гиперкоагуляция выражена. В течение двух недель после остеотомии берцовых костей усиливается коагуляционный потенциал крови за счет тканевых факторов тромбопластинообразования с активацией I фазы свертывания крови и угнетением более чем в 2 раза фибринолиза. Нормализация показателей свертывающей и противосвертывающей систем происходит через 4 недели.

Ключевые слова: эксперимент, чрескостный остеосинтез, остеотомия, гемостаз, гиперкоагуляция, гипокоагуляция.

Blood coagulation and fibrinolytic activity was studied for the fixator applied to the leg and transosseous osteosynthesis of the leg bones in 10 adult mongrel dogs. It was established as follows: the surgery of application of the Ilizarov fixator consisting of 4 rings and 8 wires to canine intact leg and its fixation is for a month accompanied by activity increase of the blood coagulation system and activity decrease of the fibrinolytic one. Hypercoagulation is marked in the first 3-5 days postoperatively. Blood coagulation potential is enhanced for two weeks after leg bone osteotomy at the expense of tissue thromboplastin-forming factors with activation of blood coagulation I phase and fibrinolysis inhibition more than twice. Normalization of the indices of the blood coagulation and anticoagulation systems occurs after 4 weeks.

Keywords: experiment, transosseous osteosynthesis, osteotomy, hemostasis, hypercoagulation, hypocoagulation.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на широкое распространение чрескостного остеосинтеза и многочисленные исследования по изучению различных систем организма при его применении, углубленных исследований состояния гемостаза при этом методе остеосинтеза нет. Имеются лишь отдельные публикации, вышедшие в РНЦ "ВТО", в которых приводится динамика некоторых показателей гемокоагуляции периферической крови при лечении переломов длинных трубчатых костей,

удлинении конечностей и замещении дефектов костей [3-6]. Исследований, посвященных изучению влияния проведения спиц через кости (и мягкие ткани) и наложения аппарата на интактный скелет, в литературе нет.

В связи с этим, целью настоящей работы было изучение влияния тяжести оперативного вмешательства на степень изменений свертывающей и фибринолитической активности крови.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В серии опытов (10 собак) изучали изменения гемокоагуляции при наложении на голень аппарата Илизарова, то есть в ответ на проведение спиц и связанное с этим ограничение движения (5 собак — 1 группа) и при сращении берцовых костей после наложения аппарата Илизарова и открытой остео-

томии (5 животных — 2 группа)¹.

Аппарат, накладываемый на голень, состоял из 3 кольцевых опор и одного полукольца, резьбовых стержней разной длины с гайками и контргайка-

¹ Животные оперированы д.м.н. А.А. Ларионовым.

ми, а также болтов-зажимов.

В первой группе экспериментов в верхней трети голени, с учетом топографии сосудов и нервов сегмента конечности, в горизонтальной плоскости проводили две перекрещивающиеся спицы Киршнера и в натянутом состоянии крепили к дуговой опоре. К ней присоединяли оставшуюся часть аппарата Илизарова, состоящую из трех колец, соединенных между собой резьбовыми стержнями. В нижней трети голени на уровне дистального метафиза большеберцовой кости проводили две перекрещивающиеся спицы, которые также в натянутом состоянии крепили к дистальной кольцевой опоре. На расстоянии 3 см от проксимальных и дистальных опор проводили по паре перекрещивающихся спиц, которые после натяжения закрепляли на промежуточных кольцах. В дальнейшем наблюдали за животными в течение 33 дней.

Во второй группе опытов после наложения аппарата на голень (по описанной выше методике) в ее средней трети по наружной и внутренней поверхностям производили скальпелем разрез кожи длиной около 1 см и отслаивали мягкие ткани от кости. В рану, оглябая берцовые кости, вводили желобчатый зонд, по которому проводили пилу Джильи и перепиливали берцовые кости поперечно. Раны зашивали наглухо. За собаками наблюдали в послеоперационном периоде также 33 дня.

В обеих группах состояние свертывающей и фибринолитической систем крови определяли до операции и на протяжении всего периода эксперимента по общепринятым методикам [2, 3]. Кровь у животных забирали из подкожной латеральной вены голени, тотчас смешивали с 3,8% раствором лимоннокислого натрия в отношении 9:1 и центрифугировали в течение 15 минут при

1500 об/мин и 15 минут - при 3000 об/мин (для получения бестромбоцитной плазмы). Плазму отсасывали в другую пробирку и использовали в исследованиях. Одновременно определяли гематокрит.

Время свертывания крови определяли по методике Ли-Уайта [14] на основании установления времени образования сгустка венозной крови, время рекальцификации цитратной плазмы - по методике Бергергоф-Рока в модификации В.П. Балуды [12], толерантность плазмы к гепарину - по методике Сигта также в модификации В.П. Балуды [13]. Потребление протромбина изучали по методике М.А. Котовщиковой и З.Д. Федоровой в модификации Б.И. Кузника [6], содержание фибриногена в плазме - по методике Р.А. Рутберг [8]. Активность фибринстабилизирующего фактора (фибриназы), обеспечивающего переход растворимого фибрина в нерастворимую форму в присутствии Ca^{2+} , определяли по методике В.П. Балуды, Н.А. Жуковой и Ж.Н. Рукавенковой [4]. Подсчет тромбоцитов проводили по методике И.И. Данилина и В.А. Крыжановского [5].

Для характеристики функционального состояния противосвертывающей активности крови определяли тромбиновое время, время свободного гепарина, фибринолитическую активность и паракоагуляционный (этаноловый) тест. Тромбиновое время и время свободного гепарина определяли по методике Сирмаи [9].

Определение естественного лизиса фибринового сгустка - по М.А. Котовщиковой и Б.И. Кузнику [7].

Определение фибрин-мономерных комплексов (продуктов паракоагуляции) проводили по методике Godal и соавторов [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Через сутки после операции животные обеих групп самостоятельно передвигались по клетке, наступая на оперированную конечность, охотно принимали пищу. Через 3 дня у собак первой группы появлялся небольшой отек оперированной конечности с выделением незначительного количества сукровичной жидкости в месте проведения верхней спицы. На 5-е сутки отек распространялся до голеностопного сустава. Сукровичное отделяемое у спиц было скудным и исчезало к концу недели. Животные передвигались по клетке, уверенно опираясь на оперированную конечность. Через две недели опыта около спиц появлялось серозное отделяемое. На 21-й день после операции отделяемого около спиц уже не было. Отек отсутствовал.

Наложение аппарата Илизарова на интактную голень собаки сопровождалось изменениями активности свертывающей системы крови (табл. 1), которые были наиболее выраженными в раннем послеоперационном периоде (3-й день с момента

операции). Так, время свертывания цельной венозной крови и время рекальцификации бестромбоцитной плазмы сокращалось с 360 ± 42 сек до 334 ± 70 сек и с 97 ± 11 сек до 95 ± 6 сек соответственно (рис. 1). Наряду с этим отмечалось увеличение в плазме прокагулянтов. Концентрация фибриногена возрастала в 2,5 раза (рис. 2). Количество тромбоцитов превышало исходные данные на 66% ($P < 0,05$) (рис. 3). Время потребления протромбина удлинялось с 36 ± 5 сек до 51 ± 2 сек ($P < 0,05$). Понижалась активность фибринстабилизирующего фактора (XIII, фибриназа), то есть укорачивалось время растворения сгустка мочевиной с 92 ± 12 сек до $54 \pm 2,7$ сек ($P < 0,01$). Антикоагулянтная активность крови в этот срок наблюдения уменьшалась, о чем свидетельствовало укорочение тромбинового времени и времени свободного гепарина (рис. 3). Паракоагуляционный тест (этаноловая проба) был положительным.

Таблица 1

Гемокоагуляционная динамика при наложении на голень аппарата Илизарова (М±м)

Исследуемые показатели	Исходн. данные	Сроки эксперимента (дни)					
		3	5	12	19	26	33
ВСК (с)	360±42	334±70	304±42	325±10	319±7*	355±35	289±22
ВРП (с)	97±11	95±6	93±10	91±3	91±0,5	85,5±2,6	87±7
ПП (с)	36±5	51±2*	42±1,5	37±0,9	35±2	36±0,4	39±1,5
ТВ (с)	19±1,5	17±1,6	18±2	16±1	15±0,45*	17±1	18±0,4
СГ (с)	5,4±0,5	4±0,8	4,7±1,8	4±0,45	4±0,2*	4±0,7	5,8±0,2
ТПГ (с)	246±24	199±3	247±19	207±10	218±18	202±10	221±11
ФН (г/л)	1,6±0,15	4±0,15*	5,8±0,9*	4,8±0,7*	4,6±0,1*	4±0,3*	3±0,7
ФА (%)	30±3	18±3*	18±4*	30±4	21±0,9*	11±3*	18,5±3*
ХШ ф (с)	92±12	54±2,7*	37±0,6*	41±7*	44±6*	45±4*	53±2*
Тромбоциты (x10 ⁹)	314±4	521±75*	432±16*	483±4*	391±9*	323±3	326±10
Ретракция (%)	12±3	16±4	9±4	11,5±1,8	12±0,6	8±2	19±5*
Этанол.	2	3	4	2	3	3	3

* – P<0,05

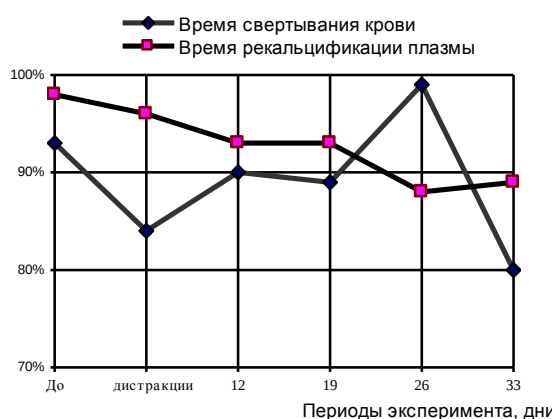


Рис. 1.

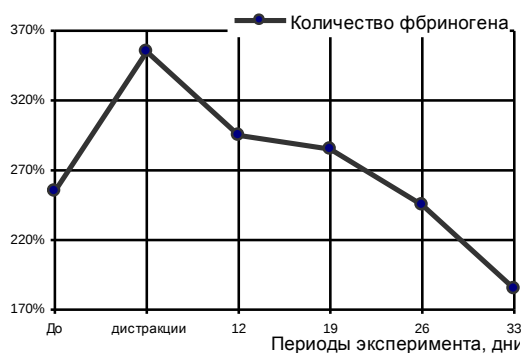


Рис. 2.

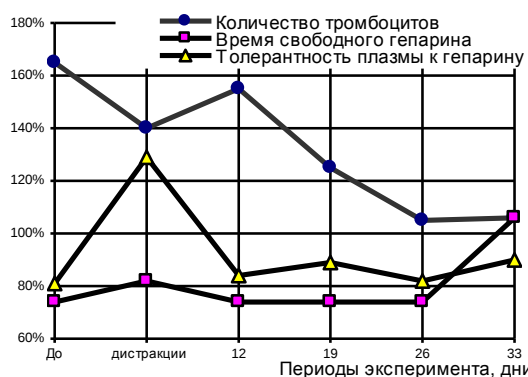


Рис. 3.

Через 5 дней с момента операции сохранялась тенденция к гиперкоагуляции. Время свертывания крови проявляло тенденцию к укорочению, время рекальцификации плазмы – сокращено, а толерантность плазмы к гепарину (рис. 3) возвращалась к дооперационному значению (246±25 сек – 247±19 сек). Приближалось к дооперационным показателям и время потребления протромбина. Содержание фибриногена в плазме достигало максимальной величины (с 1,6±0,15 г/л увеличилось до 5,8±0,9 г/л, P<0,01). Фибринолиз оставался угнетенным.

Через 12 дней после операции время свертывания крови постепенно начинало возвращаться к дооперационному. Время рекальцификации и потребления протромбина, ретракция кровяного сгустка держались в пределах исходного значения. Начинало снижаться содержание фибриногена. Увеличивалась активность фибринолитической системы и активность фибринстабилизирующего фактора (ХШ фактор влияет на эффективность фибринолиза опосредованно, повышая резистентность фибрина к плазмину) [10].

Через 19 дней после операции время свертывания венозной крови продолжало оставаться укороченным. Скорость растворения сгустка вновь уменьшалась – так же, как и количество тромбоцитов. По остальным показателям коагулограммы существенных изменений не наблюдалось.

Через 26 дней с момента операции время свертывания крови нормализовывалось и равнялось 355±35 сек. Наблюдалась тенденция к укорочению времени рекальцификации бестромбоцитной и гепаринизированной плазмы. Возвращалось к исходным цифрам время потребления протромбина, продолжало уменьшаться содержание фибриногена, количество тромбоцитов приближалось к норме. Наряду с этим понижалась степень ретракции кровяного сгустка. Фибринолиз оставался низким.

Через 33 дня с момента операции (конец опыта) время свертывания цельной крови укороченным.

рачивалось с 360 ± 42 сек до 289 ± 22 сек ($P < 0,05$), толерантность плазмы к гепарину приближалась к дооперационному значению. Количество фибриногена по-прежнему оставалось повышенным, но имело тенденцию к уменьшению и составляло $3 \pm 0,74$ г/л. Повышалась активность фибринстабилизирующего фактора. Количество тромбоцитов нормализовалось. Ретракция кровяного сгустка превышала исходное значение почти в полтора раза ($P < 0,01$). Возвращалось к дооперационному значению тромбиновое время и время свободного гепарина. Повышалась фибринолитическая активность крови.

Во второй группе опытов через сутки после операции животные свободно передвигались по клетке, приступая на оперированную конечность. Воспалительных изменений в области швов не было. Через 3 суток после операции, как и в первой группе экспериментов, появлялся отек голени со скудным отделяемым в области верхней пары спиц. На 5-е сутки отек распространялся на голеностопный сустав, отделяемое в местах проведения спиц было скудным. Через 10 суток после оперативного вмешательства отделяемого не было. Раны зажили первичным натяжением. Животные активно передвигались по клетке, твердо наступая на оперированную конечность. Такая клиническая картина прослеживалась до конца опыта.

В ранний послеоперационный период (рис. 4) время свертывания венозной крови укорачивалось (с 360 ± 54 сек до 319 ± 28 сек, $P < 0,05$), содержание фибриногена резко повышалось (с $3,3 \pm 0,65$ г/л до $5,7 \pm 0,42$ г/л, $P < 0,01$), фибринстабилизирующая активность достоверно понижалась (укорачивалось время растворения сгустка мочевиной с 71 ± 1 сек до 29 ± 4 сек, $P < 0,01$). Увеличивалось количество тромбоцитов и усиливалась ретракция кровяного сгустка (табл. 2) более чем в 5 раз (с 5% от исходного значения до 28%). Укорачивалось время тромбина и время свободного гепарина (рис. 5). Фибринолитическая активность статистически достоверно уменьшалась (с 33% до 19%, $P < 0,01$). Паракоагуляционный тест имел резко положительную пробу.

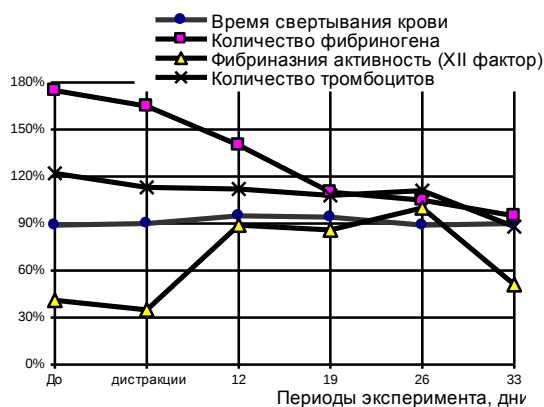


Рис. 4.

Через 5 дней с момента операции свертывающая активность крови сохранялась на уровне предыдущего срока исследования. Время рекальцификации бестромбоцитной плазмы (рис. 5) мало отличалось от исходного. Несколько повышалась толерантность плазмы к гепарину (рис. 5). Количество фибриногена оставалось заметно повышенным, однако наметилась тенденция его к понижению. Параллельно с этим снижалась активность фибринстабилизирующего фактора, и уменьшалось количество тромбоцитов. Ретракция кровяного сгустка превышала исходное значение в 4 раза. Фибринолиз потерял активность более чем в два раза по сравнению с исходным значением. Этаноловая проба оставалась резко положительной.

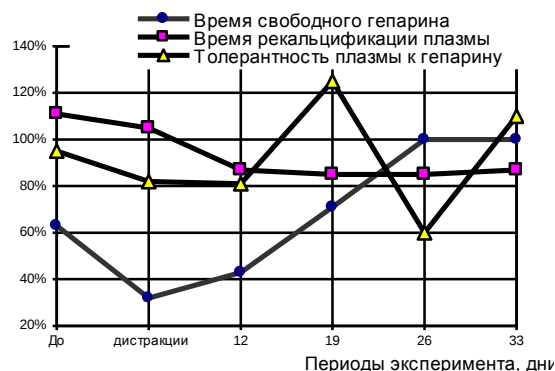


Рис. 5.

Через 12 дней с момента операции намечалась тенденция к нормализации многих показателей коагулограммы. Так, время свертывания крови равнялось 341 ± 33 сек, протромбиновое время сыворотки – 23 сек, а фибриназная активность составляла 89% от исходной величины. Концентрация фибриногена превышала дооперационный уровень на 40% ($P < 0,05$). Ретракция кровяного сгустка оставалась высокой. В этот срок наблюдения отмечено повышение фибринолитической активности. Этаноловая проба становилась слабopоложительной.

Через 19 дней после операции скорость свертывания крови сохранялась на прежнем уровне, толерантность плазмы к гепарину резко падала. Концентрация фибриногена приближалась к исходному уровню. Свободный гепарин повышался. Вновь снижалась фибринолитическая активность крови.

Через 26 дней с момента операции многие показатели коагулограммы почти не изменялись по сравнению с предыдущим сроком исследования. Это относится к времени свертывания крови, времени рекальцификации. Количество фибриногена приближалось к исходному, фибриназная активность возвращалась к дооперационному значению. Ретракционная способность кровяного сгустка оставалась высокой. Приходило к норме тромбиновое время и время свободного гепарина, возрастала фибринолитическая

ская активность крови.

Через 33 дня после операции (конец опыта) происходило восстановление свертывающей активности крови, большинство показателей коагулограммы нормализовалось (время свертывания крови, время рекальцификации бестромбоцитной и гепаринизированной плазмы, потребление протромбина, количество фибри-

ногена и тромбоцитов). Ретракция кровяного сгустка оставалась по-прежнему высокой. Низкой была активность фибринстабилизирующего фактора. Время свободного гепарина равнялось исходному значению. Фибринолиз не претерпевал существенных изменений, оставаясь несколько заторможенным. Этаноловая проба была слабо положительной (+).

Таблица 2

Гемокоагуляционная динамика в процессе заживления костной раны берцовых костей после их открытой остеотомии на уровне средней трети в условиях чрескостного остеосинтеза аппаратом Илизарова (М±м)

Изучаемые показатели	Исходн. данные	Сроки эксперимента (дни)					
		3	5	12	19	26	33
ВСК (с)	360±54	319±28	326±30	341±19	337±32	319±24	326±33
ВРП (с)	87±10	97±8	91±13	76±8	74±15	74±5	75±7
ПП (с)	25±1	23±2	21±3	23±1	33±4*	33±6	26±2
ТВ (с)	22±0,9	18±1,5	20±2	21±3,5	21±1,5	22±1	27±2,7*
СГ (с)	7±0,7	4±0,7*	2±0,9*	3±1,7*	5±0,9	7±0,9	7±0,5
ТПГ (с)	280±41	262±18	234±38,5	227±31	349±20	169±22	310±30,5*
ФН (г/л)	3,3±0,65	5,7±0,4*	5,4±0,4*	4,6±0,3	3,6±0,3	3,5±0,1	3±0,1
ФА (%)	33±4	19±0,9*	15±3*	26±4	16±1*	22±4*	22±1*
ХШ ф (с)	71±1	29±4*	25±3*	63±14	61±11	71±9,5	36±8*
Тромбоциты (×10 ⁹)	370±20	453±43	420±39	415±23	398±15	410±29	330±15
Ретракция (%)	5±0,6	28±0*	20±1,9*	22±2*	22±1*	24±0,9*	24±1*
Этанол	0	3	4	4	1	2	1

* – P<0,05

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследования показали, что наложение аппарата Илизарова на интактную голень собаки уже сопровождается изменением свертывающей системы крови. В первой группе экспериментов гиперкоагуляция отмечалась только в раннем послеоперационном периоде, примерно в течение 2 недель. Сокращалось время свертывания цельной венозной крови и время рекальцификации бестромбоцитной плазмы, отмечалось увеличение в плазме прокагулянтов. Концентрация фибриногена возрастала в 2,5 раза. Количество тромбоцитов превышало исходные данные. Удлинялось время потребления протромбина. Понижалась активность фибринстабилизирующего фактора. Антикоагулянтная активность крови в этот срок наблюдения уменьшалась, о чем свидетельствовало укорочение тромбинового времени и времени свободного гепарина (рис. 3). Паракоагуляционный тест (этаноловая проба) был положительным.

В дальнейшем отмечались волнообразные изменения свертывающей активности крови и фибринолиза, которые в большинстве случаев не имеют статистически достоверных различий с исходным значением.

Таким образом, остеотомия во второй группе опытов стимулировала процессы свертывания крови, повышая ее тромбопластическую активность. Так, время свертывания крови, в значительной степени зависящее от длительности

фазы тромбопластинообразования, в первые дни после операции укорачивалось. Потребление протромбина в этот же период было увеличено, что говорит об активации 1 фазы свертывания крови. Комплекс фибриногена-Б в норме не должен встречаться [1]. Он образуется при появлении в кровяном русле даже в небольшой концентрации свободного тромбина. В эксперименте концентрация фибриногена-Б возрастала до 4+, что свидетельствует о том, что в крови под влиянием тромбина появляются предстadium фибрина.

Фибринолитическая активность крови после операции значительно изменяется. В ближайший послеоперационный период фибринолиз тормозился. Известно, что скорость лизиса сгустка зависит не только от концентрации пламина в крови, но и от активности фибриназы (ХШ фактор). Этот фермент имеется в плазме, тканях и на этапе образования окончательного фибрина. Под влиянием фибриназы растворимый фибрин переходит в нерастворимый, или окончательный. Данная форма фибрина трудно лизируется плазмином, тем самым фибриназа косвенно тормозит фибринолиз. Наши исследования показали, что активность фибриназы имеет двухфазный характер. В первые дни после операции ее концентрация уменьшалась, со второй недели опыта приближалась к нормальным величинам, а в конце опыта вновь наблюдалось

снижение показателя.

Гомеостатические свойства сформировавшегося сгустка зависят также и от степени ретракции. Особенно отчетливо эти изменения были выражены через 3 дня после операции.

Таким образом, при сравнительном изучении гемокоагуляции после наложения аппарата Или-зарова на голень и после чрескостного остеосинтеза с моделированием перелома берцовых

костей их остеотомией были выявлены кратковременные и умеренные изменения функционального состояния свертывающей системы крови. Реакция свертывающей и противосвертывающей систем крови в двух сериях опытов проявлялась неодинаково и определялась тяжестью повреждения конечности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балуда В.П. Современное учение о физиологии и патологии свертывающей системы крови // Пат. физиология и эксперим. терапия. – 1958. – Т. 2, № 2. – С. 79-83.
2. Балуда В.П., Маляровский В.Н., Ойвин И.А. Лабораторные методы исследования свертывающей системы крови. – М., 1962. – 188 с.
3. Балуда В.П., Баркаган З.С., Гольдберг Е.Д. Лабораторные методы исследования системы гемостаза. – Томск, 1980. – 312 с.
4. Балуда В.П., Жукова Н.А., Рукавенкова Ж.И. Ускоренный метод определения системы гемостаза. – Томск, 1980. – 312 с.
5. Данилин И.И., Крыжановский В.А. Подсчет тромбоцитов в цитратно-фурацилиновом растворе // Лаб. дело. – 1967. – № 12. – С. 730-732.
6. Котовщикова М.А., Федорова З.Д. Простая методика определения потребления протромбина // Лаб. дело. – 1961. – № 1. – С. 18.
7. Котовщикова М.А., Кузник Б.И. Определение естественного лизиса фибринового сгустка // Лаб. дело. – 1962. – № 5. – С. 6.
8. Рутберг Р.А. Определение концентрации фибриногена // Лаб. дело. – 1961. – № 6. – С. 6-7.
9. Сирмаи З. Новые методы исследования системы свертывания крови // Проблемы гематол. и перелив. крови. – 1957. – № 6. – С. 38.
10. Скипетров В.П. Тканевая система свертывания крови и тромбгеморрагический синдром в хирургии. – Саранск, 1978. – 62 с.
11. Godal H.C., Abildgaard U., Kieruff P. // Scand. J. Haemat. - 1971. - Suppl. 13. - P. 189-192.
12. Bergerhof H.D., Poka L. Estimation of plasma recalcification time // Wschr. Vitamin-Hormon U. Fermentforsch. – 1954. – Bd. 6, H. 1. – S. 25.
13. Sigg S. Der Microheparintest // Klin. Wschr. – 1952. – Bd. 9, H. 10. – S. 205.
14. Lee P.J., White P.D. A clinical study of the coagulation time of blood // Am. J. med. Sci. – 1913. – N 4. – P. 495-503.

Рукопись поступила 30.12.02.