

Ю.Г. Шапошников, А.М. Герасимов,
И.А. Богданова, Л.Н. Фурцева,
А.Г. Тихомиров, Н.И. Аржакова

НАРУШЕНИЕ МЕТАБОЛИЗМА СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ПРИ ОГНЕСТРЕЛЬНОЙ ТРАВМЕ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Центральный институт травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова, Москва

У 7 пострадавших с огнестрельной травмой нижних конечностей в период ранних проявлений травматической болезни (2, 7, 15-е сутки) впервые исследованы общее выделение гликозаминогликанов с мочой, спектр гликозаминогликанов электрофорезом на ацетате целлюлозы, активность трех лизосомных ферментов, участвующих в деградации гликозаминогликанов (самый чувствительный тест на патологию почек), уровень оксипролина — маркера распада коллагена, а также креатинина — традиционного показателя распада мышц. Установлены повышение выделения гликозаминогликанов с мочой, главным образом хондроитинсульфата, усиленное выделение N-ацетил- β -глокозаминидазы, повышенная экскреция оксипролина и креатинина. Максимум повышения приходится на 7-е сутки после ранения; к 15-м суткам большинство исследованных параметров, кроме креатинина, возвращается к норме. Полученные результаты свидетельствуют о том, что при огнестрельной травме в период ранних проявлений травматической болезни происходит распад межклеточного матрикса соединительной ткани.

Травма опорно-двигательного аппарата вызывает в организме комплекс патофизиологических и биохимических изменений, которые фигурируют под названием «травматическая болезнь» или «метаболическая катастрофа». Данные по биохимии скелетной травмы обобщены в литературе [2]. Однако в публикациях имеются лишь отрывочные сведения об изменениях биохимических параметров соединительной ткани при травматической болезни. Данных о биохимии огнестрельной скелетной травмы в доступной литературе нам найти не удалось.

В настоящей работе была поставлена задача исследовать в моче специфические биохимические параметры метаболизма соединительной ткани при огнестрельном повреждении нижних конечностей у людей.

Методика исследования. Обследовано 7 мужчин в возрасте 16—53 лет, поступивших в реанимационное отделение ЦИТО с огнестрельными ранениями нижних конечностей. Шок не диагностирован ни у одного из пострадавших.

На 2-е сутки после травмы у 1 раненого, на 7-е сутки у 7 и на 15-е сутки у 7 раненых исследована суточная экскреция с мочой оксипролина по методу А.А. Креля и Л.Н. Фурцевой [3] и общих гликозаминогликанов по гекууроновым кислотам методом Z. Dische [6]. Спектр гликозаминогликанов мочи определяли с помощью электрофореза на ацетат-целлюлозных пленках [5]. Активность лизосомных β -глокозидаз: N-ацетил- β -глокозаминидазы, β -галактозидазы и β -глокуронидазы определяли в указанные сроки флюориметрически с 4-метилумбеллиферил-N-ацетил- β -D-глокозаминидом [7], 4-метилумбеллиферил- β -D-галактопиранозидом [9] и 4-метилумбеллиферил- β -D-галактоурозидом [8] соответственно. Активность ферментов выражали в микромолях гидролизованного суб-

страта за 1 ч в расчете на суточный диурез. Количество гидролизованного субстрата определяли по калибровочной кривой, построенной по свежереприготовленному раствору 4-метилумбеллиферона. Содержание креатинина в моче определяли приборами фирмы «Лаксма».

В качестве контроля исследовали суточную мочу 6 практически здоровых мужчин того же возраста. Статистическую обработку результатов проводили с использованием критерия Стьюдента и Вилкоксона—Манна—Уитни.

Результаты и обсуждение. По имеющимся морфологическим и отчасти биохимическим данным, соединительная ткань вовлекается в большинство патологических процессов, иногда поражение ее составляет самую суть патологии, но, с другой стороны, она обеспечивает процесс репарации. Как отмечалось выше, при огнестрельной травме состояние соединительной ткани не исследовано.

У раненых с огнестрельной травмой нижних конечностей максимальное выделение гекууроновых кислот с мочой наблюдается на 7-е сутки и снижается на 15-е, не достигая контрольного уровня (табл. 1). Суточное выделение с мочой гекууроновых кислот на 7-е сутки в среднем в 2,1 раза больше, чем на 15-е сутки ($p < 0,05$), и в 3,7 раза превышает норму ($p < 0,01$). Спектральный анализ показал, что главной фракцией гликозаминогликанов, выделяющихся при повреждении, является хондроитинсульфат и отчасти гепарансульфат (данные не приведены). В принципе усиленное выделение суммарных гликозаминогликанов соответствует данным Р.В. Меркурьевой [4], которая показала повышение их уровня в моче при тяжелой механической травме опорно-двигательного аппарата. Наши данные по идентификации экскретируемых гликозаминогликанов существенно отличаются от приведенных Р.В. Меркурьевой, что, по нашему мнению, объясняется не спецификой травмы, а большей чувствительностью метода, использованного нами.

Механизм усиления экскреции гликозаминогликанов при травме остается неясным и вряд ли может быть изучен без специальных экспериментов. Теоретически возможны 3 варианта: гликозаминогликаны выходят из очага поражения; уровень гликозаминогликанов в моче отражает стрессовое влияние гормонов на всю систему соединительной ткани; в мочу выходят только почечные гликозаминогликаны. Патология почек при травме скелета хорошо доказана, и наши данные (см. ниже) подтверждают это при огнестрельной травме.

Вторым биохимическим параметром патологии соединительной ткани является уровень в моче продукта распада коллагена — оксипролина. Экскреция оксипролина с мочой составляет в контрольной группе $42,7 \pm 7,6$ мг/сут (см. табл. 1). У пострадавших с огнестрельными ранениями нижних конечностей она значительно увеличена и составляет на 7-й день после травмы $80,2 \pm 12,1$ мг/сут. Это различие статистически достоверно ($p < 0,05$). На 15-е сутки после ранения выделение оксипролина с мочой снижается до $60,1 \pm 13,3$ мг/сут. Различие средних величин с контролем недостоверно. Усиление катаболизма белков, вызванное активацией гипоталамо-гипофизарно-адренальной системы, — типичное проявление травматической болезни. Уместно отметить, что при травме повышается уровень соматотропного гормона гипофиза [1], что приводит к усилению экскреции оксипролина.

Экскреция с мочой гекуроновых кислот и оксипролина (в мг/сут) у раненых с огнестрельными повреждениями тканей нижних конечностей

Пострадавший	Возраст лет	Локализация ранения	Гекуроновые кислоты			Оксипролин		
			срок после огнестрельной травмы, сутки					
			2-е	7-е	15-е	2-е	7-е	15-е
Контроль ($M \pm m$)			8,86 ± 1,69			42,7 ± 7,6		
Г.	27	Левая ягодица, левое бедро; оскольчатый перелом седалищной кости	—	46,97	17,82	—	80,4	67
М.	19	Правая ягодица, левый коленный сустав с повреждением сосудисто-нервного пучка	—	23,07	17,73	—	83,5	89
З.	24	Правая голень, многооскольчатый перелом обеих костей голени	—	34,45	12,83	—	107,6	65,5
П.	19	Левая голень, перелом малоберцовой кости	—	43,65	32,80	—	106,9	117,6
С.	16	Левая голень, левое бедро; костных повреждений нет	—	53,75	5,67	—	107,7	30,6
Е.	34	Правое бедро; костных повреждений нет	32,95	19,22	8,41	37,9	50,7	26,1
И.	53	Правая ягодица; костных повреждений нет	—	6,75	11,76	—	24,5	24,8
	<i>M</i>		—	32,55	15,29	—	80,2	60,1
	$\pm m$		—	6,39	3,37	—	12,1	13,3
	<i>p</i> *		—	<0,01	>0,05	—	<0,05	>0,05

*По критерию Стьюдента.

Общезвестно усиление экскреции оксипролина в стрессовых ситуациях, что можно рассматривать либо как результат катаболизма всех белков (включая коллаген) с целью адаптации энергетических процессов (глюконеогенеза), либо как специфическую реакцию соединительной ткани.

Третьим подходом к исследованию мегаболизма соединительной ткани было определение содержания в моче трех лизосомных ферментов, участвующих в деградации гликозамингликанов, протеогликанов, гликопротеидов, — N-ацетил-β-глюкозаминидазы, β-галактозидазы и β-глюкуронидазы. Ранее при травмах активность этих ферментов в моче не исследовалась. В то же время интерес к этим ферментам не ограничивается тем, что они участвуют в разрушении межклеточного матрикса, но усиливается из-за того, что при некоторых заболеваниях они являются самыми чувствительными тестами на патологично проксимальных канальцах почек [7].

Использование непараметрического критерия Вилкоксона—Манна—Уитни позволило выявить существенное ($p < 0,05$) увеличение активности N-ацетил-β-глюкозаминидазы в моче раненых в конце 1-й недели после ранения и достоверное ($p < 0,05$) снижение до нормы к 15-му дню. Поскольку распределение индивидуальных величин в опытных группах далеко от нормального, параметрический критерий Стьюдента не выявляет различий между ними и контролем, хотя, как видно из данных, представленных в табл. 2, на 7-е сутки после ранения средняя активность фермента в суточной моче пострадавших в 6,4 раза превышает соответствующий показатель контрольной группы. Резкое повышение активности фермента (в 24,3 раза

больше контроля) отмечено у пострадавшего Г., 27 лет, с оскольчатым огнестрельным переломом седалищной кости и ранениями мягких тканей бедра и ягодицы. К концу 2-й недели после ранения выделение N-ацетил-β-глюкозаминидазы у него не нормализовалось. В указанные сроки наблюдения низкая активность фермента в суточной моче отмечена у пострадавшего И., 53 лет, с касательным огнестрельным ранением мягких тканей бедра (пострадавший Е., 34 лет) удалось проследить за изменениями активности N-ацетил-β-глюкозаминидазы начиная со 2-го дня посттравматического периода. Пик повышения активности фермента в моче выявлен на 7-е сутки, на 2-е и 15-е сутки выделение фермента с мочой было в пределах нормы.

Изменение активности β-галактозидазы и β-глюкуронидазы (см. табл. 2) в моче при огнестрельных ранениях нижних конечностей имеет сходный, но менее выраженный по сравнению с таковым для N-ацетил-β-глюкозаминидазы характер. Статистически значимых отличий выявить не удалось, возможно, из-за малой выборки. Механизм усиления экскреции N-ацетил-β-глюкозаминидазы неизвестен. Следует рассматривать все три механизма, описанные выше для гликозамингликанов. Наиболее правильным путем, на наш взгляд, будет моделирование почечной патологии в эксперименте и обследование больных с системной патологией соединительной ткани и нормальной функцией почек.

Суточная экскреция креатинина с мочой у обследованных раненых была значительно повышена (данные не приведены). На 7-е сутки она превышала кон-

Активность β -гликозидаз (в мкмоль/г) в суточной моче раненых с огнестрельными повреждениями тканей нижних конечностей

Пострадавший	Возраст, лет	Локализация ранения	N-ацетил- β -глюкозаминидаза			β -галактозидаза			β -глюкуронидаза		
			срок после огнестрельной травмы, сутки								
			2-е	7-е	15-е	2-е	7-е	15-е	2-е	7-е	15-е
Контроль ($M \pm m$)			45,35 \pm 6,89			25,44 \pm 3,85			3,29 \pm 0,62		
Г.	27	Левая ягодица, левое бедро; оскольчатый перелом седалищной кости	—	1101,20	130,95	—	505,73	86,55	—	15,22	2,66
М.	19	Правая ягодица, левый коленный сустав с повреждением сосудисто-нервного пучка	—	152,54	113,83	—	135,83	124,00	—	6,66	5,02
З.	24	Правая голень, многооскольчатый перелом обеих костей голени	—	78,30	60,47	—	35,55	20,44	—	3,37	0,87
П.	19	Левая голень, перелом малоберцовой кости	—	176,33	59,51	—	32,92	26,50	—	5,05	1,69
С.	16	Левая голень, левое бедро: костных повреждений нет	—	403,73	42,47	—	22,15	12,44	—	53,58	1,58
Е.	34	Правое бедро; костных повреждений нет	56,96	80,82	11,40	16,36	7,65	5,28	1,33	3,03	0,42
И.	53	Правая ягодица; костных повреждений нет	—	31,82	27,64	—	14,89	16,39	—	0,42	0,61
<i>M</i>			—	289,25	63,75	—	107,82	41,65	—	12,48	1,84
$\pm m$			—	142,92	16,58	—	68,30	17,11	—	7,08	0,60
<i>p</i> *			—	<0,05	>0,05	—	>0,05	>0,05	—	>0,05	>0,05

*По критерию Вилкоксона-Манна-Уитни.

троль почти в 3 раза ($p < 0,001$), на 15-е сутки — в 2 раза ($p < 0,02$). Причиной этого повышения, как установлено при механической травме, является усиленный распад мышечных белков, что, конечно, происходит и при огнестрельной травме нижних конечностей. В то же время следует отметить, что в биохимической диагностике большее значение имеет креатинин крови, чем креатинин мочи. Огнестрельная травма в этом аспекте представляет некоторую специфику — усиленная экскреция креатинина с мочой в общей патологии встречается редко.

Таким образом, в настоящей работе впервые биохимическими методами доказана патология соединительной ткани при огнестрельной травме нижних конечностей у людей. Исследованные параметры могут быть критерием развития травматической болезни при огнестрельной травме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дерябин И.И., Насонкин О.С. Травматическая болезнь. — Л., 1987.
2. Герасимов А.М., Фурцева Л.Н. Биохимическая диагностика в травматологии и ортопедии. — М., 1986.
3. Крель А.А., Фурцева Л.Н. //Вопр. мед. химии. — 1968. — Т. 14, № 6. — С. 635—640.
4. Меркурьева Р.В. Гликозаминогликаны и гликопротеиды при некоторых заболеваниях и повреждениях опорно-двигательного аппарата: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — М., 1973.
5. Тихомиров А.Г., Бережный А.П., Снетков А.И., Герасимов А.М. //Метаболические остеопатии. — М., 1993. — С. 64—65.
6. Dische Z. //J. biol. Chem. — 1947. — Vol. 167, № 1. — P. 189.
7. Linko-Lopponen S. //Clin. chim. Acta. — 1986. — Vol. 160, № 2. — P. 123—127.
8. Mead J.A.R., Smith J.H., Williams R.T. //Biochem. J. — 1955. — Vol. 61. — P. 569—574.
9. Robins E. et al. //J. biol. Chem. — 1968. — Vol. 243, № 16. — P. 4246—4252.

DISTURBANCE OF CONNECTIVE TISSUE METABOLISM IN GUNSHOT INJURY OF LOWER EXTREMITIES

Yu.G. Shaposhnikov, A.M. Gerasimov, I.A. Bogdanova, L.H. Furtseva, A.G. Tikhomirov, N.I. Arzhakova

Total urine excretion of glycosaminoglycans, glycosaminoglycans spectrum (electrophoresis on acetate cellulose) activity of 3 lysosomal enzymes which participated in the breakdown of glycosaminoglycans and were very sensitive indicators of renal damage as well as oxyproline (marker of collagen breakdown) and creatinine (typical index of muscle breakdown) were studied in 7 patients with gunshot injuries of lower extremities during the early phase of traumatic disease (on 2, 7, 15 days). Increased urine excretion of glycosaminoglycans, mainly chondroitin sulfate, N-acetyl- β -glucosaminidase, oxyproline as well as creatinine was detected. Maximum excretion was noted on day 7 after injury infliction. By day 15 most of biochemical parameters, except for creatinine, returned to normal level. The results obtained showed that during early phase of traumatic disease gunshot injury caused the breakdown of the intracellular matrix of connective tissue.