

РОЛЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЛОЖНЫХ СУСТАВОВ ДЛИННЫХ КОСТЕЙ

Р.З. Уразгильдеев, Г.А. Кесян, В.Н. Варфоломеев, В.Н. Штолько

ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова», Минздрава России, Москва; ФГБУН «Институт проблем химической физики РАН», Черноголовка, РФ

Представлены результаты изучения особенностей состояния перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защиты при повреждениях опорно-двигательного аппарата. Обследованы 49 пациентов с несросшимися переломами и ложными суставами длинных костей конечностей с осложненным и неосложненным течением, а также 15 практически здоровых лиц, показатели которых служили в качестве контроля. Измеряли содержание первичных продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов (ДК) и количество двойных связей (ДС) в ненасыщенных жирных кислотах (НЖК) в плазме крови. В группе больных с ложными суставами, осложненными гнойно-воспалительным процессом, наблюдалось наибольшее содержание ДК и количество ДС НЖК. У пациентов с несращением переломов содержание ДК и ДС превышало показатели пациентов с нормально протекающим процессом заживления перелома, но не достигало таковых в группе больных с гнойными осложнениями. Также в этой группе констатировано снижение содержания липидов в плазме крови, осмотической стойкости эритроцитов и повышение содержания церулоплазмينا. На основании полученных данных для комплексной оценки состояния пациентов с ложными суставами и возможности прогнозирования возникновения осложнений предложены интегральные показатели.

Ключевые слова: ложный сустав, гнойно-воспалительные осложнения, диеновые конъюгаты, двойные связи, ненасыщенные жирные кислоты, свободнорадикальные процессы, антиоксиданты, церулоплазмин, осмотическая резистентность эритроцитов.

Role of Lipid Peroxide Oxidation in Pathogenesis of Long Bone Pseudarthrosis

R.Z. Urazgil'deev, G.A. Kesyan, V.N. Varfolomeev, V.N. Shtol'ko

The study of peculiarities of lipid peroxide oxidation (LPO) and antioxidant defense in locomotor injuries was presented. There were 49 patients with complicated and uncomplicated ununited fractures as well as pseudarthrosis of long bones. Control group consisted of 15 healthy persons. Primary products of LPO (diene conjugates (DC) and quantity of double bonds (DB) in unsaturated fatty acids (UFA) were determined in plasma. In patients with pseudarthrosis complicated by purulent inflammatory process content of DC and DB UFA were the highest. In patients with ununited fractures DC and DB were higher in comparison with patients with normal healing fractures. In tested group plasma lipids and erythrocyte osmotic resistance were decreased but ceruloplasmin was increased. Based on data obtained integral indicis for complex evaluation of patient status and possible complications were suggested.

Key words: pseudarthrosis, purulent-inflammatory complications, diene conjugates, double bonds, unsaturated fatty acids, free radical processes, antioxidants, ceruloplasmin, erythrocyte osmotic resistance.

Развитие цивилизации, урбанизация общества, локальные вооруженные конфликты, рост числа дорожно-транспортных происшествий, техногенные катастрофы и бытовые травмы сопровождаются увеличением количества травм опорно-двигательного аппарата. При этом доля неудовлетворительных исходов лечения, таких как замедленная консолидация и несращение переломов, формирование ложных суставов и дефектов длинных костей конечностей, остается довольно высокой. Вместе с тем неудовлетворительные результаты лечения самих ложных суставов составляют, по данным современных источников, от 5 до

40% [1–3]. Весьма актуальным для выбора адекватной тактики лечения ложных суставов длинных костей конечностей является раннее прогнозирование, способствующее разработке новых, эффективных подходов к лечению больных с данной патологией [4].

Одними из важных составляющих нарушения репаративной регенерации ряд исследователей считает микроциркуляторные изменения в очаге поражения. В случаях формирования ложных суставов именно система микроциркуляции, особенно ее нутритивное звено, наиболее «чутко» реагирует на изменения регионарного метаболизма и

регенерацию кости, так как физиологически активность нутритивного кровотока напрямую связана с потреблением кислорода в тканях по принципу «доставка — потребление» [5]. Нарушение кровотока (спазм, сладж-синдром) при ложных суставах сопровождается патологической цепной реакцией перекисного окисления липидов (ПОЛ), характеризующейся разрушением органических структур, в первую очередь липидов и соответственно мембран клеток, в зоне формирующегося ложного сустава

Исследования процессов ПОЛ и антиоксидантной активности плазмы крови при повреждениях опорно-двигательного аппарата касаются в основном осложнений гнойно-воспалительного характера при ургентной травме (острые и хронические остеомиелиты) [6]. Метаболические аспекты патогенеза ложного сустава изучены мало, в литературе встречаются лишь отдельные сообщения.

Поиск доступных и информативных критериев, позволяющих оценивать состояние больных с несросшимися переломами и ложными суставами костей конечностей, контролировать эффективность проводимого лечения, прогнозировать развитие осложнений, является актуальной задачей.

Целью исследования было оценить состояние системы ПОЛ и антиоксидантной защиты (АОЗ) у больных с несросшимися переломами и ложными суставами и разработать интегральные критерии оценки состояния пострадавших в целях прогноза и контроля динамики восстановительного процесса.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе руководствовались этическими принципами, представленными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2000 г.) и Правилами клинической практики в Российской Федерации, утвержденными приказом Минздрава РФ от 19.06.03 №266.

Проведено комплексное клиничко-лабораторное обследование 49 пациентов с ложными суставами длинных костей, лечившихся стационарно.

О возникновении дисбаланса в системе ПОЛ — АОЗ судили по уровню диеновых конъюгатов (ДК) и двойных связей (ДС) в липидах плазмы крови.

Липиды выделяли по методике [7], добавляя к плазме крови смесь хлороформа, метанола и воды в соотношении 1:2:0,8, учитывая воду, содержащуюся в плазме. Смесь встряхивали несколько раз и оставляли в холодильнике на 1 ч, затем добавляли хлороформ и воду до соотношения хлороформ : метанол : вода, равного 2:2:1,8. Нижний хлороформенный слой, содержащий липиды, отделяли, высушивали, количество выделившихся липидов определяли в аликвоте раствора. Диеновые конъюгаты определяли после растворения липидов в смеси метанол : гексан (7:1) в концентрации 0,5 мг/мл и регистрации спектров поглощения в интервале

от 200 до 300 нм на спектрофотометре. Степень развития ПОЛ характеризовали по отношению пиков оптической плотности при $\lambda=232$ нм к оптической плотности при $\lambda=215$ нм, характеризующей поглощение неокисленных липидов [8]. Суммарную ненасыщенность липидов (содержание ДС) определяли методом озонирования липидов после растворения их в четыреххлористом углероде в концентрации 0,4 мг/мл (0,05 мл раствора) на анализаторе двойных связей АДС-4М (Россия) [9].

О гемолитической устойчивости эритроцитов судили по их осмотической стойкости. Долю осмотически устойчивых эритроцитов определяли методом регистрации мутности суспензии эритроцитов [10].

Концентрацию церулоплазмينا (ЦП) определяли согласно [11]. В качестве субстрата использовали о-фенилиндиамин (ОФД). Для подавления реакции его окисления используют 96% H_2SO_4 . Раствор ОФД готовили из расчета добавления 150 мг ОФД на каждые 25 мл ацетатного буфера (рН=4,0). Данный раствор делают непосредственно перед измерением, поскольку он малостабилен из-за реакции аутоокисления. В каждую пробирку вносят по 3 мл раствора ОФД указанной концентрации, прогревают 10 мин при 37°C, затем вносят 60 мкл исследуемого образца плазмы крови и продолжают термостатирование в течение 15 мин. Реакцию останавливают добавлением 60 мкл 96% H_2SO_4 . Через 5–10 мин определяют величину оптической плотности растворов при $\lambda=492$ нм против раствора сравнения, содержащего те же компоненты, что и анализируемые растворы, с той лишь разницей, что анализируемый образец вносят в пробирку после добавления H_2SO_4 , что позволяет учитывать фоновую реакцию аутоокисления субстрата. Поскольку оптическая плотность растворов прямо пропорциональна концентрации ЦП, эти величины можно использовать в качестве показателя содержания ЦП в условных единицах.

При статистической обработке для определения доверительных интервалов и оценки достоверности полученных результатов рассчитывали величины среднеквадратичного отклонения (σ) и критерия Стьюдента (t) с применением компьютерных программ. Различия считали достоверными при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У 20 пациентов (1-я группа) с нормально протекающим репаративным остеогенезом были удалены фиксирующие металлоконструкции после сращения в месте бывшего ложного сустава. Вторую группу составили 20 больных, которых прооперировали в связи с имеющимися ложными суставами конечности суставами длинных костей конечностей. В 3-ю группу вошли 9 больных, у которых интраоперационно были обнаружены признаки гнойно-воспалительного процесса после ранее произведенного вмешательства. Данные группы боль-

ных не имели значимых различий по возрасту, полу и по сегментной локализации повреждений. В качестве нормы использовали показатели 15 практически здоровых доноров (контрольная группа).

Использование в клинической лабораторной диагностике новых физико-химических методов, основанных на современных представлениях о характере молекулярно-биологических процессов, позволяет дать интегральную оценку нарушений обменных процессов. По мнению ряда исследователей, именно интегральные показатели характеризуются наибольшей информативностью по сравнению с отдельными показателями. Поиск путей интеграции этих критериев в полной мере относится и к обмену липидов. Среди метаболитов, участвующих в регуляции многочисленных функций организма, особое значение имеют ненасыщенные жирные кислоты (НЖК). В последние годы чрезвычайно возрос интерес к изучению биологических свойств НЖК и их роли в метаболических реакциях организма. Высокая метаболическая активность НЖК, участие их в структурно-функциональных взаимодействиях биологических мембран позволяют использовать их показатели для интегральной оценки нарушений метаболизма липидов [12]. Перспективным методом определения ненасыщенности липидов плазмы крови и плазматических мембран клеток является регистрация суммарного количества ДС в НЖК. В настоящем исследовании для интегральной оценки нарушений липидного обмена у больных с ложными суставами изучали суммарную ненасыщенность липидов по показателям ДС.

Нарушение структурно-функциональной организации мембран связано с дисбалансом в про- и антиоксидантной системах и происходит за счет активации процессов ПОЛ. Мембранные нарушения могут быть выражены в различной степени (от незначительной дезинтеграции с развитием их дисфункций до деструкции и гибели клетки), что зависит от состояния системы АОЗ, роль которой заключается в защите клеток и тканей от действия свободных радикалов и продуктов трансформации.

Как видно из табл. 1, незначительные отклонения показателей липидного обмена в группе пациентов с нормально протекающим процессом консолидации костных отломков не носили статистически значимый характер. Следует отметить, что в данной группе были представлены больные, которые на мо-

мент исследования были госпитализированы в стационар с признаками консолидации в зоне бывшего несращения для удаления металлоконструкций.

Иная картина наблюдалась во 2-й и 3-й группах больных: содержание ДС по сравнению с нормой было увеличено на 42,2 и 95,3% соответственно. По всей видимости, адаптационные механизмы, запускающиеся в ответ на стрессорную ситуацию, у данных больных не справляются с возникшими нарушениями в организме. Включается система, регулирующая обмен фосфолипидов мембран, что может приводить к изменению состава НЖК, отношения липид/липид, липид/белок, фосфолипид/холестерин. В результате нарушения структуры мембран (будет рассмотрено ниже на примере мембран эритроцитов) липиды выходят во внеклеточное пространство. Кроме того, включаются процессы синтеза фосфолипидов *de novo*. Функционированием этих процессов и можно объяснить рост содержания ДС.

Содержание ДК (см. табл. 1) у больных с нормально протекающим процессом остеогенеза также не выходило за пределы физиологических значений. Наблюдалось даже небольшое, статистически незначимое, уменьшение величины этого показателя. В организме существует система, включающая ферменты с противоположным взаимоисключающим эффектом. С одной стороны, это ферменты, ответственные за генерацию активных форм кислорода (АФК), с другой — антирадикальные, антиокислительные ферменты, устраняющие АФК и разлагающие липидные пероксиды радикальным путем, и система из низкомолекулярных регуляторов свободнорадикального окисления липидов, выполняющих роль инициаторов, катализаторов, тушителей, ингибиторов и синергистов. По всей видимости, благодаря сбалансированному действию этих систем у пациентов этой группы мы не выявили роста содержания ДК. Во 2-й и 3-й группах наблюдалось увеличение содержания ДК на 16 и 52% соответственно.

Еще один показатель, соответствующий тяжести состояния больного, — уровень фосфолипидов, который во 2-й и 3-й группах был снижен на 40,2 и 61,5% соответственно.

Мы ввели еще один показатель *K*, который рассчитывали по формуле $K = ДС \cdot ДК$ (усл. ед.), характеризующий липидный обмен и позволяющий отнести пациентов ко 2-й или 3-й группе с высокой степенью достоверности. Как видно из табл. 1,

Табл. 1. Параметры липидного обмена

Группа	ДС · 10 ⁻¹ мМ/мг липидов	ДК · 10 ⁻¹ , усл. ед.	ДС · ДК · 10 ⁻² , усл. ед.	Количество липидов, мг/мл
Контрольная	23,30±2,10	2,20±0,13	51,30±5,70	11,70±1,10
1-я	25,30±3,40**	1,94±0,18	49,10±7,10	11,60±1,30
2-я	33,20±3,60*	2,55±0,21*	84,60±15,30*	7,00±1,60*
3-я	45,50±3,90*	3,35±0,19*	152,40±22,40*	4,50±1,90*

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: **p*<0,001, ***p*<0,05 по сравнению с контролем.

величина рассматриваемого показателя K была увеличена в этих группах в 1,65 и 2,97 раза соответственно.

Можно ожидать, что результаты проведения данных исследований при поступлении больных в клинику позволят прогнозировать вероятность развития осложнений у пациентов.

Для количественной оценки структурных характеристик эритроцитарных мембран используется воспроизводимый в контролируемых экспериментальных условиях гемолиз эритроцитов. Этой моделью является разработанная нами ранее методика экспериментально воспроизводимого осмотического гемолиза [13]. В соответствии с данной методикой механические свойства эритроцитов определяются их осмотической стойкостью — долей клеток в суспензии, разрушившихся или сохранивших целостность мембраны в условиях осмотического шока.

Действие любого внешнего фактора помимо механической имеет также и физико-химическую составляющую. Это связано с тем, что основой биологических мембран, образующих структурно-функциональный каркас живой клетки, является липидный субстрат, в котором могут легко возникать и быстро развиваться цепные реакции ПОЛ. Таким образом, способность мембранных структур противостоять развитию в них процессов ПОЛ во многом определяет устойчивость всего организма к действию самых различных неблагоприятных факторов.

Свойства мембран эритроцитов определяют многообразие их форм и реологические характеристики крови, а также обеспечивают сохранение целостности эритроцитов в кровотоке при значительных деформирующих напряжениях. Молекулярная структура мембран эритроцитов, динамика ее перестройки изменяются под влиянием условий внешней среды и действием различных агентов и физических факторов. Известно, что популяция эритроцитов цельной крови характеризуется неоднородностью как по времени жизни, так и по физико-химическим свойствам. Данный подход позволяет изучать распределение эритроцитов по стойкости к действию различных факторов. При варьировании осмолярности внешней среды нарушается баланс действующих в мембране сил, что приводит к изменению структурного состояния и степени агрегации мембранных белков. В результате дестабилизации мембраны происходит лизис эритроцитов. Изучение механизмов и закономерностей гемолиза эритроцитов позволяет получить информацию о структурной организации мембраны и судить о влиянии того или иного фактора на состояние мембраны.

Как видно из табл. 2, статистически значимое снижение содержания низкостойких эритроцитов наблюдалось у пациентов с ложным суставом без осложнений (2-я группа) и ложным суставом, отягощенными нагноением (3-я группа) и составило

Табл. 2. Популяционный состав эритроцитов крови

Группа	Популяция эритроцитов, %		
	низкостойкие	среднестойкие	высокостойкие
Контрольная	19,2±0,8	53,4±2,6	22,7±2,3
1-я	18,3±0,8	52,1±3,6	21,4±2,8
2-я	17,9±0,7	46,2±4,1	15,8±1,5*
3-я	15,2±0,9*	40,6±2,8*	5,2±0,8*

7,8 и 20,8% соответственно по сравнению с группой доноров. Для среднестойких эритроцитов статистически значимое уменьшение их содержания наблюдалось только в группе пациентов с ложным суставом, отягощенным нагноением, и составило 32%. Наиболее существенные различия отмечены в популяции высокостойких эритроцитов: их уровень во 2-й и 3-й группах снизился на 30,8 и 77% соответственно.

Нами предложены два коэффициента, использование которых позволяет с высокой степенью вероятности определять наличие гнойного осложнения: отношение количества высокостойких эритроцитов к низкостойким (K_1) и высокостойких эритроцитов к среднестойким (K_2). В нашем исследовании K_1 и K_2 в группах сравнения были уменьшены в 3,8 и 3,3 раза соответственно.

Любые экзогенные воздействия или патология сопровождаются как локальными изменениями, так и системным ответом. Биологический смысл местной реакции заключается в ограничении и ликвидации повреждающего фактора, в то время как системный ответ направлен на восстановление гомеостаза. К элементам такого системного ответа относятся и так называемые «реактанты острой фазы», включающие большую группу белков, в том числе церулоплазмин (ЦП). Белки острой фазы играют роль медиаторов и ингибиторов, а также перехватчиков продуктов, выделяемых из поврежденных тканей и макрофагов. Кроме того, некоторые белки могут влиять на иммунный ответ, изменяющийся при воспалении.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что содержание ЦП в группе пациентов с нормальным процессом консолидации перелома статистически значимо не отличалось от нормы. Во 2-й и 3-й группах уровень ЦП был повышен в 1,42 и 1,95 раза соответственно (табл. 3).

Похожие результаты получены в [14], где показано, что с увеличением тяжести мягкотканной огнестрельной раны увеличивается содержание ЦП. Изменения содержания ЦП авторы рассматрива-

Табл. 3. Содержание ЦП в плазме крови

Группа	ЦП, усл. ед.
Контрольная	23,3±2,1
1-я	25,3±3,4**
2-я	33,2±3,6*
3-я	45,5±3,9*

ют как защитную реакцию организма, направленную на поддержание гомеостаза. На это указывают накопленные к настоящему времени данные о корректирующем влиянии экзогенного ЦП на ряд патологий. Дальнейший характер изменения содержания ЦП зависит от того, возникают или нет осложнения раневого процесса. При заживлении раны первичным или вторичным натяжением уровень ЦП постепенно нормализуется. В случае различных осложнений (выраженный очаг воспаления, высокая температура, сопутствующие заболевания и т.п.) наблюдается дальнейшее увеличение содержания ЦП, причем прогрессивное увеличение этого показателя практически во всех случаях приводит к гибели животного. В наших исследованиях прослеживалась подобная закономерность: увеличение содержания ЦП на фоне возникновения различных осложнений в процессе остеогенеза.

Таким образом, в «острой фазе» реализуется физиологический механизм, сопровождающийся изменением содержания в плазме крови компонентов, модулирующих воспаление и действующих как на природу воспалительных повреждений, так и на процессы репарации и регенерации. Полученные данные наглядно демонстрируют клинические возможности изучения изменений содержания ЦП. Хотя последние не могут являться первичным диагностическим тестом вследствие того, что наблюдаются при многих патологических процессах, они могут быть положены в основу медико-биологического мониторинга развития той или иной патологии.

Изменения интенсивности ПОЛ, показатели АОЗ в плазме крови, а также исследование популяционного состава эритроцитов крови, различающихся по осмотической резистентности, могут служить для оценки степени тяжести повреждения, прогноза активности репаративных процессов и возможных осложнений воспалительного характера у больных с несросшимися переломами и ложными суставами. Динамика показателей липидного обмена в плазме крови может использоваться для оценки интенсивности репаративных процессов и адекватности проводимого лечения травматологических больных.

Хотя представленные тесты не указывают на специфичность патологического процесса, при сопоставлении с другими клиническими и рентгенологическими признаками они оказывают помощь в диагностике ранних стадий рассматриваемой патологии и позволяют судить об уровне активности процесса.

Таким образом, выявлена тесная корреляция между показателями продуктов ПОЛ в зависимости от степени тяжести патологического процесса в очаге поражения (сросшийся, несросшийся или осложненный нагноением ложный сустав) у пациентов 1-й группы, когда показатели ПОЛ приближаются к норме, срабатывает собственная антиок-

сидантная защитная система. В то же время во 2-й и 3-й группах высокий уровень продуктов ПОЛ говорит о дефиците активности этой системы и, следовательно, обуславливает необходимость применения антиоксидантной терапии (аевит, селенат натрия и т.д.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Шевцов В.И., Макушин В.Д., Куфтырев Л.М., Солдатов Ю.П. Псевдоартрозы, дефекты длинных костей верхней конечности и контрактуры локтевого сустава (базовые технологии лечения аппаратом Иллизарова). Курган; 2001.
2. Бауэр И.В. Научное обоснование и разработка современных методов диагностики и хирургического лечения псевдоартрозов (клинико-морфологическое исследование). Дис. ... д-ра мед. наук; Новосибирск; 2007.
3. Скляничук Е.Д., Зоря В.И., Гурьев В.В., Васильев А.П. Эндостальная декортикация как важнейший фактор эффективности хирургического лечения последствий тяжелой скелетной травмы с нарушением костной регенерации. Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. 2009; 1: 19–25.
4. Мамаев В.И. Оптимизация хирургического лечения последствий переломов костей с использованием прототипических алгоритмов: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук; Курган; 2010.
5. Миронов С.П., Еськин Н.А., Крупаткин А.И., Кесян Г.А., Уразильдеев Р.З., Арсеньев И.Г. Патологические аспекты микроциркуляции мягких тканей в проекции ложных суставов длинных трубчатых костей. Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. 2012; 4: 22–6.
6. Мироманов А.М., Намоконов Е.В., Миронова О.Б., Усков С.А., Бусоедов А.В., Мироманова Н.А. Диагностика гнойных осложнений у больных с переломами длинных трубчатых костей. Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2010; 5: 56–9.
7. Пальмина Н.П. Особенности перекисного окисления липидов в биологических мембранах в присутствии сверхмалых доз антиоксидантов. Химическая и биологическая кинетика. Новые горизонты. т. 2. М.: Химия; 2005: 77–102.
8. Ещенко Н.Д., Маслова М.Н., ред. Практикум по свободнорадикальному окислению: Учебно-методическое пособие. СПб; 2006.
9. Разумовский С.Д., Заиков Г.Е. Озон и его реакция с органическими соединениями. М.: Наука; 1975: 261.
10. Потапенко А.Я., Кягова А.А., Тихомиров А.М. Осмотическая устойчивость эритроцитов: Учебное пособие. М.: 2006.
11. Сиверина О.Б., Басевич В.В., Басова Р.В., Гавриш И.Н., Ярополов А.И. Метод количественного определения церулоплазмينا. Лабораторное дело. 1986; 10: 618–20.
12. Машевский А.А., Прохоров В.И., Лисицын Д.М., Державец Л.А., Машевская Е.А., Цырус Т.П. Исследование двойных связей жирных кислот липидов методом озонирования у онкологических больных. Клиническая лабораторная диагностика. 2006; 6: 41–3.
13. Варфоломеев В.Н., Богланов Г.Н. и др. Отчет ИПХФ РАН «Исследование новых контрольно-диагностических критериев оценки тяжести боевой травмы и биотехнологических методов лечения». М.; 2004.
14. Варфоломеев В.Н. Модели и прогностические критерии в оценке действия антропогенных факторов на живые организмы и модельные системы: Дис. ... д-ра биол. наук; М.; 2003: 120.

REFERENCES

1. *Shevtsov V.I., Makushin V.D., Kuftyrev L.M., Soldatov Yu.P.* Pseudarthroses. Defects of upper extremity long bones and elbow contractures (basic technology of treatment by Ilizarov device): Kurgan: 2001 (in Russian).
2. *Bauer I.V.* Scientific basing and elaboration of modern methods for diagnosis and surgical treatment of pseudarthrosis (clinical morphologic study): Dr. med. sci. Diss.; Novosibirsk: 2007 (in Russian).
3. *Sklyunchuk E.D., Zorya V.I., Gur'ev V.V., Vasil'ev A.P.* Endosteal decortication as the basic factor for effective surgical treatment of the consequences of severe skeletal injury with bone regeneration disturbance. *Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N. Priorova.* 2009; 1: 19–25 (in Russian).
4. *Mamaev V.I.* Optimization in surgical treatment of bone fractures consequences using prognostic algorithms: Dr. med. sci. Diss.; Kurgan; 2010 (in Russian).
5. *Mironov S.P., Es'kin N.A., Krupatkin A.I., Kesyan G.A., Urazgil'deev R.Z., Arsen'ev I.G.* Pathophysiologic aspects of soft tissue microcirculation in the zone of long bones pseudarthrosis. *Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N. Priorova.* 2012; 4: 22–6 (in Russian).
6. *Miromanov A.M., Namokonov E.V., Moronova O.B., Uskov S.A., Busoedov A.V., Miromanova N.A.* Diagnostics of septic complications after long tubular bone fractures. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova.* 2010; 4: 56–9 (in Russian).
7. *Pal'mina N.P.* Peculiarities of lipid peroxide oxidation in biologic membranes in presence of minimal doses of antioxidants. *New horizon.* v. 2. M.: Khimiya; 2005: 77–102 (in Russian).
8. *Eshchenko N.D., Maslova M.N. eds.* Practical work for free radical oxidation. Manual. St. Petersburg; 2006 (in Russian).
9. *Rasumovskiy S.D., Zaikov G.E.* Ozone and its reaction with organic compounds. Moscow. Nauka; 1975; 261 (in Russian).
10. *Potapenko A.Yu., Kyagova A.A., Tikhomirov A.M.* Osmotic resistance of erythrocytes. Manual; Moscow: 2006 (in Russian)
11. *Siverina O.B., Basovich V.V., Basova R.V., Gavrish I.N., Yaropolov A.I.* Method of quantitative evaluation of ceruloplasmin. *Laboratornoe delo.* 1986; 10; 618–20 (in Russian).
12. *Mashevskiy A.A., Prokhanov V.I., Lissistyn D.M., Derzhavest L.A., Mashevskaya E.A., Styus' T.P.* Study of double bonds of fatty acids by ozonization of oncologic patients, *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2006; 6; 41–3 (in Russian).
13. *Varfolomeev V.N., Boglanov G. N. et al.* Study of new control diagnostic criteria for the evaluation of battle trauma and biotechnologic treatment methods. Report IP RAN; M.; 2004 (in Russian).
14. *Varfolomeev V.N.* Patterns and prognostic criteria in evaluation of antropogenic factors affect at alive organisms and pattern systems. Dr. biol. sci. Diss. M.; 2003; 120 (in Russian).

Сведения об авторах: *Уразгильдеев Р.З.* — канд. мед. наук, ведущий науч. сотр. отделения ортопедии взрослых ЦИТО; *Кесян Г.А.* — доктор мед. наук, зав. отделением ортопедии взрослых ЦИТО; *Варфоломеев В.Н.* — доктор биол. наук, ведущий науч. сотр., руководитель группы свободных радикалов в биосистемах ИПХФ РАН; *Штолько В.Н.* — канд. мед. наук, старший науч. сотр. группы свободных радикалов в биосистемах ИПХФ РАН.
Для контактов: Кесян Гурген Абаветович. 127299, Москва, ул. Приорова, дом 10, ЦИТО. Тел.: (495) 708-80-24. E-mail: Kesyan.gurgen@yandex.ru

ВНИМАНИЮ АВТОРОВ!

При направлении статей в редакцию просим обращать особое внимание на правильность представления иллюстративного материала.

Прилагаемые иллюстрации (фотографии, рисунки, чертежи, диаграммы) по качеству должны быть пригодными для полиграфического воспроизведения. Фотографии должны быть контрастными, рисунки — четкими, чертежи и диаграммы выполняются тушью или печатаются на принтере с высоким разрешением. Дополнительные обозначения (стрелки, буквы и т.п.) даются только на одном экземпляре рисунка. На обороте каждой иллюстрации ставятся номер рисунка, фамилия автора и пометки «верх» и «низ». Фотоотпечатки с рентгенограмм желательно присылать со схемой.

Иллюстрации могут быть представлены в электронной версии — обязательно как отдельные графические файлы (без дополнительных обозначений — стрелок, букв и т.п.): в формате TIFF (разрешение 400 dpi), векторные рисунки — в виде публикации Corel Draw, диаграммы — в виде таблиц данных Excel. Используются следующие типы носителей: CD, DVD, Flash-носители, дискеты 1,44 МВ, возможна доставка материала по электронной почте. При этом обязательно прилагаются распечатанные иллюстрации.

Подписи к рисункам печатаются на отдельном листе с указанием номера рисунка. В тексте обязательно дается ссылка на каждый рисунок. В подписях приводится объяснение значения всех кривых, букв, цифр и других условных обозначений. В подписях к микрофотографиям указывается увеличение (окуляр, объектив) и метод окраски или импрегнации материала.