

УДК 616.71-002.2

Мироманов А.М., Миронова О.Б., Трубицын М.В.,  
Мироманова Н.А., Намоконов Е.В., Терешков П.П.

## ЗНАЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВЫСШИХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ОЦЕНКЕ РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ТРАВМАТИЧЕСКОГО ОСТЕОМИЕЛИТА

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Читинская государственная медицинская академия  
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Чита, Россия*

### **Резюме.**

**Цель исследования** - оценить диагностическую значимость показателей высших жирных кислот в развитии травматического остеомиелита у больных с переломами длинных костей конечностей.

**Материалы и методы.** Проведено обследование 30 пациентов в возрасте от 20 до 40 лет с хроническим травматическим остеомиелитом. Контрольную группу составили 30 практически здоровых мужчин и женщин в возрасте от 20 до 40 лет. Критерием исключения из групп являлось наличие острых или хронических сопутствующих заболеваний. **Изучение параметров высших жирных кислот с короткой и длинной углеводородной цепью** ( $C_{14:0}$  - миристиновая,  $C_{16:0}$  - пальмитиновая,  $C_{16:1}$  - пальмитоолеиновая,  $C_{18:0}$  - стеариновая,  $C_{18:1}$  - олеиновая,  $C_{18:2\omega6}$  - линолевая,  $C_{18:3\omega3}$  -  $\alpha$ -линоленовая,  $C_{18:3\omega6}$  -  $\gamma$ -линоленовая,  $C_{20:3\omega6}$  - дигомо- $\gamma$ -линоленовая,  $C_{20:4\omega6}$  - арахидоновая кислоты), осуществляли с помощью газожидкостной хроматографии. Различия оценивали с помощью критерия Манна-Уитни, достоверными считались результаты при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** У пациентов с хроническим травматическим остеомиелитом выявлены изменения в спектре жирных кислот липидов сыворотки крови, характеризующиеся повышением величин насыщенных кислот и снижением величин ненасыщенных жирных кислот. Среди моноеновых насыщенных жирных кислот преобладала пальмитиновая кислота, уровень которой увеличился в 1,13 раз по сравнению с контролем. Снижения уровня полиненасыщенных наблюдалось за счет дефицита кислоты серии  $\omega-3$  -  $\alpha$ -линоленовой - в 3 раза, по сравнению с контролем. Дефицит жирных кислот  $\omega-6$  серии, главным образом, складывался за счет уменьшения дигомо- $\gamma$ -линоленовой ( $C_{20:3\omega6}$ ) и арахидоновой ( $C_{20:4\omega6}$ ) кислот в 1,7 раз и 1,4 раза, соответственно, по сопоставлению с группой контроля.

**Заключение.** При хроническом травматическом остеомиелите, в сыворотке крови регистрируется высокий уровень насыщенных жирных кислот, главным образом, за счет увеличения количества  $C_{16:0}$  и низкое содержание ненасыщенных жирных кислот -  $C_{18:2\omega6}$ ,  $C_{18:3\omega3}$ ,  $C_{18:3\omega6}$ ,  $C_{20:3\omega6}$  и  $C_{20:4\omega6}$ .

**Ключевые слова:** переломы, травматический остеомиелит, высшие жирные кислоты, диагностика.

Miromanov A.M., Mironova O.B., Trubitsyn M.V.,  
Miromanova N.A., Namokonov E.V., Tereshkov P.P.

### VALUE OF INDICATORS OF THE FATTY ACIDS IN DEVELOPMENT OF CHRONIC TRAUMATIC OSTEOMYELITIS

Chita state medical academy, Chita, Russia

### **Summary.**

**The aim of the research.** To estimate the diagnostic importance of indicators of the highest fatty acids in development of traumatic osteomyelitis in patients with fractures of long bones of extremities.

**Materials and methods.** Examination of 30 patients aged from 20 up to 40 years with chronic traumatic osteomyelitis is conducted. The control group was made by 30 almost healthy men and women aged from 20 up to 40 years. Criterion of an exception of groups was existence of sharp or chronic associated diseases. Studying of parameters of the highest fatty acids with a short and long hydrocarbonic chain ( $C_{14:0}$  - myristic,  $C_{16:0}$  - palmitic,  $C_{16:1}$  - palmitooleinic,  $C_{18:0}$  - stearic,  $C_{18:1}$  - oleinic,  $C_{18:2\omega6}$  - linolic,  $C_{18:3\omega3}$  -  $\alpha$ -linolenic,  $C_{18:3\omega6}$ - $\gamma$ -linolenic,  $C_{20:3\omega6}$  - dihome- $\gamma$ -linolenic acid,  $C_{20:4\omega6}$  - arachidonic), was carried out by means of a gas-liquid chromatography. Distinctions estimated by means of Mann-Whitney's criterion.

**Results.** At patients with chronic traumatic osteomyelitis the changes in a range of fatty acids of lipids of serum of blood which are characterized by increase in sizes of saturated acids and decrease in sizes of non-saturated fatty acids are revealed. Among the monounsaturated fatty acids palmitic acid which level has increased by 1,13 times in comparison with control prevailed. Decrease in level of polynounsaturated it was observed due to deficiency of acid of a series  $\omega-3$  -  $\alpha$ -linolenic by 3 times, in comparison with control. Defi-

ciency of fatty acids  $\omega$ -6 series, mainly, developed due to reduction dihomo- $\gamma$ -linolenic (C20:3 $\omega$ -6) and arachidonic (C20:4 $\omega$ -6) acids by 1,7 times and 1,4 times, respectively, on comparison to group of control.

**Conclusion.** At chronic traumatic osteomyelitis, in serum of blood the high level of saturated fatty acids, mainly, due to increase in quantity of C16:0 and the low content of nonsaturated fatty acids - C18:2 $\omega$ 6, C18:3 $\omega$ 3, C18:3 $\omega$ 6, C20:3 $\omega$ 6 and C20:4 $\omega$ 6 is registered.

**Keywords:** fractures, traumatic osteomyelitis, the highest fatty acids, diagnostics.

**Актуальность.** В современных условиях травматизм остается одной из важных социальных проблем. В общей структуре временной нетрудоспособности травмы и заболевания костно-мышечной системы составляют до 30% от общего числа патологий. Постоянное совершенствование методов лечения переломов, к сожалению, не позволяет избежать неудовлетворительных результатов, которые наблюдаются, по данным разных авторов, у 70% пациентов [4]. Особую актуальность приобретают переломы с развитием гнойно-воспалительных осложнений, частота которых составляет от 21 до 63% [1, 4].

Хронический остеомиелит является широко распространённым заболеванием, составляя до 6% в структуре патологии опорно-двигательной системы и 7-12% в ряду заболеваний, относящихся к хирургической инфекции [1, 2, 5].

Доказано, что к одним из многочисленных факторов, определяющих особенность течения и исход воспалительных заболеваний хирургического профиля относится иммунный и антиоксидантный статус макроорганизма. Свободнорадикальное окисление является одним из основных патогенетических звеньев в механизме развития воспаления в организме. Важную роль в развитии и активации свободнорадикального окисления играет состав высших жирных кислот (ВЖК) липидов сыворотки крови [15].

Жирные кислоты (ЖК) являются обязательными компонентами ацилглицеролов, фосфолипидов, эфиров холестерина, церамидов, восков, парафина – липидных соединений, организующих различные ткани. Особое значение липидов для организма заключается в том, что они составляют фосфолипидный бимолекулярный слой любой клетки, являющийся матрицей для мембранных ферментов, рецепторов, транспортных систем и служат предшественниками ряда биологически активных веществ [7]. Нарушение свойств липидного слоя не только сопровождает многие заболевания, но в ряде случаев рассматривается как первопричина развития патологического процесса [10, 12].

Учитывая биологическую значимость жирных кислот в организации различных структур, можно предположить степень вероятности влияния дисбаланса с их стороны на развитие различных патологических состояний. Поскольку в нашей стране состав жирнокислых липидов у больных с травматическим остеомиелитом не изучался, исследование данного вопроса представляется перспективным как в теоретическом, так и в практическом отношении.

**Цель исследования** – оценить диагностическую значимость показателей высших жирных кислот в развитии травматического остеомиелита у больных с переломами длинных костей конечностей.

**Материалы и методы.** В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, 2011 - поправки) и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утверждёнными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Проведено обследование 30 пациентов в возрасте от 20 до 40 лет с хроническим травматическим остеомиелитом. Контрольную группу составили 30 практически здоровых мужчин и женщин в возрасте от 20 до 40 лет. Критерием исключения из групп являлось наличие острых или хронических сопутствующих заболеваний.

Диагноз хронического травматического остеомиелита верифицировали с помощью клинических, лабораторных и инструментальных методов исследования. Лечение пациентов осуществлялось в соответствии стандартам оказания медицинской помощи при переломах длинных костей конечностей и национальным руководствам по травматологии, ортопедии и клинической хирургии в Российской Федерации [3].

Изучение параметров ЖК с короткой и длинной углеводородной цепью осуществляли стандартными методами. Количественный анализ летучих жирных кислот проводили по методике М.Д. Ардатской, с последующим анализом на хроматографе «Кристалл-2000М» (Россия). Для изучения спектра ВЖК в сыворотке крови (C<sub>14:0</sub> - миристиновая, C<sub>16:0</sub> - пальмитиновая, C<sub>16:1</sub> - пальмитоолеиновая, C<sub>18:0</sub> - стеариновая, C<sub>18:1</sub> - олеиновая, C<sub>18:2ω6</sub> - линолевая, C<sub>18:3ω3</sub> - α-линоленовая, C<sub>18:3ω6</sub> - γ-линоленовая, C<sub>20:3ω6</sub> - дигомо-γ-линоленовая, C<sub>20:4ω6</sub> - арахидоновая кислоты), липиды экстрагировали методом J. Folch et al. (1957). После упаривания аликвота ВЖК метилировали по К.М. Синяк и соавт. (1976). Метилловые эфиры очищались в тонких слоях силикагеля в хроматографической системе гексан:диэтиловый эфир:ледяная уксусная кислота (90:10:1 по объему), а затем экстрагировали их смесью хлороформ:метанол (8:1) и анализировали на хроматографе «Кристалл-2000М» (Россия) с плазменно-ионизационным детектором и капиллярной колонкой 0,35x50 FFAP (USA). Обсчет, идентификация пиков осуществлялась с помощью программно-аппаратного комплекса «Analitika» [6].

Полученные данные обработаны с помощью пакета программ «БИОСТАТ». Для описания характера распределения количественных признаков определялись средние величины (M), стандартные отклонения (SD). Различия оценивали с помощью критерия Манна-Уитни, статистически значимыми считались различия при p<0,05.

**Результаты и их обсуждение.** У пациентов с хроническим травматическим остеомиелитом выявлены изменения в спектре ЖК липидов сыворотки крови, характеризующиеся повышением величин насыщенных кислот и снижением величин ненасыщенных ЖК (табл.).

Среди моноеновых насыщенных ЖК преобладала пальмитиновая кислота, уровень которой увеличился в 1,13 раза по сравнению с контролем. Снижения уровня полиненасыщенных (ПНЖК) наблюдалось за счет дефицита кислоты серии ω-3 – α-линоленовой – в 3 раза, по сравнению с контролем. Дефицит ЖК ω-6 серии, главным образом, складывался за счет уменьшения дигомо-γ-линоленовой (C<sub>20:3ω-6</sub>) и арахидоновой (C<sub>20:4ω-6</sub>) кислот в 1,7 раз и 1,4 раза, соответственно, по сопоставлению с группой контроля.

Таблица

Содержание высших жирных кислот у пациентов с развитием хронического травматического остеомиелита, % (M±SD)

Высшие жирные кислоты	Контроль (n=30)	Хронический травматический остеомиелит (n=30)
C <sub>14:0</sub> миристиновая	1,29±0,59	1,11±0,67 p=0,27
C <sub>16:0</sub> пальмитиновая	22,05±4,55	25,05±5,13 p=0,02
C <sub>16:1</sub> пальмитоолеиновая	3,31±1,35	2,9±1,79 p=0,32
C <sub>18:0</sub> стеариновая	8,29±2,33	8,61±2,71 p=0,62
C <sub>18:1</sub> олеиновая	23,48±3,6	24,74±3,8 p=0,2
C <sub>18:2 ω6</sub> линоленовая	32,71±5,01	28,79±5,64 p=0,006
C <sub>18:3ω3</sub> α-линоленовая	2,55±1,13	0,84±0,82 p=0,0001
C <sub>18:3ω6</sub> γ-линоленовая	0,79±0,39	0,48±0,40 p=0,004
C <sub>20:3ω6</sub> дигомо-γ-линоленовая	1,51±0,5	0,89±0,49 p=0,0001
C <sub>20:4ω6</sub> арахидоновая	4,43±1,58	3,19±1,42 p=0,002

Примечание: p - статистическая значимость различий с контролем.

Снижение доли полиненасыщенных ЖК в составе липидов сыворотки крови можно объяснить чрезмерным вовлечением их в процессы перекисного окисления липидов, интенсификация которых у больных с воспалительными заболеваниями зарегистрирована во многих исследованиях. Кроме того, одной из причин дефицита полиненасыщенных ЖК может служить усиленное их использование в генерации эйкозаноидов, чья роль в развитии воспаления при патологии убедительно доказана. ВЖК несут свою биологическую значимость не только в виде эфиров, но и свободных форм. Прежде всего, они обеспечивают 50-90% энергозатрат организма. Пул этих соединений в ткани поддерживается соотношением активности течения процессов анаболизма и катаболизма. ЖК с длиной цепочки до C12 поступают из крови, в цитоплазме клеток они удлиняются до C14 – C18, затем входят в митохондрии, где элонгируются до C30. Указанные продуценты этерифицируются с глицеролом, сфингозином, холестеролом и стеролами. В животных клетках пальмитиновая кислота служит предшественником других длинноцепочечных карбоновых кислот. Пальмитат и стеарат преобразуются в наиболее распространенные в тканях мононенасыщенные жирные кислоты: пальмитолеиновую и олеиновую соответственно [11]. Эссенциальными для организма человека являются линолевая,  $\alpha$ -линоленовая кислоты [13].

Клетки многих тканей под действием  $\Delta 6$ -десатуразы преобразуют C18:2 $\omega$ -6 в C18:3 $\omega$ -6, а C18:3 $\omega$ -3 в C18:4 $\omega$ -3. Далее элонгаза удлиняет первую до C20:3 $\omega$ -6, вторую до C20:4 $\omega$ -3 с последующей  $\Delta 5$ -десатуразной трансформацией в арахидонат и эйкозапентанат, соответственно. Между тем, полиненасыщенные жирные кислоты и их производные являются обязательными компонентами мембранных фосфолипидов, регуляторами жизненного цикла клетки, медиаторами иммуно-воспалительных процессов. В организме активно работает 15-липооксигеназа (LOX), катализирующая образование моногидроксикислот: 13-гидроксиоктадекадиеновой (HODE), 9-HODE - из линолеата, 15-гидроксиэйкозатриеновой (15-HETrE) - из дигомо- $\gamma$ -линолената, 15-гидроксиэйкозатетраеновой (15-HETE) - из арахидоната, 15-гидроксиэйкозапентаеновой (15-HEPE) - из эйкозапентае-ноата, обладающих антипролиферативным, противовоспалительным эффектами [14].

В результате циклооксигеназных (COX) реакций синтезируются простагландины, тромбоксаны; из 5-липооксигеназных – лейкотриены - эйкозаноиды, обладающие плейотропным действием, сопровождающим все фазы воспаления, причем выраженность «агрессивных» эффектов в большей степени наблюдается со стороны метаболитов, образованных из C20:4 $\omega$ -6, C20:3 $\omega$ -6 нежели - продуцированных из C20:5 $\omega$ -3, проявляющих некоторые супрессивные свойств. Однако COX и 5-LOX характеризуются высокой активностью в моноцитах, макрофагах, гранулоцитах. Избыток АФК (активные формы кислорода) приводит к сдвигу метаболизма арахидоновой кислоты, один из метаболитов которой (15-гидроарахидоновая кислота) снижает бета-адренергическую активность прямым действием на бета-адренорецепторы, которые регулируют продукцию АФК нейтрофилами и моноцитами. Это вызывает неконтролируемое образование ими свободных радикалов. Избыток АФК патологически воздействуют на очаг, обуславливая основные клинические проявления - воспаление. Это связано с тем, что свободные радикалы быстро реагируют с ненасыщенными липидами мембран, способствуя образованию липидных перекисей, и окисляют восприимчивые группы белков и нуклеиновых кислот [8, 9].

**Заключение.** При хроническом травматическом остеомиелите, в сыворотке крови регистрируется высокий уровень насыщенных жирных кислот, главным образом, за счет увеличения количества C16:0 и низкое содержание ненасыщенных жирных кислот - C18:2 $\omega$ 6, C18:3 $\omega$ 3, C18:3 $\omega$ 6, C20:3 $\omega$ 6 и C20:4 $\omega$ 6.

#### Литература:

1. Амирасланов Ю.А., Жуков А.О., Борисов И.В., Иванов А.П. Принципы хирургического лечения переломов длинных костей, осложненных гнойной инфекцией // Вестн. травматол. и ортопед. им. Н.Н. Приорова. 2011. № 4. С. 53-59.

2. Винник Ю.С., Шишацкая Е.И., Маркелова Н.М., Зуев А.П. Хронический остеомиелит: диагностика, лечение, профилактика (обзор литературы) // Московский хирургический журнал. 2014. № 2. С. 50-53.
3. Клиническая хирургия : национальное руководство : в 3 т. / под ред. В.С. Савельева, А.И. Кириенко. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. Т. I. 864 с.
4. Миromanov А.М., Намоконов Е.В. Прогностические критерии развития осложнений при переломах костей конечностей. Чита : РИЦ ЧГМА, 2014. 175 с.
5. Свешников А.А. Решение остеомиелита в остеологии // Фундаментальные исследования. 2012. № 10-1. С. 184-193.
6. Хышиктуев Б.С., Каюкова Е.В., Каюков В.А., Терешков П.П. Спектр высших жирных кислот опухолевой ткани при раке шейки матки с различной степенью дифференцировки // Сибирский онкологический журнал. 2013. № 1. С. 47-51.
7. Anderson E.J., Yamazaki H., Neuffer P.D. Induction of endogenous uncoupling protein 3 suppresses mitochondrial oxidant emission during fatty acid-supported respiration // J. Biol. Chem. 2007. V. 282. P. 31257–31266.
8. Bortolami S., Comelato E., Zoccarato F., Alexandre A., Cavallini L. Long chain fatty acyl-CoA modulation of H<sub>2</sub>O (2) release at mitochondrial complex // I. J. Bioenerg. Biomembr. 2008. V. 40. P. 9–18.
9. Lin N., Chen H., Zhang H., Wan X., Su Q. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) inhibition ameliorates palmitate-induced INS-1 beta cell death. Endocrine. 2012. V. 42. P. 107–117.
10. Nixon G.F. Sphingolipids in inflammation: pathological implications and potential therapeutic targets // Br. J. Pharmacol. 2009. V. 158. P. 982–993.
11. Ulloa J.E., Casiano C.A., De Leon M. Palmitic and stearic fatty acids induce caspase-dependent and -independent cell death in nerve growth factor differentiated PC12 cells. // J. Neurochem. 2003. V. 84. P. 655–668.
12. Wahli W., Michalik L. PPARs at the crossroads of lipid signaling and inflammation // Trends Endocrinol. Metab. 2012. V. 23. P. 351–363.
13. Weigert C., Brodbeck K., Staiger H., Kausch C., Machicao F., Haring H.U., Schleicher E.D. Palmitate, but not unsaturated fatty acids, induces the expression of interleukin-6 in human myotubes through proteasome-dependent activation of nuclear factor-kappaB // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. P. 23942–2352.
14. Wolfrum C., Borrmann C.M., Borchers T., Spener F. Fatty acids and hypolipidemic drugs regulate peroxisome proliferator-activated receptors alpha - and gamma-mediated gene expression via liver fatty acid binding protein: a signaling path to the nucleus // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2001. V. 98. P. 2323–2328.
15. Yan J., Gong Y., She Y.M., Wang G., Roberts M.S., Burczynski F.J. Molecular mechanism of recombinant liver fatty acid binding protein's antioxidant activity // J. Lipid Res. 2009. V. 50. P. 2445–2454.

#### References:

1. Amiraslanov YU.A., Zhukov A.O., Borisov I.V., Ivanov A.P. The principles of surgical treatment of fractures of the long bones complicated by a purulent infection // J. Bulletin of Traumatology and Orthopedics named Priorov. 2011. № 4. P. 53-59 (in Russian).
2. Vinnik YU.S., Shishatskaya E.I., Markelova N.M., Zuev A.P. Chronic osteomyelitis: diagnostics, treatment, prevention (review of literature) // Moscow Surg. J. 2014. № 2. P. 50-53 (in Russian).
3. Clinical surgery: a national management / under the editorship of V.S. Savel'eva, A.I. Kirienko. M. : GEOTAR-media, 2008. V. I. 864 p (in Russian).
4. Miromanov A.M., Namokonov E.V. Prognostic criteria of development of complications at fractures of bones of extremities. Chita : CSMA Publ., 2014. 175 p. (in Russian).
5. Sveshnikov A.A. The solution of osteomyelitis in osteology // J. Fundamental researches. 2012. № 10-1. P. 184-193 (in Russian).

6. KHyshiktuev B.S., Kayukova E.V., Kayukov V.A., Tereshkov P.P. The fatty acid spectrum of tumor tissue in cervical cancer with different histopathologic grades // *Siberian J. of Oncology*. 2013. № 1. P. 47-51 (in Russian).
7. Anderson E.J., Yamazaki H., Neuffer P.D. Induction of endogenous uncoupling protein 3 suppresses mitochondrial oxidant emission during fatty acid-supported respiration // *J. Biol. Chem.* 2007. V. 282. P. 31257–31266.
8. Bortolami S., Comelato E., Zoccarato F., Alexandre A., Cavallini L. Long chain fatty acyl-CoA modulation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> release at mitochondrial complex // *I. J. Bioenerg. Biomembr.* 2008. V. 40. P. 9–18.
9. Lin N., Chen H., Zhang H., Wan X., Su Q. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) inhibition ameliorates palmitate-induced INS-1 beta cell death. *Endocrine*. 2012. V. 42. P. 107–117.
10. Nixon G.F. Sphingolipids in inflammation: pathological implications and potential therapeutic targets // *Br. J. Pharmacol.* 2009. V. 158. P. 982–993.
11. Ulloth J.E., Casiano C.A., De Leon M. Palmitic and stearic fatty acids induce caspase-dependent and -independent cell death in nerve growth factor differentiated PC12 cells. // *J. Neurochem.* 2003. V. 84. P. 655–668.
12. Wahli W., Michalik L. PPARs at the crossroads of lipid signaling and inflammation // *Trends Endocrinol. Metab.* 2012. V. 23. P. 351–363.
13. Weigert C., Brodbeck K., Staiger H., Kausch C., Machicao F., Haring H.U., Schleicher E.D. Palmitate, but not unsaturated fatty acids, induces the expression of interleukin-6 in human myotubes through proteasome-dependent activation of nuclear factor-kappaB // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. P. 23942–2352.
14. Wolfrum C., Borrmann C.M., Borchers T., Spener F. Fatty acids and hypolipidemic drugs regulate peroxisome proliferator-activated receptors alpha - and gamma-mediated gene expression via liver fatty acid binding protein: a signaling path to the nucleus // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2001. V. 98. P. 2323–2328.
15. Yan J., Gong Y., She Y.M., Wang G., Roberts M.S., Burczynski F.J. Molecular mechanism of recombinant liver fatty acid binding protein's antioxidant activity // *J. Lipid Res.* 2009. V. 50. P. 2445–2454.