

На правах рукописи

Усков Сергей Анатольевич

**ОПТИМИЗАЦИЯ ДИАГНОСТИКИ И ПРОФИЛАКТИКИ
ЗАМЕДЛЕННОЙ КОНСОЛИДАЦИИ У ПАЦИЕНТОВ
С ПЕРЕЛОМАМИ ДЛИННЫХ КОСТЕЙ КОНЕЧНОСТЕЙ
В ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ**

14.01.15 - травматология и ортопедия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

г. Курган - 2017

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования "Читинская государственная медицинская академия" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Мироманов Александр Михайлович - доктор медицинских наук, доцент

Официальные оппоненты:

Ахтямов Ильдар Фуатович - доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Казанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра травматологии, ортопедии и хирургии экстремальных состояний, заведующий

Хоминцев Владимир Васильевич - доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования "Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова" Министерства обороны Российской Федерации, кафедра военной травматологии и ортопедии, начальник

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Иркутский научный центр хирургии и травматологии"

Защита диссертации состоится "_____" _____ 2017 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 999.063.03 при ФГБУ "Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" имени академика Г.А. Илизарова" Министерства здравоохранения Российской Федерации (6, ул. М. Ульяновой, г. Курган, 640014).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ "Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" имени академика Г.А. Илизарова" Министерства здравоохранения Российской Федерации и на сайте www.ilizarov.ru.

Автореферат разослан "_____" _____ 2017 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук,
профессор

Дьячков Александр Николаевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

По данным государственной статистической отчетности Министерства здравоохранения России за последние пять лет фиксируется изменение характера повреждений костей за счет увеличения доли открытых и оскольчатых переломов, что неразрывно связано с прогрессивной эволюцией промышленности, транспорта и участвовавших в чрезвычайных ситуациях в эпоху глобализации (Уразгильдеев Р.З., 2015; Миронов С.П., 2016). Что касается травматических деструкций длинных костей конечностей, то на их часть приходится около 80% от всего количества переломов (Миронов С.П., 2016), причем значительная их доля - это диафизарные фрактуры (Климовицкий В.Г. и др., 2008; Копысова В.А. и др., 2010; Столбиков С.А., 2010; Халиман Е.А., 2012; Grutter R. et al., 2000).

В последние десять лет предложено множество медицинских технологий по диагностике, лечению и профилактике нарушений репаративных процессов костной ткани при ее деструкции, однако, наблюдающаяся тенденция к сохранению, а по данным некоторых авторов и к увеличению нарушений консолидации (Бауэр И.В., 2007; Марков Д.А., 2008; Миронов С.П., Котельников Г.П., 2008; Павлов Д.В., Новиков А.Е., 2009; Склянчук Е.Д. и др., 2009; Мамаев В.И., 2010; Балаян В.Д., 2011; Барабаш А.П. и др., 2012; Шалыгина О.И. и др., 2012; Куценко С.Н. и др., 2013; Попсуйшапка А.К. и др., 2013; Скороглядов А.В., Атаев Э.А., 2013; Уразгильдеев Р.З., 2015; Tseng S.S. et al., 2008; Marsell R., Einhorn T.A., 2010; Hak D.J., 2011; Szczesny G. et al., 2011) и их последствий (Мамаев В.И., 2010; Шевчук В.И. и др., 2010; Гайко Г.В., Козак Р.А., 2012; Delmas P.D. et al., 2000), побуждают к более глубокому изучению данной проблемы.

Степень разработанности темы

К настоящему времени определено, что в увеличении сроков сращения переломов важную роль играет недостаточность иммобилизации, несостоятельность внутренних и наружных фиксирующих устройств, несоблюдение принципов диспансеризации, а также дисбаланс систем гомеостаза (иммунной, эндокринной, микроциркуляторной и пр.), (Котельников Г.П., Труханова И.Г., 2009; Елдаров П.Е. и др., 2012; Попсуйшапка А.К. и др., 2013; Мироманов А.М., Намоконов Е.В., 2014; Уразгильдеев Р.З., 2015).

Бурное развитие таких современных научных направлений, как остеоиммунология и генетика (Зазерская И.Е. и др., 2002; Короткова Т.А., 2004; Рудой А.С. и др., 2009; Крылов М.Ю. и др., 2010; Четина Е.В. и др., 2012; Мироманов А.М. и др. 2013-2016; Montes A.H. et al., 2010; Balanis N., Carlin C.R., 2012) к сожалению, практически не нашло отражение в отечественной травматологии и ортопедии, что требует более детального их рассмотрения, в том числе и при повреждениях костей и нарушениях их репарации. Учитывая тот факт, что данная патология требует колоссальных финансовых затрат вследствие повторных госпитализаций, утраты трудоспособности и значимому снижению качества жизни пациентов, то изыскание персонифицированных (генетических) методов диагностики и превентивных способов воздействия на течение репарации является одним из первостепенных в современной медицине (Гарифуллов Г.Г., 2009; Мамаев В.И., 2010; Миронов С.П., 2010; Распоряжение Правительства РФ № 2580-р, 2012; Мироманов А.М., 2013-2016). Рассмотрение данного вопроса в отечественной и зарубежной литературе показало отсутствие его решений при лечении травматической болезни, в том числе и фрактурах длинных костей, что и мотивировало нас к выполнению данной работы.

Цель исследования

Усовершенствовать диагностику и профилактику замедленной консолидации у пациентов с травматической деструкцией длинных костей в послеоперационном периоде.

Задачи исследования

1. Изучить распространенность замедленной консолидации в Забайкальском крае у пациентов с переломами длинных костей нижних конечностей в послеоперационном периоде.
2. Произвести анализ физикальных, лабораторных и инструментальных параметров в течение 90 дней с момента получения перелома длинной кости, и оценить их диагностическое значение для прогноза и выявления замедленной консолидации.
3. Разработать персонифицированный алгоритм диагностики и профилактики замедленной консолидации у пациентов с травматическими фрактурами длинных костей конечностей в послеоперационном периоде и оценить его эффективность.

Научная новизна

Выполнен сравнительный анализ маркеров резорбции костной ткани (ПИД, ДПИД), ростовых факторов (TGF β 1, EGF), LPA, параметров микроциркуляции (MI, NT, MT, ShI, AmaxE, AmaxN, AmaxM, AmaxR) и оценка их взаимосвязи в течение 90 дней после травматической фрактуры длинных костей у больных с благоприятным течением травматической болезни и замедленной консолидацией.

Впервые исследовано влияние SNP генов (TNF α (G308A), IL4 (C589T), IL10 (C592A), IL10 (C819T), IL10 (G1082A), TGF β 1 (Arg25Pro), EGFR (A2073T)) на течение репаративной регенерации в послеоперационном периоде при переломах.

Разработан персонифицированный (генетический) алгоритм диагностики и превентивного профилактического лечения замедленной консолидации у больных с травматическими фрактурами длинных костей.

Научная новизна подтверждена патентом на изобретение РФ № 2436097.

Практическая значимость работы

Системная оценка фазового портрета репаративной регенерации костной ткани на основе определения маркеров резорбции костной ткани, параметров микрокровотока, биологически активных молекул и генов, влияющих на их синтез, клинических и лучевых методов исследования позволяет объективно оценить и мониторировать состояние пациентов при травматических фрактурах длинных костей.

Понимание особенностей взаимодействия различных систем гомеостаза при травматической деструкции костной ткани, в том числе и генетических, способствует расширению представлений о механизмах развития нарушений консолидации.

Разработанный алгоритм персонализированной диагностики и превентивной терапии замедленной консолидации позволяет улучшить результаты лечения.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Системный анализ состояния систем гомеостаза у пациентов с травматической деструкцией длинных костей выявил высокую степень влияния генетических параметров на развитие замедленной консолидации, что послужило основой для включения их в прогностический персонифицированный алгоритм.

2. Разработанный алгоритм персонализированного прогноза и превентивной терапии замедленной консолидации, основанный на определении генетических маркеров и проведения эпигенетической терапии, способствует уменьшению неблагоприятных исходов лечения, повторных госпитализаций и утраты трудоспособности.

Внедрение в практику

Результаты диссертационной работы внедрены в травматологическом отделении ГУЗ "Городская клиническая больница №1", г. Чита.

Материалы диссертационного исследования используются в учебном процессе кафедры травматологии и ортопедии ФГБОУ ВО "Читинская государственная медицинская академия" Минздрава России.

Личный вклад соискателя

Все этапы диссертационного исследования выполнены при непосредственном участии соискателя. Автором поставлены цели и задачи исследования, произведена выборка больных, собраны и проанализированы клинические, лабораторные и инструментальные данные. Разработаны персонализированные подходы к прогнозированию нарушений консолидации переломов длинных костей конечностей. Разработан и внедрен новый способ доклинической диагностики, основанный на выявлении персонализированных (генетических) критериев развития замедленной консолидации. Сформулированы и проведены патогенетически обоснованные лечебно-профилактические мероприятия, направленные на предупреждение нарушений консолидации при переломах длинных костей конечностей.

Апробация диссертации

Основные положения и результаты научного труда были доложены и обсуждены: - в рамках заседаний "НПО травматологов-ортопедов Забайкалья" (Чита, 2011, 2013, 2014, 2015, 2016); - на международной конференции "Травма 2016. Применение современных технологий лечения в Российской травматологии и ортопедии" (Москва, 3-4 ноября 2016); - на II конгрессе стран ШОС "Травматология, ортопедия и восстановительная медицина третьего тысячелетия" (Маньчжурия (КНР), 26-29 мая 2016 г.); - на III Съезде травматологов-ортопедов ДФО (Благовещенск, 23-25 сентября 2015 г.); - на научно-практической конференции с международным участием "Илизаровские чтения" (Курган, 10-11 июня 2015 г.); - на III Съезде травматологов-ортопедов СФО (Горно-Алтайск, 6 июня

2014 г.); - на I межрегиональной научно-практической конференции "Лечение переломов проксимального отдела бедренной кости: стратегия и тактика" (Улан-Удэ, 27 апреля 2012 г.); - на II Китайско-Российском конгрессе "Травматология, ортопедия и восстановительная медицина третьего тысячелетия" (Маньчжурия (КНР), 22-26 мая 2011 г.); - на международной юбилейной научно-практической конференции "Современные повреждения и их лечение" (Москва, 2010); - на XV Всероссийской научно-практической конференции "Молодые ученые в медицине" (Казань, 2-3 апреля 2010 г.); - на IX съезде травматологов ортопедов России (Саратов, 15-17 сентября 2010 г.).

Публикации

По теме диссертации опубликована 21 печатная работа, из них 9 в журналах, рекомендованных ВАК, 1 патент на изобретение Российской Федерации и 1 учебное пособие для подготовки кадров высшей квалификации в ординатуре и дополнительного профессионального образования по специальности "Травматология и ортопедия".

Диссертационная работа выполнена по плану НИР ГБОУ ВПО "ЧГМА" Минздрава России (номер государственной регистрации 01201152870).

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 123 страницах машинописного текста, состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы состоящего из 237 источников (136 отечественных и 101 зарубежного). Работа иллюстрирована на 24 рисунками, 15 таблицами и 7 клиническими наблюдениями.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Характеристика клинического материала

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

Исследования проводились в период с 2003 по 2014гг. на кафедре травматологии и ортопедии ФГБОУ ВО "Читинская государственная медицинская академия" Минздрава России (ректор -

Заслуженный врач РФ, д.м.н., профессор А.В. Говорин), травматологическом отделении ГУЗ "Городская клиническая больница № 1" (главный врач Ф.Р. Чепцов). Лабораторные исследования осуществлялись в НИИ "Молекулярной медицины" ФГБОУ ВО "ЧГМА". Для решения поставленных задач нами проведено комплексное лечение и обследование 138 пациентов в возрасте от 20 до 40 лет с переломами длинных костей нижних конечностей.

Пациенты распределены на следующие группы: I группа представлена 62 пациентами с неосложнённым течением переломов длинных костей конечностей (группа клинического сравнения); II группа - 46 пациентов с осложненным течением переломов костей (в раннем периоде травмы каких-либо осложнений не зафиксировано, однако в позднем посттравматическом периоде зарегистрировано нарушение консолидации переломов по типу замедленной консолидации). III группа - 30 пациентов с риском развития нарушений консолидации, для проведения превентивных профилактических мероприятий. Контрольную группу составили 100 практически здоровых мужчин и женщин в возрасте от 20 до 40 лет. Из групп исключались пациенты с острыми или хроническими сопутствующими заболеваниями. Кроме того, с целью выявления распространенности замедленной консолидации в Забайкальском крае нами ретроспективно проанализировано 428 амбулаторных карт пациентов в возрасте от 20 до 40 лет с переломами длинных костей нижних конечностей в послеоперационном периоде за период с 2010 по 2014гг.

Группы пациентов были относительно однородны как по возрасту, полу, локализации и характеру переломов длинных костей конечностей, причинам травм, так и по проводимому лечению (рис. 1-3; табл. 1-2).

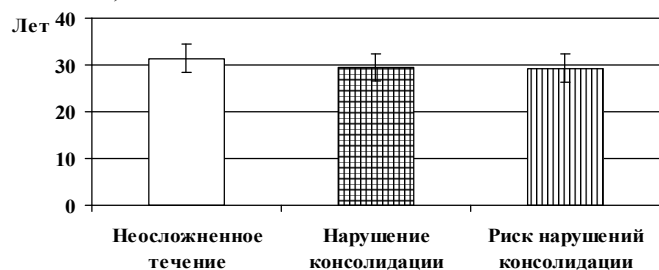


Рисунок 1 - Распределение групп пациентов по возрасту

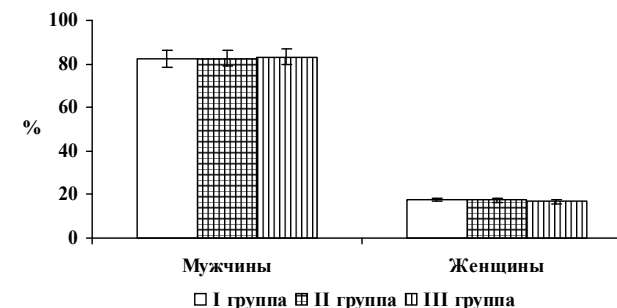


Рисунок 2 - Распределение групп пациентов по полу

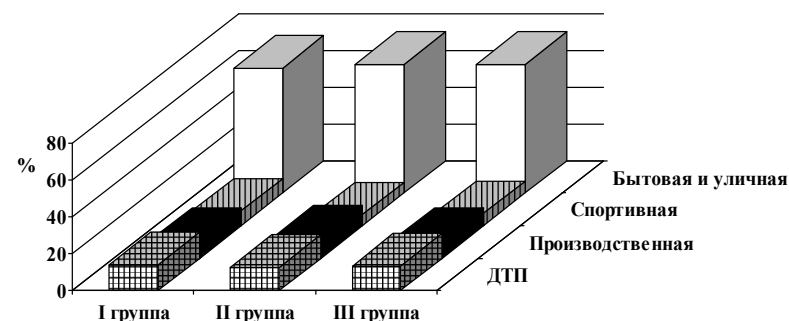


Рисунок 3 - Распределение пациентов по этиологическому фактору

Таблица 1 - Распределение групп больных по локализации и характеру переломов длинных костей конечностей по классификации М.Е. Мюллера (1996), (%)

Группы	Открытые переломы			Закрытые переломы						Итого (%)
	Ю2, МТ2, NT1	Ю3, МТ2, NT1	Ю4, МТ3, NT1	32A2	33C2	41C2	42A2	42C1	43A1	
I группа	17,74	12,9	3,23	12,9	4,83	3,2	21	12,9	11,3	100
II группа	19,6	13	2,2	13	4,3	2,2	23,9	10,9	10,9	100
III группа	16,7	13,3	3,3	13,3	6,7	3,3	20	13,3	10	100

Таблица 2 - Распределение групп больных по способу хирургического лечения (%)

Вид остеосинтеза Группа	АНФ	Интрамедуллярный	Экстрамедуллярный
I группа	33,87	20,97	45,16
II группа	34,78	19,57	45,65
III группа	33,3	26,7	40

Учитывая, что в процессе научно-исследовательской работы, нами не обнаружено статистической значимости различий исследуемых параметров в вышеуказанных группах не только в зависимости от уровня повреждения, характера травмы (открытый, закрытый перелом), но и вида остеосинтеза - пациенты с закрытыми и открытыми переломами длинных костей нижних конечностей объединялись в одну группу.

Лечение пациентов осуществлялось в соответствии стандартам оказания медицинской помощи при переломах длинных костей конечностей и национальным руководствам по травматологии и ортопедии (2011).

Хирургическое вмешательство осуществлялось всем пациентам при поступлении в стационар (время с момента получения травмы при открытых переломах не превышало 2-4 часов, при закрытых 6-8 часов). При проведении операции использовались стандартные хирургические доступы на поврежденных костных сегментах.

Пациентам с открытыми переломами проводилась ПХО открытого перелома, адекватное дренирование и фиксация костных отломков АНФ. Пациентам с закрытыми переломами проводилась открытая репозиция отломков, с последующим функциональным МОС пластинами или штифтами и адекватное дренирование. В последующем выполнялась комплексная терапия (согласно национальным руководствам, 2011).

У пациентов с выявленным персонифицированным риском развития замедленной консолидации дополнительно осуществлялись лечебно-профилактические мероприятия: - курс эпигенетического

регулятора (вилон 10 мкг внутримышечно 1 раз в сутки продолжительностью 5 дней). При выписке из стационара, пациентам давались рекомендации о возможном развитии замедленной консолидации и необходимом соблюдении лечебно-охранительного режима на амбулаторном этапе лечения.

Методы исследования

Клинические методы исследования. В обследовании больных с переломами длинных костей конечностей использовались стандартные методы. В посттравматическом периоде акцентировали внимание на динамику следующих клинических симптомов: боли в области повреждения, общее состояние больного, повышение температуры тела, местные критерии заживления (гиперемия кожи, отёчность и инфильтрация тканей в области раны, характер раневого отделяемого и пр.). Клинические критерии консолидации перелома характеризовались отсутствием отека мягких тканей, а также исчезновением болевого синдрома при осевой, боковых и ротационных нагрузках на конечность. Сроки наблюдения за больными составили: при поступлении в стационар (1 сутки после травмы), 2, 5, 10 сутки после оперативного лечения, в дальнейшем через 1, 3, 6 и 12 месяцев.

Лабораторные методы исследования. 1. *Микробиологические методы - определение микробной обсемененности экспресс-методом.* Техника экстренного определения численности бактерий в 1 г ткани определялась по методу Ю.К. Абаева (2006). 2. *Биохимические методы исследования - исследование маркеров резорбции костной ткани.* Материалом для исследования ПИД служила сыворотка крови, а ДПИД - порция первой утренней мочи. Исследование осуществляли на аппарате MicroVue DPD EIA KIT "QUIDEL" (США), методом ИФА по стандартной методике с использованием набора реагентов BCM Diagnostics (США). 3. *Иммунологические исследования:* а) *Определение цитокинов.* Для выявления концентрации цитокинов (TNF α , IL4, IL10) использовали наборы реагентов ООО "Протеиновый контур" (г. Санкт-Петербург), ЗАО "Вектор-Бест" (г. Новосибирск). Содержание трансформирующих факторов роста (TGF β 1, EGF) определяли при помощи тест-систем R&D Systems, Inc. (США), методом ИФА. б) *Определение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии (ЛТА).* Иссле-

дование показателя ЛТА проводили по методу Ю.А. Витковского с соавт. (1999). 4. *Генетические исследования.* Материалом для молекулярно-генетического анализа служили образцы ДНК, выделенные из лейкоцитов периферической крови. Для исследования выбраны точковые мутации TNF α в позиции 308 (G>A), IL4 в позиции 589 (C>T), IL10 в позиции 592 (C>A), 819 (C>T) и 1082 (G>A), TGF β 1 в позиции 25 (Arg>Pro) и EGFR в позиции 2073 (A>T). Амплификацию фрагментов генов TNF α , IL4, IL10, TGF β 1 и EGFR проводили в термоцикле (модель "Бис" - M111 (ООО "Бис-Н", Новосибирск). В работе использовались стандартные наборы праймеров НПФ "Литех"- "SNP" (Москва).

Инструментальные методы исследования. 1. *Рентгенологический.* Исследование повреждённого сегмента конечности пациентам выполняли в двух стандартных проекциях с захватом смежных суставов до операции, после оперативного лечения, через 1, 2, 3 месяца, а у больных с нарушением консолидации, дополнительно через 6 и 12 месяцев после оперативного вмешательства. Для оценки признаков консолидации использовали шкалу RUST. Перелом считали консолидированным при наличии 10 и более баллов (табл. 3), (Kooistra B.W. et al., 2010-2016).

Таблица 3 - Radiographic Union Scale for Tibial fractures

Цифровое значение*	Костная мозоль	Линия перелома
1	Отсутствует	Видна
2	Присутствует	Видна
3	Присутствует	Не видна

Примечание: * - определяется для каждого края кортикального слоя кости в области перелома (переднего, заднего, медиального, латерального), при сумме баллов 4 - нет консолидации; 12 - консолидация полная.

2. *Метод исследования микроциркуляторного русла.* Исследование проводилось аппаратом ЛАКК-2 (Россия) с соблюдением стандартных условий для методики ЛДФ. ЛДФ-граммы регистрировались в течение 7-10 минут. Оценивались: показатель микроциркуляции (MI). С помощью вейвлет-анализа устанавливались

показатели шунтирования (ShI), нейрогенного (NT) и миогенного (MT) тонуса сосудов, а также максимальных амплитуд: эндогенного, нейрогенного, миогенного и дыхательного диапазонов. Показатели исследовались у больных при поступлении в стационар, в последующем на 2, 5, 10 и 90 сутки наблюдения.

Статистические методы исследования. Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета программ "STATISTICA 6.1®" (StatSoft, Russia), "Microsoft Office Exell 2010 for Windows 7®", "БИОСТАТ". Для описания характера распределения количественных признаков определялись средние величины (M), стандартные отклонения (SD). Анализ данных между группами пациентов в разные сроки посттравматического периода проводили с помощью критерия Ньюмена-Кейлса. Для сравнения показателей пациентов с осложнённым и неосложнённым течением переломов длинных костей конечностей использовали критерий Манна-Уитни. Для анализа групп по качественному бинарному признаку применялся критерий χ^2 (Пирсона). Предсказания значений ряда зависимых переменных по известным значениям других переменных осуществлялось с помощью множественного регрессионного анализа. Степень риска развития событий оценивали по величине отношения шансов (odd ratio (OR)) с расчетом для него 95% доверительного интервала (CI). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$ (Реброва О.Ю., 2006; Михалевич И.М., 2012).

Результаты исследования

Ретроспективный анализ 428 амбулаторных карт пациентов в возрасте от 20 до 40 лет с переломами длинных костей нижних конечностей в послеоперационном периоде за период с 2010 по 2014гг. показал значимое преобладание лиц мужского пола - 327 (76,4%), женщины составили 23,6% (101 пациент). За весь период исследования выявлено 166 (38,8%) пациентов с нарушением консолидации по типу замедленной консолидации.

Связь различных клинических, лабораторных (в том числе генетических) и инструментальных параметров с развитием замедленной консолидации (Усков С.А., Миронова О.Б., 2010; Мироманов А.М., Усков С.А., 2010; Мироманов и др., 2011-2013; Усков С.А., Мироманов А.М., 2012) нами изучена в регрессионной модели. Используемый многомерный (пошаговый с включением) регрес-

сионный анализ выявил высокую связь генотипа -25Pro/Pro гена *TGFβ₁* с нарушением консолидации в позднем периоде травмы. Точность данной математической модели значимо увеличивалась при добавлении генотипа -2073T/T гена *EGFR*, тогда как другие показатели статистически значимого влияния на прогноз не оказали (табл. 4).

Таблица 4 - Прогностическое значение показателей в многофакторной модели развития замедленной консолидации переломов

n=108	β	Std. Err. of β	B	Std. Err. B	p-уров.
Св. член			2,486932	0,123786	0,000000
-25Pro/Pro гена <i>TGFβ₁</i>	-0,53048	0,030101	-0,296475	0,016823	0,000000
-2073T/T гена <i>EGFR</i>	-0,39622	0,030789	-0,248905	0,019342	0,000000

Примечание: n - количество наблюдений; β - регрессионный коэффициент; Std. Err. of β - стандартная ошибка β; B - свободный член (отрезок); Std. Err. B - стандартная ошибка B; p - уровень статистической значимости (достоверен при p ≤ 0,05).

Коэффициент (K) корреляции (множественный) регистрировался на уровне 0,985, K детерминации (R²) составил 0,967, а уровень значимости регрессионной модели составил <0,0000001. Генотип -25Pro/Pro гена *TGFβ₁* оказался наиболее важным прогностическим фактором в нарушении консолидации при переломах (риск увеличен в 53 раза). Генотип -2073T/T гена *EGFR* - также вносит существенный вклад в диагностику нарушений репарации костной ткани (риск повышается в 39,6 раз) (табл. 4).

Полученная прогностическая модель имеет достаточно высокую чувствительность и достоверность (p < 0,0000001). О данном факте свидетельствует не только высокая степень соответствия эмпирическим данным (R²), линейная подчиненность факторов влияния и отклика, т.е. развития осложнения (K), но и учтенные параметры влияния на осложнения, которых выявлено всего два - это -25Pro/Pro гена *TGFβ₁* и -2073T/T гена *EGFR* (скорректированный R² не отличается от исходного). Таким образом, высокую прогностическую ценность имеет определение полиморфизма генов *TGFβ₁*-

25Arg>Pro и *EGFR-2073A>T* (Мироманов А.М. и др. 2014-2017; Гусев К.А. и др., 2015).

Акцентируя внимание на персонализированных аспектах развития замедленной консолидации у пациентов с переломами длинных костей конечностей, нами отмечено отсутствие влияния полиморфизма генов - *TNFα-308G>A*; *IL4-589C>T*; *IL10-592C>A*, - *819C>T* и *-1082G>A* на репаративные процессы костной ткани (Мироманов А.М. и др., 2013-2014), тогда как носительство полиморфизма гена *TGFβ₁-25Arg>Pro* и гена *EGFR-2073A>T* оказывало существенное значение на консолидацию переломов (Мироманов А.М. и др., 2014-2017) (табл. 5).

Таблица 5 - Значения генотипов гена *TGFβ₁-25Arg>Pro* и генотипов гена *EGFR-2073A>T* в нарушении консолидации у пациентов с переломами длинных костей конечностей в Забайкальском крае (χ²)

Генотип	Контроль (n=100)	Группа I (n=62)	Группа II (n=46)	Группа III (n=30)	Исход
<i>TGFβ₁-25Arg>Pro</i>					
Arg/Arg	60 (60%)	36 (58%)	13 (28%)	2 (6,7%)	Благоприятный
Arg/Pro	28 (28%)	23 (37%)	9 (20%)	10 (33,3%)	Благоприятный
Pro/Pro	12 (12%)	3 (5%)	24 (52%)*/**	18 (60%)*/**	Неблагоприятный
<i>EGFR-2073A>T</i>					
A/A	29 (29%)	19 (30,6%)	6 (13%)	3 (10%)	Благоприятный
A/T	63 (63%)	37 (59,7%)	17 (37%)	13 (43,3%)	Благоприятный
T/T	8 (8%)	6 (9,7%)	23(50%)*/**	14 (46,7%)*/**	Неблагоприятный

Примечание: * - статистическая значимость различий по сравнению с контролем (p < 0,001); ** - статистическая значимость различий с I группой (p < 0,001); *** - статистическая значимость различий со II группой (p < 0,001).

При более детальном рассмотрении сочетания носительства генотипов рассматриваемых генов в 3 группе пациентов отмечено, что генотип -25Pro/Pro гена *TGFβ₁* и генотип -2073A/A гена *EGFR* - выявлены у 3 пациентов; генотип -25Pro/Pro гена *TGFβ₁* и генотип

-2073A/T гена *EGFR* - в 13 случаях; генотип -25Arg/Arg гена *TGFβ₁* и генотип -2073T/T гена *EGFR* - в 2 эпизодах; генотип -25Arg/Pro гена *TGFβ₁* и генотип -2073T/T гена *EGFR* - у 10 пациентов и только в 2 случаях зарегистрировано носительство наиболее неблагоприятного сочетания мутантных гомозигот - генотип -25Pro/Pro гена *TGFβ₁* и генотип -2073T/T гена *EGFR*.

Пациентам данной группы дополнительно назначался профилактический курс эпигенетической терапии (вилон 10 мкг внутримышечно один раз в сутки - 5 дней), т.к. данный пептид принимает непосредственное участие в процессах регуляции экспрессии генов и синтеза белка - способствует снижению скорости накопления патологических изменений в клетках (повреждения ДНК, мутации и т.п.) и повышению активности репаративных процессов, направленных на восстановление клеточного гомеостаза (Хавинсон В.Х. и др., 2014).

При динамическом контроле данной группы пациентов отмечено, что после проведения персонализированных превентивных лечебно-профилактических мероприятий у 28 пациентов осложнений не выявлено и только у 2 больных, несмотря на проводимые мероприятия зафиксировано нарушение консолидации в позднем послеоперационном периоде. У данных пациентов зарегистрировано сочетание носительства мутантных гомозигот полиморфизма гена *TGFβ₁*-25Arg>Pro и гена *EGFR*-2073A>T. Применение предлагаемого подхода к диагностике и профилактике замедленной консолидации позволило достичь положительных результатов лечения у 93,3% больных (вероятность положительного результата прогноза - чувствительность, составила 100%, вероятность отрицательного прогноза - специфичность - 88,71%, относительная частота принятия безошибочных решений - безошибочность - 93,52%, а ложноотрицательный и ложноположительный ответ составили 0% и 11,29% соответственно) (Мирманов А.М. и др., 2016).

На основании полученных изысканий, нами предлагается использовать алгоритм персонализированного прогноза и профилактики замедленной консолидации при переломах (рис. 4).

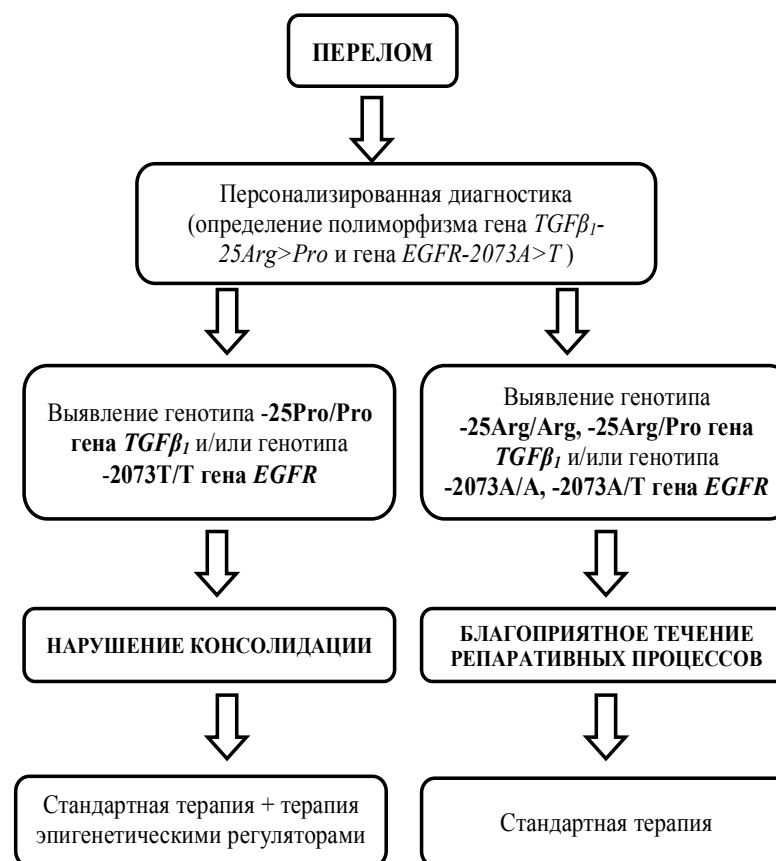


Рисунок 4 - Алгоритм персонализированного прогноза и профилактики замедленной консолидации при переломах длинных костей конечностей

Таким образом, использование предлагаемого персонализированного подхода к диагностике замедленной консолидации при переломах длинных костей конечностей позволяет своевременно проводить превентивные лечебно-профилактические мероприятия пациентам, тем самым предотвращать нарушение репаративных процессов костной ткани в позднем периоде травмы, что в свою очередь ведет к значительному сокращению сроков нетрудоспособности, экономических затрат на лечение и предотвращает возможную инвалидизацию пациентов.

ВЫВОДЫ

1. При переломах длинных костей нижних конечностей в послеоперационном периоде замедленная консолидация выявлена у 38,8% пациентов.
2. Анализ физикальных, параклинических и инструментальных параметров позволяет оценить репаративную регенерацию костной ткани при переломах и выявить диагностические критерии ее неосложнённого течения и осложненного развитием замедленной консолидации, наиболее информативным из которых является носительство мутантной гомозиготы SNP гена $TGF\beta_1$ (Arg25Pro) и/или мутантной гомозиготы SNP гена EGFR (A2073T).
3. Разработанный алгоритм позволяет осуществлять диагностику течения репаративных процессов костной ткани у больных с переломами длинных трубчатых костей с первого дня травмы и выполнять индивидуализированную профилактику замедленной консолидации.
4. Применение персонифицированного алгоритма диагностики и профилактики замедленной консолидации в послеоперационном периоде способствует уменьшению неблагоприятных исходов до 6,7%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

При травматической деструкции длинных костей с целью профилактики замедленной консолидации необходимо использовать персонифицированный алгоритм, основанный на выявлении SNP гена $TGF\beta_1$ (Arg25Pro), SNP гена EGFR(A2073T) и эпигенетической профилактической терапии. При обнаружении мутантной гомозиготы SNP гена $TGF\beta_1$ (Arg25Pro) и/или мутантной гомозиготы SNP гена EGFR(A2073T) рекомендуется применять вилон® по стандартной схеме (10 мкг в/м один раз в день - пять суток).

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Усков С.А. Диагностическая значимость некоторых показателей иммунитета и микроциркуляции в развитии замедленной консолидации при переломах длинных костей конечностей / С.А. Усков, О.Б. Миронова // Молодые ученые в медицине : материалы XV Всероссийской научно-практической конференции // под ред. А.С. Созинова и [др.] (Казань, 2-3 апреля 2010). - Казань : ШИП, 2010. - С. 328-329.

2. Мироманов А.М. Некоторые показатели микроциркуляции и иммунитета в оценке развития замедленной консолидации при открытых переломах длинных костей / А.М. Мироманов, С.А. Усков, Е.В. Намоконов // Сб. тезисов IX съезда травматологов ортопедов (Саратов, 15-17 сент. 2010) / под ред. С.П. Миронова, И.А. Норкина : в 3 т. - Саратов : Научная книга ; ФГУ Саратовский НИИТО, 2010. - Т. 1. - С. 197-198.
3. Мироманов А.М. Значение ростковых факторов и параметров микроциркуляции в замедленной консолидации переломов длинных трубчатых костей / А.М. Мироманов, С.А. Усков // Современные повреждения и их лечение : материалы междунар. юбилейной науч.-практ. конф., посвящ. 200-летию со дня рождения Н.И. Пирогова (М., 11-12 ноября 2010). - М., 2010. - С. 140-141.
4. Значение параметров микрокровотока в диагностике замедленной консолидации переломов длинных трубчатых костей / А.М. Мироманов, С.А. Усков, О.Б. Миронова и [др.] // **Вестник экспериментальной и клинической хирургии.** - 2011. - № 1. - С. 101-106.
5. Мироманов А.М. Способ прогнозирования нарушения регенерации костной ткани при переломах длинных трубчатых костей нижних конечностей / А.М. Мироманов, С.А. Усков, К.А. Гусев // Травматология, ортопедия и восстановительная медицина третьего тысячелетия : материалы второго Китайско-Российского Конгресса (КНР, Маньчжурия, 22-26 мая 2011). - Чита : Экспресс-издательство, 2011. - С. 55-56.
6. Динамика показателей микроциркуляции и компонентов сосудистого тонуса у больных с неосложненным и осложненным течением переломов длинных трубчатых костей в раннем послеоперационном периоде / А.М. Мироманов, О.Б. Миронова, С.А. Усков и [др.] // **Бюллетень СО РАМН.** - 2011. - № 3. - С. 12-17.
7. Мироманов А.М. Способ прогнозирования нарушения регенерации костной ткани при переломах длинных костей конечностей в послеоперационном периоде / А.М. Мироманов, С.А. Усков // **Гений ортопедии.** - 2011. - № 4. - С. 26-30.
8. Усков С.А. Диагностика нарушения регенерации костной ткани / С.А. Усков, А.М. Мироманов // Лечение переломов проксимального отдела бедренной кости : стратегия и тактика : материалы I межрегион. науч.-практ. конф., посвящ. 80-летию БГПИ-БГУ и 35-летию ГКБ СМП им. В.В. Ангапова (Улан-Удэ, 27 апр. 2012). - Улан-Удэ, 2012. - С. 85-97.

9. Миromanов А.М. Значение маркеров резорбции костной ткани в прогнозе развития замедленной консолидации переломов длинных костей конечностей / А.М. Миromanов, К.А. Гусев, С.А. Усков // **Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. - 2013. - № 2-1. - С. 53-56.**
 10. Полиморфизм гена интерлейкина-4 у больных с осложненным течением переломов длинных костей конечностей / А.М. Миromanов, О.Б. Миронова, С.А. Усков и [др.] // **Врач-аспирант. - 2013. - № 5.3 (60). - С. 434-440.**
 11. Полиморфизм гена интерлейкина-10 (G-1082A, C-592A, C-819T) у пациентов с неосложненным и осложненным течением переломов длинных костей конечностей / А.М. Миromanов, М.В. Трубицын, К.А. Гусев, О.Б. Миронова, С.А. Усков, Ю.А. Витковский // [Электронный ресурс] // **Забайкальский медицинский вестник. - 2013. - № 2. - С. 59-65. - Режим доступа: <http://chitgma.ru/zmv2> (дата обращения : 10.07.2013).**
 12. Полиморфизм гена ИЛ-4 (С 589Т) у больных с нарушением консолидации переломов в Забайкальском крае / А.М. Миromanов, К.А. Гусев, С.А. Усков и [др.] // [Электронный ресурс] // **Забайкальский медицинский вестник. - 2014. - № 1. - С. 64-68. - Режим доступа: <http://chitgma.ru/zmv2> (дата обращения : 06.03.2014).**
 13. Миromanов А.М. Полиморфизм гена TGFβ1 (Arg25Pro) и гена EGFR (A2073T) у больных с нарушением консолидации переломов в Забайкальском крае / А.М. Миromanов, К.А. Гусев, С.А. Усков // **Фундаментальные исследования. - 2014. - № 10. - Ч. 7. - С. 1360-1364.**
 14. Гусев К.А. Полиморфизм гена ИЛ-4 (С-589Т) у больных с нарушением консолидации переломов костей конечностей в Забайкальском крае / К.А. Гусев, С.А. Усков, А.М. Миromanов // III Съезд травматологов-ортопедов Сибирского федерального округа : материалы съезда (Горно-Алтайск, 22 августа 2014) / под ред. В.А. Пелеганчука, М.А. Садового. - Горно-Алтайск : АНФПО "Новосибирский академический центр человека", 2014. - С. 98-103.
 15. Усков С.А. Способ прогнозирования замедленной консолидации переломов костей конечностей / С.А. Усков, К.А. Гусев, А.М. Миromanов // **Амурский медицинский журнал. - 2015. - № 4. - С. 137-139.**
 16. Гусев К.А. Полиморфизм гена TGFβ1 (Arg25Pro) и гена EGFR (A2073T) у больных с нарушением консолидации переломов / К.А. Гусев, С.А. Усков, А.М. Миromanов // **Илизаровские чтения : материалы научн.-практ. конф. с междунар. участием, Курган, 10-11 июня 2015 // Гений ортопедии. - 2015. - № 2. - С. 67-68.**
 17. Genetic aspects of disturbances of consolidation at fractures of long bones of extremities / А.М. Miromanov, К.А. Gusev, S.A. Uskov, N.A. Miromanova // **Traumatology, orthopedy and regenerative medicine of the third millennium : materials of II congress of the countries the Shanghai Cooperation Organisation (China, Manchzhouli, May, 26-29th 2016) [Electronic resource]. - Chita: EPC CSMA, 2016. 1 electronic optical disc (CD-Rom). - P. 90-92.**
 18. Персонализированная медицина в практике травматолога-ортопеда / А.М. Миromanов, К.А. Гусев, С.А. Усков и [др.] // **Травма 2016. Применение современных технологий лечения в Российской травматологии и ортопедии : тезисы международной конференции (Москва, 3-4 ноября 2016). - М. : Ивентариум, 2016. - С. 133-134.**
 19. Современные подходы к диагностике нарушений консолидации при переломах / А.М. Миromanов, К.А. Гусев, С.А. Усков и [др.] // **Гений ортопедии. - 2017. - № 1. - С. 12-15.**
- Патенты на изобретения и полезные модели:**
20. Патент № 2436097, РФ, МПК G01N 33/50. Способ прогнозирования нарушения регенерации костной ткани при переломах длинных трубчатых костей / А.М. Миromanов, Е.В. Намоконов, Н.А. Миromanова, С.А. Усков и [др.] ; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО "Читинская государственная медицинская академия". - № 2010102454 ; заявл. 25.01.2010 ; опубл. 10.12.2011, Бюл. № 34. - 10 с.
- Учебные пособия:**
21. Миromanов А.М. Нарушение консолидации переломов длинных костей конечностей : учеб. пособие / А.М. Миromanов, С.А. Усков, К.А. Гусев // - Чита : РИЦ ЧГМА, 2012. - 66 с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АНФ	- аппарат наружной фиксации
БИМОС	- блокируемый интрамедуллярный остеосинтез
ДПИД	- дезоксипиридиолин
ИФА	- иммуноферментный анализ
ЛДФ	- лазерная доплеровская флоуметрия
МОС	- металлоостеосинтез
ОДА	- опорно-двигательный аппарат
ПИД	- пиридиолин
ПМ	- показатель микроциркуляции
ПХО	- первичная хирургическая обработка
Amax	- максимальная амплитуда компонента кровотока (Е-эндотелиального, М-миогенного, N- нейrogenного, R-дыхательного)
EGF	- эпидермальный фактор роста
IL	- интерлейкин
LPA	- лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия
MI	- показатель микроциркуляции
MT	- миогенный тонус
NT	- нейrogenный тонус
ShI	- показатель шунтирования
SNP	- полиморфизм гена
TGF	- трансформирующий фактор роста
TNF	- фактор некроза опухолей

Подписано в печать 25.10.2017. Бумага офсетная.
Формат 60 x 84 $\frac{1}{16}$. Усл.печ.л - 1,0 Тираж 100. Заказ № 130/2017.

Отпечатано в редакционно-издательском центре ЧГМА
672000, Чита, ул. Горького, 39 а.

