

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Российский научный центр «Восстановительная травматология и
ортопедия» имени академика Г.А. Илизарова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

УДК 606.7–092.6

ВЫХОВАНЕЦ ЕВГЕНИЯ ПЕТРОВНА

**ОСТЕОТРОПНЫЕ ФАКТОРЫ РОСТА И МАРКЕРЫ
ОСТЕОГЕНЕЗА В КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ
НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ОПОРНО-
ДВИГАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ**

14.03.03 - патологическая физиология

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:

Лунёва С.Н., профессор,

доктор биологических наук

Екатеринбург – 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1 – ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1 – Структура костной ткани	11
1.2 – Факторы роста и биологически активные молекулы в ремоделировании костной ткани	13
1.3 – Поступление факторов роста и биологически активных молекул в кровеносное русло	21
1.4 – Биохимические показатели костной ткани, определяемые в сыворотке крови	23
1.5 – Изменение содержания факторов роста и маркеров костной ткани в крови здоровых людей в различные возрастные периоды	27
1.6 – Некоторые наследственные формы патологий опорно-двигательной системы	31
1.7 – Современные методы коррекции состояний, связанных с поражением костной ткани	38
ГЛАВА 2 – МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	42
2.1 – Объект исследования	42
2.2 -- Биохимические методы исследования	46
2.3 – Иммунохимические методы исследования сыворотки крови	48
2.4 – Статистические методы обработки результатов	49
ГЛАВА 3 – ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ МОЛЕКУЛ И ФАКТОРОВ РОСТА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ЛИЦ	50
3.1 – Исследование содержания факторов роста и их рецепторов в сыворотке крови условно здоровых лиц	50
3.2 – Исследование содержание маркеров остеогенеза в сыворотке крови условно здоровых лиц	56
3.3 – Резюме	58
ГЛАВА 4 – СОДЕРЖАНИЕ ОСТЕОТРОПНЫХ ФАКТОРОВ РОСТА И МАРКЕРОВ ОСТЕОГЕНЕЗА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И МОЧЕ ПАЦИЕНТОВ С ВРОЖДЕННЫМ ЛОЖНЫМ СУСТАВОМ	60

4.1 – Содержание остеотропных факторов роста в сыворотке крови и пациентов с врожденным ложным суставом	60
4.2 – Исследование содержания маркеров остеогенеза в сыворотке крови и моче пациентов с врожденным ложным суставом голени	65
4.3 – Резюме	71
ГЛАВА 5 – СОДЕРЖАНИЕ ОСТЕОТРОПНЫХ ФАКТОРОВ РОСТА И МАРКЕРОВ ОСТЕОГЕНЕЗА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И МОЧЕ ПАЦИЕНТОВ С НЕСОВЕРШЕННЫМ ОСТЕОГЕНЕЗОМ	75
5.1 – Содержание остеотропных факторов роста в сыворотке крови пациентов с несовершенным остеогенезом	75
5.2 – Содержание маркеров остеогенеза в сыворотке крови и моче пациентов с несовершенным остеогенезом	79
5.3 – Резюме	82
ГЛАВА 6 – СОДЕРЖАНИЕ ОСТЕОТРОПНЫХ ФАКТОРОВ РОСТА И МАРКЕРОВ ОСТЕОГЕНЕЗА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И МОЧЕ ПАЦИЕНТОВ С ФОСФАТ-ДИАБЕТОМ	86
6.1 – Содержание остеотропных факторов роста в сыворотке крови пациентов с фосфат-диабетом	86
6.2 – Содержание маркеров остеогенеза в сыворотке крови и моче пациентов с фосфат-диабетом	90
6.3 – Резюме	96
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	100
ВЫВОДЫ	109
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	110
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	112
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	114

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Давно известно, что органы и ткани способны обновляться и восстанавливаться после различных повреждений. На сегодняшний день нет такого патологического процесса, в котором регенерация не играла бы важную роль, именно она отвечает за восстановление поврежденных органов и тканей [13]. В настоящее время известна динамика многих репаративных процессов в физиологических условиях, а также описаны различные виды восстановительных процессов [133]. Несмотря на это, в теории регенерации многие вопросы остаются нерешенными, особенно вопросы по расшифровке механизмов регуляции регенерации поврежденных органов и тканей, а ведь именно они определяют направление поиска медикаментозных средств [181].

Наследственные формы патологий опорно-двигательной системы представляют серьезную социальную проблему. Восстановление опорной функции является одной из актуальнейших задач исследователей разных специальностей. При легкой степени выраженности наследственных болезней можно рассчитывать на эффект от консервативного лечения, однако, многие болезни костно-мышечной системы на сегодняшний день не поддаются лечению или просто не лечатся консервативно. Также существует проблема в ранней и точной диагностике некоторых наследственных патологий костной системы, поэтому некоторые заболевания диагностируются поздно, когда налицо видны деформации костей и происходит нарастание болевого синдрома [44].

Согласно статистическим данным болезни костной системы являются часто встречающимися среди самых распространенных заболеваний в мире [44]. По данным Федеральной Службы Государственной Статистики за 2016 год число больных с заболеваниями костно-мышечной системы и соединительной ткани на территории Российской Федерации составляет около 16,6 млн. от общего числа населения [162]. По различным данным на территории США это число колеблется в районе 2 % от всей численности населения [303, 329]. На сегодняшний день все

больше и больше научных работ посвящено исследованию патологий костно-мышечной системы. Особое внимание исследователи уделяют биохимическим и иммунологическим исследованиям, без которых невозможно понять патогенез и течение многих заболеваний. Механизмы патогенеза наследственных костных заболеваний – сложная проблема, в которой до сих пор много неясного. Для объяснения причин патофизиологических нарушений при врожденных заболеваниях опорно-двигательной системы все чаще обращают внимание на исследование роли факторов роста, а также маркеров остеогенеза [48, 58, 75, 79, 93].

Факторы роста – это полипептиды, секретируемые клетками органов и тканей, осуществляющие свой эффект внутри клеточного цикла [58, 260, 371]. Регуляция и действие факторов роста очень сложны, но имеют большое значение для понимания механизмов развития наследственных патологий опорно-двигательной системы.

Нарушения в молекуле ДНК наследственных форм патологий опорно-двигательной системы связаны с тремя основными причинами: 1) нарушение микроархитектоники костной ткани (например, врожденный ложный сустав); 2) нарушение минерального обмена костной ткани (например, фосфат-диабет); 3) нарушение в биосинтезе белков матрикса соединительной ткани (например, несовершенный остеогенез). На сегодняшний день существует мало работ о содержании и роли факторов роста в крови пациентов с врожденным ложным суставом, несовершенным остеогенезом и фосфат-диабетом [29, 30, 192, 255, 264, 269]. В связи с этим, консервативное лечение часто оказывается малоэффективным. Существуют данные о том, что во многих случаях оперативное вмешательство приводит к инвалидизации или оказывается малоэффективным [208]. С приходом в ортопедию аппарата Илизарова произошла революция подходов к увеличению и исправлению длины конечностей [37, 100], и вплоть до настоящего времени метод Илизарова остается практически единственной методикой увеличения роста и восстановления пропорций тела у больных [120].

Таким образом, несмотря на широкое и порой противоречивое освещение в научной литературе вопросов патофизиологии, патологической анатомии и биохимии, единый взгляд на проблему патогенеза наследственных заболеваний отсутствует. До настоящего времени не было проведено исследований содержания факторов роста в сыворотке крови здоровых людей и сравнение полученных данных с группой наследственных патологий.

Цель диссертационного исследования – оценить содержание остеотропных факторов роста и маркеров остеогенеза в крови здоровых лиц и пациентов с врожденными наследственными заболеваниями скелета и выявить особенности течения репаративного остеогенеза у больных.

Для достижения поставленной цели были определены следующие **задачи**:

1. Выявить возрастные и половые особенности содержания в сыворотке крови здоровых людей: фактора роста фибробластов (его основная форма), инсулиноподобного фактора роста-1, 2, фактора стволовых клеток, трансформирующего фактора роста- $\beta 1$, $\beta 2$ и α , васкулярноэндотелиального фактора роста, фактора роста эндотелия сосудов A, а также рецепторов к факторам роста: растворимая форма рецептора фактора роста Srg SCF, васкулярноэндотелиальных рецепторов-R2 и R3.

2. Определить содержание остеотропных факторов роста и маркеров остеогенеза в сыворотке крови пациентов с врожденным ложным суставом.

3. Определить содержание остеотропных факторов роста и маркеров остеогенеза в сыворотке крови пациентов с несовершенным остеогенезом.

4. Определить содержание остеотропных факторов роста и маркеров остеогенеза в сыворотке крови пациентов с фосфат-диабетом.

5. На основании динамики остеотропных факторов роста и маркеров остеогенеза в крови выявить особенности течения репаративного остеогенеза после хирургического лечения врожденных наследственных заболеваний скелета.

Методология и методы исследования. Для достижения цели и решения поставленных задач использованы биохимические, иммуноферментные и статистические методы исследования.

Научные положения, выносимые на защиту:

1. В крови условно здоровых детей и взрослых в зависимости от возраста отличается содержание: CrossLaps, остеокальцин, VEGF-R3, VEGF-A, IGF-1, TGF- β 2, TGF- α , SCF, SCF Sr, VEGF; по половому признаку отличаются рецепторы VEGF-R2, SCF Sr и факторы роста: TGF- β 2, TGF- α , SCF, VEGF.

2. В крови всех пациентов с врожденными наследственными заболеваниями скелета, такие как: врожденный ложный сустав, несовершенный остеогенез, фосфат-диабет наибольшим изменениям подвержены факторы роста семейства VEGF и их рецепторы, FGF basic, TGF- β и TGF- α .

3. В процессе ортопедического лечения пациентов с врожденными наследственными заболеваниями скелета происходят нарушения репаративного остеогенеза, степень выраженности которых отражает динамика содержания факторов роста и маркеров остеогенеза в крови.

Научная новизна работы. Впервые установлено, что для факторов роста IGF-1 и IGF-2 нет отличий по половому признаку у условно здоровых детей и взрослых. Концентрация IGF-1 изменяется в зависимости от возраста. Впервые показано, что фактор роста TGF- β 2 отличается по половым признакам только в раннем возрасте у здоровых детей. Фактор роста TGF- α в сыворотке крови условно здоровых лиц различается по половому признаку только в период старшего школьного возраста. Концентрация фактора роста SCF изменяется по половому признаку в двух периодах: переходный и дошкольный. В то время как рецептор данного фактора Sr SCF отличается только в раннем взрослом периоде.

Впервые установлено, что в сыворотке крови пациентов с врожденным ложным суставом концентрация факторов роста и их рецепторов, а также маркеров остеогенеза отличается от контрольной группы до лечения, наибольшие изменения обнаружены для сосудистых факторов роста, таких как VEGF-A и его рецептор VEGF-R2, FGF-basic. В дооперационный период наименьшую концентрацию имеют рецептор VEGF-R3 и фактор роста TGF- β 2. В крови больных с врожденным ложным суставом маркер резорбции костной ткани –

CrossLaps – и кислая фосфатаза имеют низкие значения, высокое содержание отмечается для неорганического фосфора.

Впервые установлено, что у пациентов с несовершенным остеогенезом в сыворотке крови высокие значения факторов роста: VEGF и его рецептора VEGF-R2, FGF-basic, TGF- β 1, TGF- α и рецептора Sr SCF. Выявлено низкое содержание фактора TGF- β 2 и рецептора VEGF-R3.

Впервые показано, что в крови у пациентов с фосфат-диабетом высокая концентрация факторов VEGF, VEGF-A, VEGF-R2, TGF- β 1, SCF и низкие значения у фактора FGF-basic и рецептора VEGF-R3.

Теоретическая и практическая значимость работы. Установлено, что у всех групп врожденных наследственных заболеваний костной системы нарушен процесс костеобразования, васкуляризации и образование лимфоцитов. У пациентов с врожденным ложным суставом происходят наименьшие изменения факторов роста и их рецепторов, а также маркеров остеогенеза в крови до оперативного вмешательства. В крови больных с фосфат-диабетом наблюдаются наибольшие изменения концентраций остеотропных факторов роста и их рецепторов по сравнению со здоровыми людьми. У пациентов с врожденным ложным суставом не происходят изменения концентраций факторов роста IGF-1 и IGF-2. Во время ортопедического лечения у пациентов с врожденным ложным суставом голени наибольшие изменения происходят для сывороточного содержания фактора роста в FGF-basic, концентрация которого уже на 3–5 сутки в 10 раз ниже, чем у контрольной группы. Концентрация TGF- α в сыворотке крови у этих пациентов повышена на всех этапах ортопедического лечения. Сывороточная концентрация IGF-2 увеличена в течение всего лечения, в то время как концентрация IGF-1, наоборот, уменьшалась в процессе лечения. Сроки лечения у пациентов с врожденным ложным суставом влияют на концентрацию TGF- β 1 и TGF- β 2. Чем больше срок, тем выше концентрация. Концентрация SCF не изменялась в процессе лечения. Для фактора роста эндотелия сосудов – VEGF и его рецептора VEGF-R2 – концентрация максимально изменена еще до лечения, такая же картина сохраняется и на протяжении всего лечения, а по окончании

лечения концентрация данного фактора и рецептора еще больше увеличивается. При несовершенном остеогенезе ортопедическое лечение в значительной степени не влияет на динамику факторов роста и их рецепторов. Существенные изменения выявлены в концентрации маркеров остеогенеза – пиридинолина и кислой фосфатазы. В процессе лечения данные маркеры стремительно увеличивались и к концу лечения достигали максимальной концентрации. В процессе лечения пациентов с фосфат-диабетом достоверно снижается содержание рецептора VEGF-R2, которое остается сниженным на всех этапах лечения, по сравнению с дооперационным уровнем. Концентрация VEGF у больных более чем в 2 раза увеличивается на 5–7 сутки после лечения. Концентрация FGF-basic, сниженная до оперативного вмешательства, еще больше уменьшается, достигая минимума значений к 90-м суткам лечения. Обнаружено увеличение концентрации белка-CrossLps в процессе лечения. Концентрация остеокальцина, повышенная на дооперационном этапе, к окончанию лечения снижалась и не отличалась от значений условно здоровых детей и взрослых. Активность кислой и щелочной фосфатазы на всех этапах ортопедического лечения имела высокие значения.

Внедрение результатов исследования в практику. Полученные данные легли в основу базы нормативных значений полипептидных факторов роста различных возрастных групп и используются в качестве референсных при клинико-лабораторных обследованиях пациентов в ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» МЗ РФ (с 02.02.2016 г.). Исследованные данные опубликованы в справочном пособии «Содержание факторов роста и маркеров в крови детей и взрослых» (2018 г.). Полученные данные используются в курсах лекций по биохимии и молекулярной биологии и в спецкурсах «Вопросы медицинской экологии и патохимии», «Биомедицинская химия в экологии и экспертизе» для студентов направления «Биология» и «Фундаментальная и прикладная химия» факультета естественных наук Курганского государственного университета (2018г.).

Апробация результатов исследования. Материалы диссертации доложены на Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых,

посвященной 120-летию со дня рождения Т.С. Мальцева «Развитие научной, творческой и инновационной деятельности молодежи», г. Курган, 2015; Региональном конкурсе на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов (молодых ученых) высших учебных заведений и научных учреждений Курганской области, г. Шадринск, 2016; Международной конференции «XX Менделеевский съезд по общей и прикладной химии», г. Екатеринбург, 2016; Региональном конкурсе на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов (молодых ученых) высших учебных заведений и научных учреждений Курганской области, г. Курган, 2017; Научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы биохимии и лабораторной диагностики», г. Ижевск, 2017; X Юбилейной Российской научно-практической конференции с международным участием «Здоровье человека XXI века», г. Казань, 2018; 16 Congrès de l'association des orthopédistes de langue française, la ville, 2018.

Публикация результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 22 научные работы, в том числе в изданиях, рецензируемых ВАК, - 6, справочное пособие -1.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 157 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы», 4-х глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, а также списка литературы, включающего в себя 399 источников, из них 179 отечественных и 220 зарубежных. Работа иллюстрирована 29 таблицами и 23 рисунками.

ГЛАВА 1 – ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 – Структура костной ткани

Костная ткань – специализированный вид соединительной ткани, которая является составной частью скелета организма [7, 140, 154]. Костная ткань состоит из основных компонентов: клетки, на долю которых приходится около 3-4 % объема костной ткани и межклеточный матрикс [194]. Формирование кости осуществляют клетки-остеобласты (крупные овальные клетки), основная функция которых заключается в синтезе остеоида или протеинового матрикса [213, 394]. Остеоид состоит из коллагена, мукополисахаридов и неколлагеновых белков, таких как остеокальцин и остеопонтин [105, 209, 214].

Остеоциты – это зрелые, непрофилирующие клетки, которые располагаются в полостях между слоями новообразованной кости [184]. Основная функция остеоцитов – поддержание гомеостаза костной ткани (участие в обменных транспортных процессах) [224, 305].

Остеокласты – крупные, подвижные, многоядерные клетки, которые отвечают за резорбцию костной ткани [61, 106]. Остеокласты выделяют углекислый газ (CO_2), далее под действием фермента карбоангидразы образуется угольная кислота (H_2CO_3), которая способна растворять соли кальция [106]. Остеокласты окружены остеоидом [108, 139]. При этом они секретируют фермент, который разрушает слой остеоида (коллагеназа) и далее коллагеназа обеспечивает доступ остеокластам к минеральному матриксу кости [346].

В норме остеобласты и остеокласты функционируют взаимосвязано, образуя при этом сложный процесс, который называют «костным ремоделированием» [2]. Именно благодаря этому процессу, кость является динамической системой, которая активно участвует в регенерационных и метаболических процессах в организме [74]. Старую кость непрерывно резорбируют остеокласты, в то время как остеобласты образуют новую ткань, за счет синтеза остеоида, который впоследствии минерализуется кальцием и

фосфатом из внеклеточной жидкости [139]. Кость в течение жизни постоянно подвергается процессам ремоделирования [36, 74]. Остеокласты начинают заполнять костный канал, затем идет удаление остеокластов, при этом формируется новая кость [109]. Старая костная ткань замещается точно таким же количеством новой.

Костное ремоделирование выполняет важную функцию в поддержании минеральных параметров гомеостаза [1]. Масса костной ткани на протяжении всей жизни отражает баланс остеобластической и остеопенической активности. Уникальность ремоделирования костной ткани состоит в приспособлении механических свойств кости к условиям внешней среды [138].

Межклеточное вещество костной ткани – это особый комплекс, который сочетает в себе неорганические и органические компоненты [15].

Органическая часть представлена коллагеном I типа (около 90 %), при этом в костной ткани присутствуют и другие типы коллагена, принадлежащие другим тканям, фрагменты которых находятся в костной ткани, но не входят в состав костного матрикса [60, 272]. В *таблице 1* представлено распределение коллагена в тканях и органах [64, 90].

Таблица 1 – Распределение некоторых коллагенов в тканях и органах

Тип коллагена	Ткани и органы
I	Кость, кожа, роговица, печень
II	Компонент суставного хряща
IV	Базальные мембраны
V	Сосуды, которые пронизывают кость
XI	Хрящевая ткань, может соответствовать остаткам кальцифицированного хряща

Около 10% органического матрикса представлено неколагеновыми белками [42]. К их числу можно отнести: витамин-К (остеокальцин); протеогликаны (кислые полисахариды и гликозаминогликаны), которые обеспечивают

консолидацию коллагеновых волокон и их связь с кристаллами минералов; гликопротеины (щелочная фосфатаза, остонектин); также к ним можно отнести ряд факторов роста [34, 210, 332].

Минеральная часть костной ткани, которой пропитан органический матрикс, представлена кристаллами гидроксиапатита – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ [1, 116]. Также в составе костной ткани обнаружены ионы Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , SO_4^{2-} .

1.2 – Факторы роста и биологически активные молекулы в ремоделировании костной ткани

Костная ткань постоянно претерпевает процессы резорбции и формирования [5]. При этом данные процессы проходят одновременно и находятся в балансе. За равновесие данных процессов в костной ткани отвечают биологически активные молекулы (вещества) (БАВ, БАМ) и факторы роста [28].

Ремоделирование кости осуществляется под действием БАВ [19, 73, 125, 167]. В *таблице 2* представлены некоторые БАВ, участвующие в регуляции процессов ремоделирования [64, 90, 94, 131, 144, 212, 247, 284, 294, 312, 349, 350, 363, 369].

Основными маркерами ремоделирования костной ткани, определяемыми в сыворотке крови, являются: маркер резорбции костной ткани – CrossLaps – белок, состоящий из двух октапептидов (8АА), связанных пиридиновой или пирроловой поперечной сшивкой, являющийся продуктом деградации коллагена I типа [359]. Позволяет оценить темп деградации коллагена относительно сформированной кости [358].

Остеокальцин (Osteocalcin, ОК) – неколагеновый белок, молекулярная масса 5,8 кДа, состоит из 49-аминокислот, включая три остатка γ -карбоксихлутаминовой кислоты [319]. Локализуется во внеклеточном матриксе кости [11]. Синтезируется зрелыми остеобластами, часть синтезируемого остеокальцина попадает в кровоток, индикатор метаболизма костной ткани [85, 98, 367].

Таблица 2 – Биологически активные молекулы, участвующие в процессе ремоделирования костной ткани

Название гормона аббревиатура	Природа соединения	Механизм образования и действия	Влияние на костную ткань
Паратерийный гормон / ПТГ, РТУН	Полипептид, состоящий из 84 аминокислотных остатков, продукт жизнедеятельности паращитовидных желез	Синтез ПТГ осуществляется в паращитовидных железах, в виде прогормона, который после выхода из клеток подвергается протеолизу с образованием ПТГ	Стимулирует резорбцию кости за счет активации остеобластов, в то время как в остеокластах активируют ферменты, разрушающие промежуточное вещество кости
Кальцитонин / КТ	Пептидный гормон, состоящий из 32 аминокислот, продуцируемый клетками щитовидной железы	Механизм действия кальцитонина опосредуется ц-АМФ и активацией протеинкиназ, что сопровождается изменением активности щелочной фосфатазы, пиррофосфатазной активности и активности ферментов.	Антагонист ПТГ. Тормозит резорбцию костной ткани за счет первичного угнетения остеокластической активности и уменьшении количества остеокластов
Инсулин	Полипептид, синтезируемый клетками поджелудочной железы	Синтез в В-клетках островков Лангенганса поджелудочной железы в виде проинсулина. Проинсулин с помощью специфических эндопептидаз вырезается из С-пептида, где транспортируется в комплекс Гольджи. Таким образом, проинсулин делится на инсулин, который созревает в цистернах и биологически инертный пептидный остаток. Созревший инсулин соединяется с ионами Zn^{2+} , образуя кристаллические агрегаты.	Стимулирует синтез матрикса и формирование хряща, который минерализуется; осуществляет свое действие через увеличение синтеза инсулинподобного фактора роста-1 (ИПФР-1)
Саматропный гормон / СТГ	Полипептид	Вырабатывается передней долей гипофиза	Поддерживает норму костной массы вследствие регуляции синтеза ИПФР-1 в печени и стимуляции синтеза кальцитрола
Витамин D-связывающий белок, Gc-глобулин Vitamin D / VDV	Молекулярная масса 51,243 кДа, в состав, которого входит 458 аминокислот – витамин D-связывающий белок	1) Через кожу, где синтезируется под влиянием ультрафиолетового облучения - D3– холекальциферол; 2) из продуктов питания через желудочно-кишечный тракт – D2-эргокальциферол; 3) превращается в печени, а затем в почках в активные метаболиты, перенос которых к тканевым рецепторам витамина D осуществляется Gγ-глобулином	Регулирует фосфорно-кальциевый обмен, участвует в минерализации костной ткани, а также поддерживает гомеостаз кальция
Dickkopf-1 / DKK-1	Протеин с молекулярной массой 28 кДа, состоящий из 266 аминокислот	Неизвестно	Повышает резорбцию костной ткани, является маркером остеокластогенеза
Остеокальцин / ОК	Неколлагеновый белок, молекулярная масса 5,8 кДа, состоящий из 49 аминокислот, включая три остатка – карбосиглутаминовой кислоты	Синтезируется преимущественно остеобластами	Способствует минерализации кости. Участвует в кальциевом гомеостазе

Пиридинолин (PYD, ПИД) – молекулярная масса 10 кДа, коллагеновая «сшивка». При распаде хрящевого, либо, костного коллагена, PYD высвобождается в кровоток и выводится с мочой. По уровню в моче производится оценка резорбции костной ткани [43, 114, 137].

CartiLaps – продукт деградации коллагена II типа, необходим для оценки деградации хрящевой ткани [252, 339].

Факторы роста – это белки, секретируемые клетками органов и тканей, осуществляющие свой эффект внутри клеточного цикла [57, 260, 371]. Свои эффекты факторы роста реализуют при помощи механизмов действия:

1) эндокринный (юстакринный) – фактор роста вырабатывается и транспортируется к удаленным клеткам-мишеням, связываясь со специфическим рецептором (лиганд-рецепторное взаимодействие), активируя сигнал трансдукторной системы. Таким образом, активированный фактор роста проникает в ядро, связываясь с ядерной ДНК и индуцирует экспрессию новых генов или встраивается в ген;

2) паракринный – фактор роста, секретируемый одной клеткой, оказывает воздействие на близлежащие клетки;

3) аутокринный (интракринный) – фактор роста оказывает действие на синтезирующую клетку. В *таблице 3* распределены некоторые факторы роста и БАМ по механизмам действия [12, 165, 170, 220, 254, 273, 321, 344, 398].

Известны факторы роста, действующие по двум и более механизмам одновременно [117, 130].

Факторы роста способны реализовать свое биологическое действие с помощью специфических трансмембранных протеинов – рецепторов [136].

Таблица 3 – Распределение некоторых факторов роста и биологически активных молекул по механизму действия

Механизм действия	Название фактора роста/ биологически активные молекулы	Аббревиатура
Эндокринный путь	Витамин D	Vitamin D
	Инсулинподобный фактор роста – 1	IGF-1
Паракринный путь	Фактор роста фибробластов – 1,7	FGF-1,7
	Инсулинподобный фактор роста – 1	IGF-1
	Фактор роста гепатоцитов	HGF
	Васкулярноэндотелиальный фактор роста	VEGF
	Витамин D	Vitamin D
Аутокринный путь	Эпидермальный фактор роста	EGF
	Трансформирующий фактор роста – α	TGF- α
	Фактор роста фибробластов – 1,2 (кислая и основная форма)	FGF-1,2
	Трансформирующий фактор роста – β 1,2	TGF- β 1,2
	Инсулинподобный фактор роста – 1	IGF-1
	Витамин D	Vitamin D

Регуляция и действие факторов роста сложный процесс, но имеет большое значение для понимания механизмов развития различных наследственных болезней. В *таблице 4* представлено влияние факторов роста и их рецепторов на костную ткань [26, 50, 75, 79, 178, 189, 196, 215, 236, 241, 270, 274, 278, 308, 338, 340, 353, 362, 372].

Таблица 4 – Влияние факторов роста и их рецепторов на костную ткань в процессе ремоделирования

Название фактора роста / рецептора / аббревиатура	Состав	Механизм действия, место синтеза	Влияние на костную ткань	Влияние на другие клетки
1	2	3	4	5
Фактор роста фибробластов / ФРФ, FGF-acidic (1, кислый), basic (2, основной)	Полипептид, FGF-1 – молекулярная масса 16кДа; FGF-2 молекулярная масса 17кДа	Синтезируются в моноцитах, макрофагах, хондроцитах и остеобластах. Действие их реализуется через взаимодействие с трансмембранными рецепторами ФРФ и с гепарин-сульфатными протеогликанами	FGF-1,2 первыми появляются в гематоме перелома и действуют на ранних стадиях сращения кости	ФРФ способен индуцировать рост новых сосудов, активный участник хондрогенеза
Инсулинподобные факторы роста / IGF-1, IGF-2 ИПФР	IGF-1 молекулярная масса 7,5 кДа; IGF-2 – 8,7 кДа	Опосредуют действие СТГ	ИПФР-2 присутствует в костном матриксе в наибольшей концентрации, но ИПФР-1 более активной. Усиливают синтез коллагена, активируют процесс пролиферации и рост остеобластов. В эксперименте получены данные о стимуляции образования хрящевой ткани и сращении переломов	ИПФР-1 фактор регуляции эритропоэза. ИПФР-2 стимулирует хондрогенез
Трансформирующие факторы роста –β / ТФР-β, TGF-β1, TGF-β2	ТФР –β – димер с молекулярной массой 25 кДа, состоящий из 2 идентичных белков, соединенных дисульфидной связью. Присутствуют в латентной форме в костном матриксе	Действие ТФР–β контролируют рецепторы (1 и 2 – лиганд-активируемые серин-треонин-протеинкиназы). Синтезируются как предшественники – латентная форма, состоящая из зрелого ТФР-β-димера, нековалентно связанного с димером – латентно-ассоциированный пептид, не способен связываться с рецептором. Активация заключается в процессе протеолиза на поверхности клеточных мембран	Индукцируют пролиферацию клеточного пула и основного вещества костной ткани. ТФР-β1 активирует остеокласты на ранних стадиях сращения кости. ТФР-1,2 действуют на репаративный остеогенез на 1-21, 3-14 сутки – усиливая хемотаксис для костеобразующих клеток и макрофагов, способствуют раздифференцировке остеобластов, хондроцитов, клеток предшественников, мезенхимальных клеток	Оказывает модулирующий эффект на рост сосудов в новообразованиях вместе с ФРФ. Ингибитор пролиферации эндотелиальных клеток

Продолжение таблицы 4

1	2	3	4	5
Фактор роста стволовых клеток / SCF, KL	Гликолизированная димерная молекула, с молекулярной массой 32 кДа	Секретируют клетки стромы мозга (фибробласты, эндотелиальные клетки). Имеет две дисульфидные связи. Существует в двух видах: трансмембранный и растворимый (образуется в результате протеолитического отщепления внеклеточной части)	Регулирует формирование красного и желтого костного мозга. Дифференцирована предшественниками клеток костной ткани. Также отвечает за ранние этапы костеобразования	Индуктор дифференцировки предшественников лимфоцитов и эритроцитов. SCF участвует в поддержании жизнеспособности стволовых кроветворных клеток, обеспечивает их пролиферацию, поддерживает ранние этапы гемопоэза
Растворимый рецептор фактора роста стволовых клеток / SCF Sr	Является членом субсемейства рецепторных тирозинкиназ (RTK) типа III. Все RTK типа III характеризуются наличием 5 иммуноглобулин-подобных доменов во внеклеточном пространстве	Продукт проногена c-kit, а также лиганд фактора SCF	Опосредует влияние фактора стволовых клеток на костную ткань	Изменение уровня SCF Sr и мутации гена SCF R были описаны для нескольких типов рака, включая рак легких, молочной железы, стромальных опухолей желудочно-кишечного тракта; рецептор используют в качестве мишени при лечении рака. Уровни растворимой формы рецептора, в частности, могут быть изменены у пациентов с гематологическими злокачественными заболеваниями и т.д.
Эпидермальные факторы роста / ЭФР, EGF	Глобулярный протеин с молекулярной массой 6,4 кДа	Основное место синтеза – слюнные железы	Увеличивает высвобождение кальция из костной ткани, стимулирует резорбцию кости	Митоген эндодермального, эктодермального и мезенхимального происхождения
ТРФР, TGF- α – трансформирующий фактор роста альфа	Белок, состоящий из 50 аминокислотных остатков	Основные источники карциномы (макрофаги, кератиноциты). Рецепторы ЭФР связываются с ТРФР- α	Нет данных	Стимулирует рост клеток, ведущий медиатор клеточной пролиферации в опухолях и при заживлении ран

В условиях репаративной регенерации костной ткани особый интерес представляют васкуляроэндотелиальные факторы роста, которые были рассмотрены отдельно. Сосудистые факторы роста (VEGF) принимают основное участие в эмбриональном васкуло- и ангиогенезе [156], физиологическом ангиогенезе [56, 221, 378, 385, 393], влияют на формирование костной ткани в онтогенезе [270] и участвуют в трансформации хряща в кость (эндохондриальная оссификация) [291] при формировании дистракционного регенерата [358].

Васкуляроэндотелиальные факторы роста (VEGF) представлены отдельным классом факторов роста, отвечающих на ангио- и лимфогенез [52, 262, 365].

VEGF – гетеродимерный гликопротеиновый ростовой фактор, молекулярная масса 34–42 кДа. Отвечает за ревазуляризацию и ангиогенез костной мозоли при эндохондриальной оссификации, экспрессируется остеобластами [303, 368]. Сохраняет активность на всех стадиях сращения перелома, начиная с первых часов межотломковой гематомы и заканчивая спустя несколько месяцев на этапе ремоделирования костной мозоли [355], является митогеном для эндотелиальных клеток сосудов, способен повышать проницаемость сосудов. Показано, что повышение ростового фактора VEGF в крови свидетельствует о его повышенной секреции [53, 172] и его активность регулируется определяемым в крови антиангиогенным фактором — растворимым рецептором 1 васкулоэндотелиального фактора роста (s VEGF-R1) [143, 161]. В ряде исследований указывается, что VEGF может влиять на контрактильность сосудистой стенки [70], вызывая NO-зависимую релаксацию в артериях [267, 384, 387], или взаимодействуя VEGF с flk-1/KDR (VEGF-R2) активирует продукцию простаглицлина, одного из самых мощных вазодилатационных агентов [383]. Вазодилатация резистивных сосудов с увеличением артерио-венозного шунтирования является одним из механизмов, запускающих гиперемию тканей и, как следствие, повышение давления в венах со стимуляцией ангиогенеза [169, 197].

VEGF-A – гетеродимерный гликопротеин, состоит из 8 экзонов [386]. В течение внутриутробного развития VEGF-A является необходимым фактором для роста и развития костной ткани [142, 158]. На стадии дифференцировки остеобластов обнаружена экспрессия данного фактора роста, а также на стадии минерализации, наряду с фактором роста VEGF-B [248]. Проангиогенный фактор, который активирует пролиферацию эндотелиальных клеток, обладает провоспалительными свойствами, являясь хемоаттрактантом для моноцитов и лимфоцитов, а также увеличивает проницаемость стенок микрососудов для жидкости и различных макромолекул [75, 89].

VEGF-B – белок, который связан с гепарином, прочно соединяется с клеткой или внеклеточным матриксом [246]. Стимулирует пролиферацию эндотелиальных клеток, действует также на эмбриональный ангиогенез [293].

VEGF-C – синтезируется в виде прополипептида, расщепляется до молекулярной массы 21 кДа. Вырабатывается в период эмбрионального развития в отделах, где из венозной системы формируется лимфатические сосуды. Увеличивает проницаемость сосудов и стимулирует миграцию и пролиферацию эндотелиальных клеток. Отвечает за ангиогенез лимфатических сосудов [135, 171].

К рецепторам эндотелиальных факторов роста относится sVEGF-R1 – несвязанный с клеточной оболочкой, состоящий из внеклеточной рецепторной части [29, 72, 160]. Данный рецептор присоединяет VEGF без стимуляции ответа, является ингибитором процесса ангиогенеза, регулирует концентрацию свободных факторов роста в крови за счет их связывания [30, 147].

VEGF-R1, -R2, -R3 – трансмембранные белки: их рецепторная часть состоит из 7-иммуноглобулин-подобных доменов, во внутриклеточной области которых находится тирозинкиназный домен [52, 202, 280]. VEGF-R1 при взаимодействии с лигандом вызывает димеризацию рецепторов с последующей активацией их каталитической активности [275], при полном

отсутствии рецептора не синтезируется Svegф-R1, происходит избыточное формирование кровеносных сосудов [155, 250]. VEGF-R2 связывается с высокой аффинностью только с VEGF [132, 155]. Фактор роста VEGF-C способен активировать –R2 [387] и стимулировать пролиферацию клеток эндотелия. VEGF-R3 взаимодействует с VEGF-C, -D [318]. При взаимодействии VEGF-R3 с VEGF-C происходит автофосфолирование рецептора, который присутствует во всех эндотелиях лимфатических капилляров, отвечает за лимфогенез [4].

Гистохимические исследования содержания VEGF у пациентов, страдающих остеосаркомой челюсти (15 человек) и длинных трубчатых костей (15 человек), показали, что содержание VEGF в длинных трубчатых костях при саркоме значительно выше, чем у людей, страдающих остеосаркомой челюсти [279]. По содержанию в сыворотке крови VEGF пациентов с остеосаркомой и контрольной группой условно здоровых лиц. S. Limmahakhum и соавт. (2011) не обнаружили статистически значимых различий [337]. Бабкина И.В. и соавт. (2013) показали, что в сыворотке крови пациентов с хондросаркомой, саркомой Юинга и хондроме значение концентрации VEGF достоверно отличались от концентраций, полученных у условно здоровых [162].

Костное ремоделирование представляет собой сложный процесс, который проходит под контролем местных и системных факторов роста и биологически активных молекул. Нарушение продукции или взаимодействие компонентов этой системы неотвратимо приводит к развитию патологических процессов.

1.3 – Поступление факторов роста и биологически активных молекул в кровеносное русло

Изменения в костной ткани отражаются на состоянии сыворотки крови. Некоторые факторы роста находятся в сыворотке крови, другие могут

выделяться определенными клетками. Известно, что факторы роста в крови находятся в количестве прямо пропорциональном содержанию в кости. При высокой концентрации факторов роста в крови свидетельствует о выходе из костной ткани фактора роста в кровь, продуцируя и снижая их депонирования в кости.

Все найденные в научной литературе сведения о содержании факторов роста в крови были объединены нами в *таблицах 5 и 6*.

Таблица 5 – Содержание факторов роста в крови в различные возрастные периоды

Фактор роста	Содержание в крови	Автор публикации
IGF-1	При рождении 20-60 нг/мл, половая зрелость 600-1100 нг/мл	Underwood L.E., VanWyk J.J., 1991
IGF-2	1-9 лет: 69-480 пг/мл; 10-18 лет: 50-326 пг/мл; 18-49 лет: 55-240 пг/мл; более 50: 28-444 пг/мл	Degroot L.J., Jameson J.L., 2001
TGF- β 1	4,1 \pm 0,5 нг/мл	Sami T., 2000
VEGF	До конца не установлен ¹ . Концентрации у женщин гораздо выше, чем у мужчин ²	1 – Захарова Н., Воскресенская О., Тарасова Ю., 2014; 2 – Кушлинский Н., Бабкина И., Соловьев Ю., Трапезников Н., 2000

Таблица 6 – Сведения о количественном содержании концентрации факторов роста в крови

Фактор роста	\uparrow концентрации	\downarrow концентрации
FGF-basic	При высокой концентрации вместе с костно-морфогенетическими белками (КМБ) работают как антагонисты [59]	При низкой концентрации совместно с КМБ усиливают действие друг друга [278]
TGF- β 1	При воспалительных реакциях, фиброзные изменения печени, почек, миокарда [216]	Не изучено
VEGF	Фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний увеличивается неоваскуляризация бляшек, при злокачественных опухолях [237]. Фактор прогноза остеосаркомы [162, 222]	Прекращение роста опухоли [237]. Замедление процессов эпителизации [49, 190]
VEGF-A	При кистах, у пациентов с опухолями головного мозга или в асцитной жидкости. Может свидетельствовать о злокачественных опухолях, а также о псориазе, ревматоидном артрите.	Низкая концентрация необходима для продукции NO и простаглицлина, которые подавляют пролиферацию гладкомышечных клеток и апоптоз
sVEGF-R1	Не изучено	Усиленная васкуляризация; подавляет формирование полноценного плацентарного кровоснабжения эмбриона [352]

Нормативные значения концентраций большинства факторов роста в крови здоровых людей разного возраста в настоящий момент не определены. Выяснение значений сывороточных показателей факторов роста у здоровых мужчин и женщин в различные возрастные периоды, а также у людей с

определенными фенотипическими и генотипическими изменениями позволят не только объяснить механизмы обменных нарушений, но и в последующем разработать схемы возможной терапии некоторых генетически обусловленных заболеваний.

1.4 – Биохимические показатели костной ткани, определяемые в сыворотке крови

Все структурные и метаболические изменения, происходящие в костной ткани, сопровождаются появлением в кровеносном русле активных метаболитов, произведенных в результате этой перестройки [121]. Причем, все физиологические, репаративные и патологические процессы, протекающие в костной ткани, происходят с образованием специфических биохимических продуктов, поступающих в кровь в количестве прямо пропорциональном накоплению в костной ткани и могут быть определены при помощи специальных биохимических тестов [15]. Такие специфические метаболиты получили название «маркеров» состояния костной ткани [10, 47, 336]. Так, маркерами формирования костной ткани являются щелочная фосфатаза и остеокальцин. Маркеры костеобразования высвобождаются в кровь в процессе синтеза остеобластами белкового матрикса кости. V. Povogoznyuk утверждает, что основная значимость данных маркеров состоит в том, что их определение позволит судить об эффективности проводимой терапии [330].

Щелочная фосфатаза (ЩФ) – фермент, в состав активного центра которого входит цинк, повышающий активность ЩФ [281]. Несмотря на то, что щелочная фосфатаза содержится во всех тканях организма, преимущественно ее относят к костным маркерам остеобластов [152]. Свое действие щелочная фосфатаза осуществляет за счет действия 1,25-диоксихолекальциферола в процессах созревания костного матрикса и его действующей минерализации [223]. Из литературных данных известно, что

увеличение активности ЩФ наблюдается при повышении метаболизма костной ткани при заживлении переломов [87, 242], а также при опухолях костной ткани, метастазах рака в кости, рахите, саркоме [271], о снижении синтетической деятельности остеобластов и замедлении процессов костеобразования при остеопорозе, а также прежде всего о редком врождённом заболевании гипофосфатазия, при котором нарушается минерализация костей и зубов [392]. Таким образом, определение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови является показателем костеобразования [46].

Остеокальцин (ОК) – неколагеновый белок костной ткани. Синтезируется зрелыми остеобластами, отражает метаболическую активность остеобластов. Увеличение костного обмена сопровождается высоким уровнем остеокальцина, а при снижении костеобразования – снижается содержание его в крови [331].

К маркерам резорбции костной ткани относятся: α , β -CrossLaps, пиридинолин (PYD), деоксипиридинолин (DYP) и кислая фосфатаза.

CrossLaps – продукт деградации коллагена I типа. CrossLaps- β в сыворотке крови и моче позволяет оценить темпы деградации кости и является наиболее чувствительным показателем резорбции костной ткани [39, 98]. CrossLaps- α – позволяет оценить в крови темпы деградации недавно сформировавшейся кости [287]. С помощью исследования концентрации CrossLaps можно оценить эффективность терапии [94].

Деоксипиридинолин (ДПИД, DYP) и пиридинолин (PYD, ПИД) – компоненты коллагеновых «сшивок». [176]. При резорбции остеокластами из кости в сосудистое русло происходит выход ДПИД и ПИД. В норме данные маркеры в костной ткани содержатся в соотношении 4:1 [9].

Сертакова А.В. и соавт. (2014) исследовали содержание пиридинолина, белка-CrossLaps в сыворотке крови детей с разными стадиями остеонекроза головки бедра. Исследования показали, что у детей наблюдается высокий уровень биомаркеров костной резорбции. Также по исследованию сыворотки

крови VEGF и FGF наблюдалась повышенная концентрация данных факторов, что, по мнению авторов, свидетельствует о расстройстве гиподинамике на уровне микроциркуляторного русла [137].

Кислая фосфатаза (КФ) – лизосомальный фермент, присутствует в костной ткани, предстательной железе, тромбоцитах, эритроцитах и селезенке [150]. Резорбция костной ткани осуществляется за счет остеокластов, которые могут перемещаться в тканевой жидкости и мононуклеарных клеток. Эндоплазматическая сеть в цитоплазме остеокластов синтезирует тартратрезистентную кислую фосфатазу (ТрКФ). Высокая активность ТрКФ свидетельствует об усилении процессов разрушения костной ткани, в том числе и при онкологических заболеваниях в кости [82]. У условно здоровых активность ТрКФ в плазме практически не определяется, т.к. ее активность в плазме зависит от присутствия ингибиторов данного фермента [64].

К.М. Cadigan (1997) считает, что на метаболизм костной ткани влияет белок регуляции остеокластогенеза – Dickkopf-1 (DKK-1) [212]. DKK-1 – протеин, известен как сигнальная молекула, выделенная при формировании свода черепа в процессе эмбрионального развития. Повышение концентрации DKK-1 приводит к дисбалансу между остеобластами и остеокластами в пользу остеокластов, таким образом, увеличивая резорбцию костной ткани [348].

Электролиты – положительно или отрицательно заряженные ионы, которые находятся в жидкостях всего организма. Катион натрия (Na^+), хлориды (Cl^-) и бикарбонаты (HCO_3^-) – внеклеточные ионы, катион калия (K^+), катиона (Mg^{2+}), белки и фосфаты – внутриклеточные компоненты [67].

Магний (Mg^{2+}) – около 60–65 % содержится в скелете. Катион магния с фосфатами образует кристаллы, участвующие в росте и стабилизации гидроксиапатита [40, 204]. Магний регулирует секрецию паратгормона (ПТГ), стимулирует действие кальцитонина. Дефицит магния в соотношении $\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$ свидетельствует о торможении обменных процессов в кости [90,

193]. При избытке магния в соотношении Mg^{2+}/Ca^{2+} приводит к потере костной массы у пожилых людей [343].

Натрий (Na^+) – является основным катионом во внеклеточной жидкости, участвует в поддержании осмотического давления и Ph крови, а также распределяет воду между внутриклеточным и внеклеточным пространством. Калий (K^+), наоборот, является основным катионом во внутриклеточной жидкости. Небольшие молекулы транспортируются через клеточную мембрану с помощью специальных транспортных белков [342].

Хлорид ионы (Cl^-) – самый распространенный анион в организме человека. Поддерживает Ph баланс, осмотическое давление, задерживает жидкости. J. Leukos в своей работе «Salf, chloride, bleach, and innate host defence» показывает роль анионов хлора в иммунной защите от инфекций, а также в регуляции ионного гомеостаза для оптимальной антимикробной активности сыворотки крови [389].

Кальций (Ca^{2+}) – является важным ионом, необходимым для функций клеточных мембран [40, 240]. Около 99% кальция содержится в костной ткани в виде кристаллов гидроксиапатита, оставшийся 1 % приходится на содержание в сыворотке крови. В сыворотке крови кальций может находиться в трех фазах: кальций ионизированный – не связанный с белками, связанный с белком сыворотки крови и комплекс кальция с другими ионами (в основном анионами) [122, 326]. Парацитовидный гормон и витамин D поддерживают концентрацию кальция в сыворотке крови, а кальцитонин уменьшает его концентрацию и способствует его отложению в костной ткани. При недостатке кальция баланс между костеобразованием и резорбцией снижается [184].

Метаболизм костной ткани тесно связан не только с кальцием, но и с фосфором. Высокое содержание концентрации фосфора в сыворотке крови свидетельствует о разрушении костной ткани, снижении функций парацитовидных желез. При его недостатке наблюдается снижение соматотропного гормона (СТГ), недостаток витамина D.

В *таблице 7* представлены нормальные значения содержания электролитов в сыворотке крови.

Таблица 7 – Нормативные значения содержания электролитов в сыворотке крови

Электролит	Значения, ммоль/л
Na ⁺	136 – 145
K ⁺	3,6 – 5,5
CL ⁻	97 – 108
Mg ²⁺	0,8 – 1,0
Ca (общий)	2,02 – 2,60
Фосфаты	0,87 – 1,45

1.5 – Изменение содержания факторов роста и маркеров костной ткани в крови здоровых людей в различные возрастные периоды

По результатам многочисленных исследований факторы роста играют существенную роль в регуляции процессов, протекающих с самых ранних стадий [76].

З.С. Крымшокова (2009) в своей работе «Оптимизация диагностики и патогенетической терапии задержки роста плода» провела сравнение беременных женщин в различные периоды развития плода и не беременных. Ей удалось показать, что у беременных женщин факторы роста VEGF, EGF, TGF превышали значения не беременных, а концентрация эпидермального фактора была практически в 10 раз больше. Автор показала, что на протяжении первых трех триместров беременности уровень рецептора Svegfr1 был стабилен и находился на одном пределе. При этом уровень IGF-1 повышался от I до III триместра беременности [76]

Т.В. Тарабина (2010) при исследовании женщин с нормальным течением беременности показала, что факторы роста IGF-1 и VEGF в сыворотке крови у матери увеличиваются. С развитием плаценты и сосудистой стенки матки ИПФР-1 увеличивался практически в 3 раза, а

эндотелиальный фактор почти в 5 раз. Ближе к сроку рождения уровень ИПФР снижался, оставаясь при этом высоким, а концентрация VEGF снижалась. Автор утверждает, что это связано со снижением процессов ангиогенеза, ростом планеты и самого плода. Тарабина, также как и Крымшокова показала, что уровень Svegf-R1 на протяжении беременности остается стабильным, предполагая, что уровень данного рецептора изменяется только при развитии патологического процесса [149].

В литературе описано, что уровень маркера формирования костной ткани – ОК в крови у беременных женщин снижается в первых двух триместрах, с последующим увеличением его в третьем триместре. Несмотря на это, уровень ЩФ, напротив, увеличивается от первого до третьего триместров [174]. Описаны и данные по содержанию в крови маркера резорбции – КФ, показано, что активность данного фермента увеличивается только на третьем триместре беременности [198].

При изучении IGF-1 было выявлено, что концентрация его медленно растёт от года до 6 лет. При этом обнаружена разница концентрации данного фактора у мальчиков и девочек. У мальчиков концентрация ИПФР-1 была ниже, чем у девочек, в 6 месяцев [397].

Испанские исследователи провели изучение концентрации IGF-1 и ОК у детей в возрасте от 0 до 14 лет. Им удалось установить, что концентрация IGF-1 и ОК отличаются в период полового созревания. Также авторы утверждают, что пол не влияет на изменение уровней ОК и ИПФР-1 [232].

Показано, что активность щелочной фосфатазы с возрастом снижается. При этом в период полового созревания наблюдается максимум активности ЩФ [290].

Группой авторов удалось выявить закономерность течения маркеров остеогенеза в зависимости от возраста детей. Была проанализирована сыворотка крови детей в возрасте от 7 до 18 лет. Авторы выяснили, что чем старше становится ребенок, тем ниже становится концентрация КФ и ОК [347].

При достижении половой зрелости показано, что уровень ИПФР-1 достигает максимальных значений [374].

Обнаружено, что в детском возрасте в моче очень высокие уровни маркеров резорбции костной ткани. При постижении половой зрелости обнаружен максимум концентрации маркеров резорбции, после 14-ти лет уровень уменьшается [203, 359].

Kerstin Landin-Wilhelmsen с соавт. (2004) проанализировали уровень ИПФР-1 в сыворотке крови здоровых мужчин и женщин, в возрасте от 25 до 64 лет. Концентрация IGF-I уменьшалась с возрастом, как у мужчин, так и у женщин. IGF-I был выше у молодых женщин по сравнению с молодыми мужчинами [286].

Loffredo (2013) выделяет факторы роста «молодости», к которым относятся представители трансформирующих факторов роста. Автор утверждает, что содержание ТФР с возрастом уменьшается [296].

Б.И. Кузник с соавт. (2017) высказали предложение, что факторы роста фибробластов являются факторами «старения», однако при определённых условиях могут влиять на факторы FGF, тем самым препятствуя старению [81].

Известно, что снижение активности системы гормон роста / инсулинподобный фактор роста является биологическим маркером задержки старения [191, 195]. Установлено, что в старческом возрасте снижается уровень инсулинподобного связывающего белка – IGFBP-3, однако повышается уровень в крови IGFBP-1, IGFBP-2 и IGFBP-4 [255]. Недич О. с соавт. (2018) исследовали сыворотку крови людей среднего возраста (30–60 лет) и пожилых (61–90 лет). Им удалось показать, что концентрация IGFBP-1 и IGFBP-2 повышена в крови пожилых людей по сравнению с людьми среднего возраста [102].

Предполагают, что на уровень маркеров резорбции у пожилых людей влияет физическая активность. Показано, что при увеличении физической

нагрузки снижается уровень маркеров резорбции костной ткани, таких как: CrossLaps, КФ и ПИД [276, 391, 395].

В научной литературе существует два противоположных мнения о содержании VEGF у пожилых людей (60 лет) при физических нагрузках. Некоторые исследователи считают, что после занятия спортом у пожилых людей увеличивается уровень VEGF, другие же авторы утверждают, что физическая нагрузка у пожилых людей никак не влияет на уровень эндотелиального фактора роста [361].

Обнаружено, что с возрастом у пожилых людей уменьшается уровень TGF- β [327].

В литературе описаны данные, что ОК, кортизол, ПТГ и ионизированный кальций у здоровых людей и у больных остеопорозом одинаковый. Таким образом, авторы утверждают, что данные маркеры не пригодны для диагностирования остеопороза [316].

На сегодняшний день в англоязычной и русскоязычной литературе отводится огромная роль исследованию факторов роста и маркеров остеогенеза в крови людей. Однако большая часть работ посвящена исследованию факторов роста и маркеров у больных людей. В научной литературе приводятся сравнения различных факторов роста при двух и более близких между собой патологиях. Недостаточно четко разграничен возраст больных людей. В основном, исследования сыворотки крови проведены либо у беременных женщин, детей и людей пожилого возраста. В связи с этим, было решено провести исследования сыворотки крови условно здоровых, предварительно разделив их по возрастным группам, а также проанализировать содержание факторов роста и маркеров костной ткани в крови не только в разные возрастные периоды, но и с учетом пола здоровых людей.

1.6 – Некоторые наследственные формы патологий опорно-двигательной системы

В настоящее время нарастает «генетический» груз в популяции. Все больше мутаций приводят к наследственным заболеваниям костно-мышечной системы [128]. По данным М.Б. Мирской и А.Н. Коломенской (2009) болезни костно-мышечной системы занимают третье место после заболеваний дыхательной и пищеварительной системы [92].

Несовершенный остеогенез (НО, МКБ-10:Q78.0) – наследственное заболевание, характеризующееся высокой ломкостью костей [91, 342]. Распространённость в различных странах мира от 1 на 500000 новорожденных [104]. Выделяют две формы: ранняя (врожденная, болезнь Вролика) и поздняя (болезнь Лобштейна) [173]. Ранняя форма НО встречается редко – во внутриутробном развитии, во время родов или в первые дни жизни, как правило, дети погибают [123]. Поздняя форма встречается, примерно, так: 1 случай на 12000 (14000) детей, и характеризуется патологическими переломами, которые возникают в период хождения ребенка [261]. Причиной данного состояния является мутация гена Col AI и AII, которая приводит к недостаточности количества коллагена, либо к его ухудшению, вследствие чего возникают «ломкие», «хрупкие» кости [157, 264]. По типу наследования НО разделяют на: аутосомно-доминантный тип, который передается только от одного из родителей, или аутосомно-рецессивный тип, который передается от обоих родителей, имеющих мутированный ген, но нет самого заболевания [97, 245]. Исходя из вышеперечисленного, выделяют восемь типов несовершенного остеогенеза.

1 тип (легкая форма) – тип наследования аутосомно-доминантный, мутация гена нулевого COLIAI аллель; коллаген вырабатывается в недостаточном количестве. Вследствие недостатка коллагена кости легко ломаются после рождения, происходит обесцвечивание склер (голубовато-карий цвет), у некоторых детей наблюдается потеря слуха [21, 173].

2 тип (тяжелая форма, «летальный перинатальный») – наследуется по аутосомно-рецессивному признаку, мутации генов COL1A1 и COL1A2; наблюдается нехватка коллагена и нарушается его структура. Характеризуется нарушением развития скелета, низким ростом, недоразвитием легких, летальным исходом [21, 144].

3 тип (прогрессирующий) – наследуется по аутосомно-рецессивному признаку, у носителей происходит мутация гена COL1A1, COL1A2; коллаген «плохого» качества. Симптомы развиваются от момента рождения до подросткового возраста (кости «ломкие», низкий рост, искривление позвоночника, обесцвечивание склер, потеря волос, проблемы с дыханием) [88].

4 тип (деформирующий) – тип наследования аутосомно-доминантный, мутации гена COL1A1, COL1A2; коллаген в достаточном количестве, но невысокого качества. Развивается преждевременный остеопороз, но нарушения костной ткани минимальны [72, 307].

5 тип – тип наследования аутосомно-доминантный, характерны костные разрастания (псевдосаркомы) в местах переломов, кальциноз [129].

6 тип – неизвестный тип наследования, отличительной чертой является «чешуйчатый» вид кости [125].

7 тип – тип наследования аутосомно-рецессивный, мутация гена CRTAP, по симптоматике похож на 2 тип НО, вплоть до летального исхода, но исключением является: маленькая голова, белые склеры. Особенностью является мутация хрящевой ткани [18].

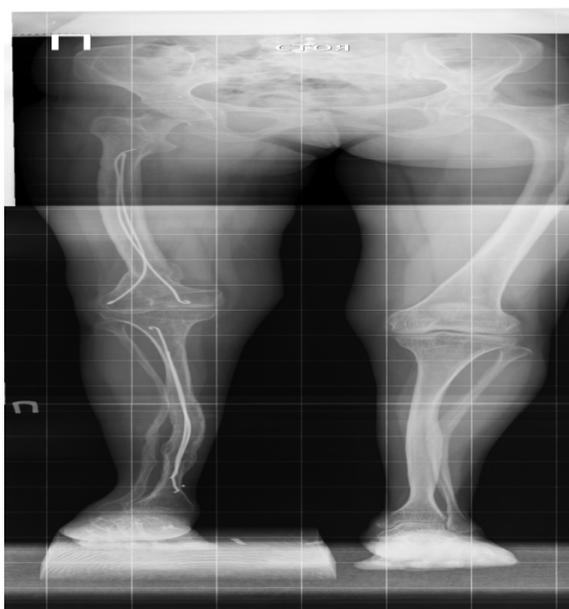
8 тип – тип наследования аутосомно-рецессивный, мутация гена LEPRE1. Характеризуется белыми склерами, приводит к летальному исходу [35, 307].

На *рисунках 1, 2* представлен образ пациентов с НО.



**Рисунок 1 – Фотография до хирургического лечения пациента К.,
возраст 32 г. Диагноз: несовершенный остеогенез.**

*Примечание: фотография предоставлена травматологом-ортопедом
отделения № 17 ФГБУ «РНЦ «ВТО» им.акад. Г.А. Илизарова» МЗ РФ, д.м.н.
Попковым А.В., отделения № 17*



**Рисунок 2 – Рентгенограмма до лечения пациента К., 32 г. Диагноз:
несовершенный остеогенез.**

*Примечание: фотография предоставлена травматологом – ортопедом,
отделения № 17 ФГБУ «РНЦ «ВТО» им.акад. Г.А. Илизарова» МЗ РФ, д.м.н.
Попковым А.В.*

Врожденный ложный сустав (врожденный псевдоартроз, ВЛС, МКБ: M84.1; M96.0) – патологическое состояние костной ткани, которое проявляется нарушением непрерывности трубчатой кости и неравносностью длины конечностей. Заболевание достаточно редкое, встречается 1 на 150000

– 200000 новорожденных [292]. К признакам, характеризующим ВЛС, можно отнести: истощение мышц, отсутствие пропорций части тела [25]. Ряд исследователей выделили три основные группы возникновения ВЛС: нейрофиброматоз I типа; миелодисплазия; фиброзная дисплазия [153, 258, 322, 388]. По данным литературы преобладает мнение, что у 50–60 % больных ВЛС связан с нейрофиброматозом 1 типа [185, 233, 321]. По данным мультиспиральной компьютерной томографии и гистологическим исследованиям выявлено, что в зоне псевдоартроза изменяется архитектура кости [95]. На *рисунках 3, 4* представлен образ пациента с ВЛС.



Рисунок 3 – Фотография до лечения пациента М., 18 лет. Диагноз: врожденный ложный сустав левой голени, нейрофиброматоз I типа.

Примечание: фотография пациента предоставлена врачом травматологом-ортопедом отделения №10 ФГБУ «РНЦ «ВТО» им.акад. Г.А. Илизарова» МЗ РФ, Котельниковым А.О.



Рисунок 4 – Рентгенограмма до лечения пациента М., 18 лет.

Диагноз: врожденный ложный сустав левой голени, неврофиброматоз I типа.

Примечание: фотография пациента предоставлена врачом травматологом-ортопедом отделения №10 ФГБУ «РНЦ «ВТО» им.акад. Г.А. Илизарова» МЗ РФ, Котельниковым А.О.

Фосфат-диабет (ФД, витамин D-резистентный (гипофосфатемический) рахит) (МКБ 10 E 83.3) – наследственное заболевание, связанное с нарушением фосфорно-кальциевого обмена, а также с нарушениями метаболизма витамина D [25, 145, 265]. Частота встречаемости – 1:200000 новорожденных [96]. Новиков П.В. утверждает, что у больных с рахитоподобным заболеванием изменяется морфологическая картина костной ткани [6, 107]. Выделяют несколько клинико-биологических вариантов рахитоподобного заболевания:

I тип – содержание неорганического фосфата в крови повышено;

II тип – усиливается всасывание (реадсорбция) фосфатов в кишечнике и почках, не сцеплен с X-хромосомой и является аутосомно-доминантным;

III тип – усилена реадсорбция в кишечнике, является аутосомно-рецессивным (витамин D-зависимый рахит);

IV тип – усилена чувствительность к витамину D [332, 364].

Первые проявления фосфат-диабета наблюдаются уже в раннем возрасте: низкий рост, варусная деформация нижних конечностей, гипофосфатемия и гиперфосфатурия, иногда аномалия зубов [26, 27, 28]. На рисунках 5, 6 представлен образ пациента с ФД.



Рисунок 5 – Фотография до лечения пациента М., 22 года. Диагноз: фосфат-диабет.

Примечание: фотография пациента предоставлена врачом травматологом-ортопедом отделения №10 ФГБУ «РНЦ «ВТО» им.акад. Г.А. Илизарова» МЗ РФ Котельниковым А.О.

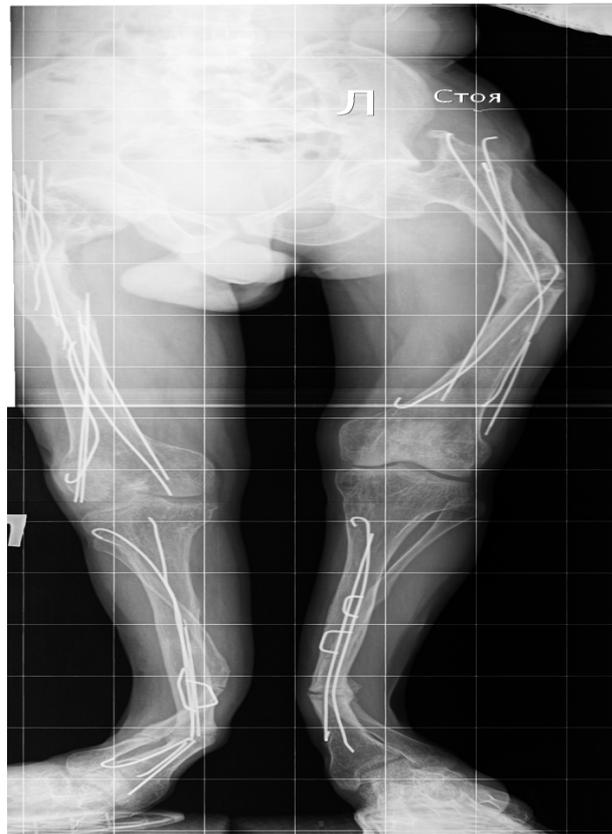


Рисунок 6 – Рентгенограмма до лечения пациента М., 22 года.

Диагноз: фосфат-диабет.

Примечание: фотография пациента предоставлена врачом травматологом-ортопедом отделения №10 ФГБУ «РНЦ «ВТО» им.акад. Г.А. Илизарова» МЗ РФ Котельниковым А.О.

Таким образом, фосфат-диабет, несовершенный остеогенез и врожденный ложный сустав являются наследственными, системными, редкими патологиями. Данные патологии характеризуются нарушениями процессов костного ремоделирования, патогенетические механизмы которого до сих пор не выявлены, вследствие чего ортопедическое лечение в ряде случаев оказывается малоэффективным [25].

Поскольку процесс костного ремоделирования проходит под контролем местных и системных факторов роста, исследование роли факторов роста и маркеров костного ремоделирования особенно актуально для определения закономерности изменений, происходящих в костной ткани, при лечении пациентов с системными патологиями.

1.7 – Современные методы коррекции состояний, связанных с поражением костной ткани

Существуют ортопедические методы лечения пациентов с поражениями костной ткани, например, с применением внешних фиксаторов (остеосинтез аппаратом Илизарова) [243, 244], интрамедуллярного остеосинтеза [282, 283, 375] или их сочетание [228, 321]. Однако хирургическое вмешательство не устраняет патогенетических причин поражения костной ткани, в связи с этим, все чаще используют различные фармакологические препараты, в том числе на основе гормонов и факторов роста.

На сегодняшний день применяется в различных областях медицины. Первыми в области применения факторов роста, как фармакологических препаратов, были исследователи из США. В 1994 г. исследователи фирмы «Smith&Nephew» разработали препарат «Regranex», который состоял из тромбоцитарного фактора роста и коллагенового геля. Данный препарат применялся при лечении диабетических язв [357]. В настоящее время местную терапию факторами роста применяют и при лечении выпадения волос. Группа исследователей первого Московского государственного медицинского университета им. И.П. Сеченова изобрели препарат – «Селенцин», который на I этапе подавляет действие VEGF и активность 5-альфа-редуктазы, за счет действующего вещества Anageline. На II этапе происходит стимуляция микроциркуляции волосяного покрова за счет активного ингредиента Seveov, вследствие чего происходит стимуляция роста волос. «Селенцин» прошел, клинические исследования и может применяться при лечении выпадения волос [77, 78].

Существует ряд клинических испытаний, при которых применение факторов роста дали положительный эффект. Исследования проводили на

крысах с повреждением большеберцовой кости. Применение аутологичных факторов роста улучшило сократительную способность мышц. [376].

Впервые фирма «Arthrex АСР» применила метод – активированной тромбоцитами плазмы крови (двойного шприца), содержащей тромбоциты. При активации тромбоцитов происходит высвобождение факторов роста (фактор роста гепатоцитов (HGF) и трансформирующий ростовой фактор-бета 1 (TGF- β 1)). Факторы роста обеспечивают синергию, участвуют в процессах регенерации и репарации различных тканей [187, 202, 207, 227, 325, 336].

На сегодняшний день в травматологии и ортопедии активно применяется PRP-терапия (плазма, обогащённая тромбоцитами) факторами роста, в частности, тромбоцитарным, который в свою очередь помогает ускорить процесс заживления тканей, а также трансформирующими (β 1, β 2) и васкулярноэндотелиальными факторами роста. Данную терапию применяли при оскольчатых переломах костей, не срастающихся переломах, разрывах и воспалении мышечной ткани. Суть метода заключается в заборе аутологичной венозной крови, ее градиентном центрифугировании и введении реципиентам в зону повреждения, где тромбоциты и факторы роста поступают к месту повреждения, начиная активироваться и способствовать процессу регенерации тканей [177].

Бартов М.С. (2012) с группой исследователей запатентовали уникальную технологию получения рекомбинантных белков BMP-2 и BMP-7. Белки наносят на основу, состоящую из синтетического нанокристаллического гидроксиапатита и очищенного коллагена I типа, которые выполняют роль матрицы, заполняющие костные дефекты [117]. Эффективность данных рекомбинантных белков была доказана при лечении пациентов с ложными суставами, при несращении, открытых и инфицированных переломах, создание спондилодеза и артродеза.

Имплантат rhBMP-7 был также использован при лечении больных с ложным псевдоартрозом и несращениями большеберцовой кости, при этом консолидация (сращение) была достигнута у 92 % больных [374].

Ряд авторов показали терапевтическую активность препаратов на основе моноклональных антител к рецептору VEGF-R1 [202]. Другие исследователи утверждают, что терапевтическая активность данного препарата не оправдывает надежд, т.к. VEGF-R1 будет блокировать Svegfr-R1, который является важным фактором ангиогенеза [219].

В настоящее время разрешен к использованию препарат «Терипаратид» на основе рекомбинантного человеческого паратиреоидного гормона. Данный препарат стимулирует костную массу для ее увеличения при остеопорозе женщин, находящихся в постменопаузе [86].

Однако существует недостаток данного препарата, его можно применить только на протяжении 2-х лет. В связи с этим, Шон Моррисон и соавт. из Техасского детского медицинского исследовательского института (CRI) провели исследования на самках мышей с удаленными яичниками для имитации остеопороза пожилого возраста. Самкам 1 группы вводили фактор роста – остеолектин, а второй группе – терипаратид. Остеолектин – протеин, вырабатываемый костным мозгом и клетками костной ткани. Ряд авторов установил, что у самок после введения фактора роста увеличивалась костная масса и уходили вспять изменения, вызванные остеопорозом [115]. Было установлено, что эффективность данного протеина не хуже имеющегося терипаратида.

Фармакологическое использование факторами роста на сегодняшний день применяется крайне редко, т.к. многие факторы и их влияние еще мало изучены, их действие при определенных патологических процессах не ясно. Нет четкого понимания изменения сывороточных и тканевых концентраций факторов роста у здоровых людей разного возраста и у людей с различными изменениями в обмене и ремоделировании костной ткани.

Кроме того, на сегодняшний день существует проблема нормативных показателей факторов роста у условно здоровых в различные возрастные периоды. Необходимость в нормативных показателях заключается в возможности сравнивать концентрации факторов роста и БАВ у здоровых людей и людей с изменением ремоделирования костной ткани для выбора оптимальной методики коррекции данных изменений.

ГЛАВА 2 – МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 – Объект исследования

Работа выполнена на базе лаборатории биохимии ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России.

На проведение исследований получено разрешение комитета по этике при ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова».

Объектом исследования послужили 180 условно здоровых лиц (УЗЛ) в возрасте от 1 года до 44 лет. На сегодняшний день существует огромное количество классификаций человеческого возраста, также они несколько различаются по отраслям науки (педиатрия, психология и прочие). Взрослых людей разделили на возрастные группы согласно «Возрастной периодизации» [23]. Детский возраст был нами разбит на периоды с помощью возрастной периодизации Гундобина Н.П. (1906); Чтецова В.П., Никитюка Б.А. (1990); Березуких М.М., Сонькина В.Д., Фарбер Д.А. (2002) [3, 186]. Их распределение по полу и возрасту представлено в *таблице 8*.

Таблица 8 – Распределение условно здоровых лиц по группам

Период	Пол	Возраст, годы	Распределение условно здоровых лиц
Ранний возраст	Мальчики	1-3	12
	Девочки		11
Дошкольный	Мальчики	3-7	10
	Девочки		11
Младший школьный	Мальчики	8-12	19
	Девочки	7-11	21
Старший школьный	Мальчики	13-17	23
	Девочки	12-16	19
Переходный	Юноши	18-24	8
	Девушки	17-24	13
Ранний взрослый	Мужчины	25-44	15
	Женщины		18

Биологическим материалом для иммуноферментных исследования у условно здоровых лиц послужила сыворотка крови. Кровь из вены собирали утром на голодный желудок. Сыворотку от клеток отделяли центрифугированием (ЦЛ 1/3) в течение получаса с частотой вращения 1500 об/мин. Сыворотку крови в тот же день замораживали при температуре – 70°С до проведения исследования.

Согласно критерию включения в группу проходящих исследования были внесены: лица в возрасте от 1 до 44 лет с нормальной функцией экскреторных органов. Оценку здоровья контрольной группы оценивали терапевты ГБУ Курганской областной детской клинической больницы им. Красного креста, а также терапевты ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова».

В исследование не включали лиц с аллергическими и соматическими, психоневрологическими заболеваниями, беременных женщин, тучных, истощенных; людей, имеющих злокачественные новообразования, туберкулез, хронические и инфекционные заболевания.

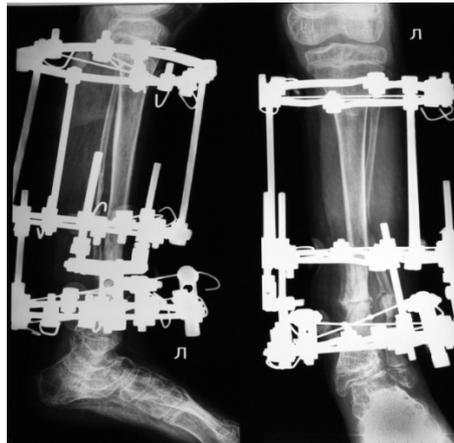
Все пациенты и родители детей, участвующие в исследовании, подписали информированное согласие на публикацию результатов исследований без идентификации личности и на забор крови для проведения данного исследования, если количество крови, взятое для работы, укладывается в количество, необходимое для обычных биохимических исследований.

Распределение больных с патологиями в возрасте от 1 до 44 лет представлены в *таблице 9*.

Таблица 9 – Распределение больных по патологиям

Патология	Общее количество больных	Распределение больных по половому признаку
Фосфат-диабет	27 больных	Муж: 12
		Жен: 15
Врожденный ложный сустав	12 больных	Муж: 6
		Жен: 6
Несовершенный остеогенез	7 больных	Муж: 1
		Жен: 6

По этиопатогенезу ВЛС были представлены нейрофиброматозом I типа. Хирургическое вмешательство осуществляли по методике Masquelet. Она основана на концепции «биологической» мембраны, которая возникает после применения цементной прокладки на первом этапе и действует как «камера» для введения невазуляризированного аутотрансплантата на второй стадии. На втором этапе использовали внешние фиксаторы и технику академика Г.А. Илизарова, в сочетании с интрамедуллярными стержнями [302, 335]. Таким образом, хирургическое вмешательство у пациентов с ВЛС осуществляли в два этапа: на первом этапе осуществляли резекцию поражённой кости зоны псевдоартроза и заполнение дефекта костным цементом; на втором этапе проводилось замещение дефектов по Г.А. Илизарову. Вид пациента с ВЛС после операции представлен на *рисунке 7*.



**Рисунок 7 – Рентгенограмма после операции пациента М., 18 лет.
 Диагноз: врожденный ложный сустав левой голени, нейрофиброматоз I
 типа.**

Примечание: фотография пациента предоставлена врачом травматологом-ортопедом отделения №10 ФГБУ «РНЦ «ВТО» им.акад. Г.А. Илизарова» МЗ РФ Котельниковым А.О.

Хирургическое вмешательство у пациентов с фосфат-диабетом заключалось в остеотомии, с последующим остеосинтезом аппаратом Илизарова. Вид пациента после операции представлен на *рисунке 8*.

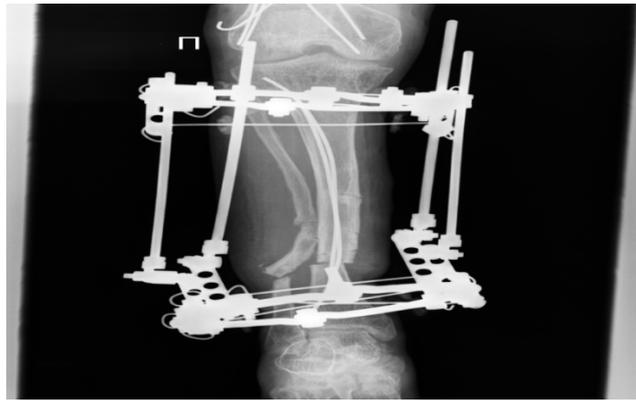


Рисунок 8 – Рентгенограмма после операции пациента М., 22 года.

Диагноз: фосфат-диабет.

Примечание: фотография пациента предоставлена врачом травматологом-ортопедом отделения №10 ФГБУ «РНЦ «ВТО» им.акад. Г.А. Илизарова» МЗ РФ Котельниковым А.О.

Пациентам с несовершенным остеогенезом проводили корригирующую остеотомию, остеосинтез – аппаратом Илизарова, дополнительно применяли интрамедуллярное армирование спицами с биоактивным покрытием гидроксиапатита. Вид пациента после операции представлен на *рисунке 9*.

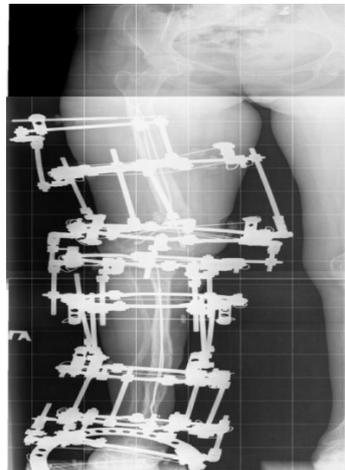


Рисунок 9 – Рентгенограмма после операции пациента К., 32 г. Диагноз: несовершенный остеогенез.

Примечание: фотография предоставлена травматологом-ортопедом, отделения № 17 ФГБУ «РНЦ «ВТО» им.акад. Г.А. Илизарова» МЗ РФ, д.м.н. Попковым А.В.

Материалами для биохимического и иммуноферментного исследования послужила сыворотка крови и суточная моча больных. Сыворотку крови

собирали из вены, избегая при этом гемолиза. Забор венозной крови и суточной мочи у пациентов осуществляли до оперативного вмешательства, в процессе distraction и на этапе фиксации.

Венепункцию осуществляли утром, натощак, в вакуумный приемник. Из венозной крови готовили сыворотку обычным методом (инкубация при комнатной температуре 30 мин, центрифугирование (ЦЛ 1/3) при частоте вращения 1500 об/мин). Полученную сыворотку исследовали в тот же день, либо хранили в морозильной камере при $t = -70^{\circ}\text{C}$ до начала проведения анализа.

2.2 – Биохимические методы исследования

Активность щелочной и кислой фосфатаз, концентрацию кальция, магния в сыворотке крови и суточной моче определяли на автоматическом биохимическом анализаторе Hitachi/ВМ 902 (Япония), используя наборы реагентов фирмы «Vital Diagnostics Spb» (Россия).

Активность ЩФ определяли реакцией с п-нитрофенилфосфатом, который при действии на щелочную фосфатазу сыворотки превращался в п-нитрофенол, имеющий желтую окраску. Данный метод является референсным. Активности КФ определяли реакцией 1-нафтилфосфата, при действии которого на кислую фосфатазу сыворотке крови образовывался 1-нафтол. При действии на него тартрата натрия получали азокраситель, количество которого пропорционально активности фермента. С целью повышения информативности рассчитывали индекс фосфатаз [42].

$$\text{ИФ} = \text{ЩФ}/\text{КФ}, \quad (1)$$

где ИФ – индекс фосфатаз;

ЩФ – активность щелочной фосфатазы, е/л;

КФ – активность кислой фосфатазы, е/л.

Определение концентрации кальция в сыворотке крови и суточной мочи проводили с использованием колориметрического метода с о-

крезолфталеинкомплексом, который с кальцием в щелочной среде дает окрашенный комплекс, интенсивность окраски которой можно измерить. Концентрацию магния в сыворотке крови определяли колориметрическим методом без депротеинизации. Ионы магния с ксилитидиловым синим в щелочной среде дают окрашенный комплекс, интенсивность которого можно измерить.

Концентрацию неорганического фосфора в сыворотке крови определяли на автоматическом анализаторе Hitachi/ВМ 902 (Япония), используя наборы реагентов фирмы «Vital Diagnostics Spb». В растворе серной кислоты образуется неорганический фосфор. При взаимодействии его с молибдатом аммония – фосфомолибдатный комплекс, интенсивность которого можно измерить. Определение ионов натрия, хлора и калия проводили ион селективным методом.

С целью повышения информативности показателей электролитного обмена рассчитывали системный индекс электролитов: [42].

$$\text{СИЭ} = C_{\text{Ca}^{2+}} * C_{\text{Mg}^{2+}} * C_{\text{Cl}^{-}} / C_{\text{PO}_4^{3-}}, \quad (2)$$

где, СИЭ – системный индекс электролитов;

$C_{\text{Ca}^{2+}}$ - концентрация ионов кальция, ммоль/л;

$C_{\text{Mg}^{2+}}$ - концентрация ионов магния, ммоль/л;

$C_{\text{Cl}^{-}}$ - концентрация хлорид- ион, ммоль/л;

$C_{\text{PO}_4^{3-}}$ - концентрация фосфат-ионов, ммоль/л.

С целью выявления свидетельства о торможении обменных процессов было рассчитано соотношение концентрация ионов магния к концентрации ионов кальция [90, 193].

$$C_{\text{Mg}^{2+}} / C_{\text{Ca}^{2+}}, \quad (3)$$

где, $C_{\text{Mg}^{2+}}$ - концентрация ионов магния, ммоль/л;

$C_{\text{Ca}^{2+}}$ - концентрация ионов кальция, ммоль/л.

2.3 – Иммунохимические методы исследования сыворотки крови

Определение ростовых факторов проводили на комплексе оборудования фирмы Thermofisher (США): детектор Multiscan FC, встряхиватель Shaker-401, автоматический промыватель планшет WellWash. Для измерения концентрации факторов в сыворотки крови использовали наборы для иммуноферментного анализа (ИФА). Краткая характеристика наборов приведена в *таблице 10*.

Таблица 10 – Краткая характеристика наборов

Название фактора	Фирма	Диапазон измерений, единицы измерения	Разведение сыворотки крови	Общее время анализа
IGF-1	Immunodiagnostic systems (США)	0,012 – 0,627 мг/л	1:1	3ч 30мин
IGF-2	Mediagnost (Германия)	До 2,4 нг/мл	1:201	2ч 00мин
VEGF	Invitrogen Corporation (США)	Нет данных нг/мл	1:2	4ч 00 мин
VEGF-R2	eBioscience Platinum	7,104 – 30,861 нг/мл	1:50	3 ч 30 мин
VEGF-A	eBioscience Platinum	Nd – 0,0426 нг/мл	1:2	4ч 30 мин
VEGF-R3	eBioscience Platinum	33 – 167 нг/мл	1:20	3ч 30 мин
FGF-basic	R&D Systems (США)	Nd, пг/мл	1:1	4ч 30мин
TGF-β1	eBioscience (США)	4,639 – 14,757 нг/мл	1:30	4ч 30мин
TGF-β2	eBioscience (США)	Нет данных, нг/мл	1:50	5ч 45мин
TGF-α	R&D Systems (США)	Nd – 32 пг/мл	1:1	4ч 30 мин
N-Mid-Osteocalcin	Immunodiagnostic systems (США)	0,5 – 200 нг/мл	1:1	2ч 15мин
SCF	R&D Systems (США)	558 – 1441 пг/мл	1:1	4ч 20 мин
SCF Sr/c	R&D Systems (США)	11,9 – 39,8 нг/мл 1100 – 3900 пг/мл	1:1	4ч 20 мин
Serum CrossLaps	Immunodiagnostic	0,460 – 0,668 пг/мл	1:1	2ч 10 мин
Serum PYD	QULDEL	(25 – 55 лет) 1,090 – 2,792 нмоль/л	1:1	20 ч 10 мин

Примечание: Nd – недетектируемые значения

Используемые наборы относятся к неконкурентному формату ИФА, разновидностью которого является «сэндвич»-метод. К носителю с иммобилизованными антителами добавляют раствор, содержащий анализируемый антиген. В процессе инкубации на твердой фазе образуется комплекс антиген-антитело. Затем носитель отмывают от несвязавшихся компонентов и добавляют меченые ферментом специфические антитела. Ферментативная реакция (цветная реакция) проходит в присутствии субстрата (триметилбензидин), представленного неокрашенным соединением, которое в процессе реакции с промежуточным «слоем» стрептавидина окисляется до окрашенного продукта на заключительном этапе проведения исследования. Интенсивность окрашивания зависит от количества выявленных специфических антител. Результат оценивали спектрофотометрически при длине волны 450 нм [55, 69, 151].

2.4 – Статистические методы обработки результатов

Результаты исследований обработаны методом вариационной статистики, применяемым для малых выборок с принятием уровня значимости $p \leq 0,05$. Достоверность различий между двумя несвязанными выборками определяли по W-критерию Вилкоксона, Данна и Манна-Уитни для независимых выборок [33, 51, 148]. При статистической обработке результатов исследования был использован интеграторный модуль Atte Stat 1.0 для программы Microsoft Excel, разработанный И.П. Гайдышевым в лаборатории информационно-вычислительного центра РНЦ «ВТО» им. академика Г.А. Илизарова [31, 32].

ГЛАВА 3 – ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ МОЛЕКУЛ И ФАКТОРОВ РОСТА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ЛИЦ

В связи с тем, что в научной литературе не существует нормативных данных о содержании факторов роста и их рецепторов в зависимости от возраста и пола, нами было проведено исследование контрольной группы, в которую вошли 180 условно здоровых детей и взрослых. Распределение людей по возрастам осуществляли согласно рекомендации ВОЗ [23].

3.1 – Исследование содержания факторов роста и их рецепторов в сыворотке крови условно здоровых лиц

Значение концентрации фактора роста IGF-1 в сыворотке крови УЗЛ во все возрастные периоды существенно не отличалось по половому признаку. Значения IGF-1 в возрастные периоды: ранний → дошкольный возраст; младший школьный → старший школьный; старший → переходный школьный, достоверно отличались (таблица 11).

Таблица 11 – Концентрация фактора роста IGF – 1и IGF-2 в сыворотке крови условно здоровых лиц разных возрастных периодах

Период	Пол	Возраст, года	IGF-1, мг/л		IGF-2, нг/мл	
			Квартиль 25 –квартиль 75	Медиана	Квартиль 25 – квартал 75	Медиана
Ранний возраст	М	1-3	3,28# (2,62 – 3,31)		0,63 (0,51 – 0,75)	
	Ж	1-3	2,16# (1,59 – 2,69)		0,77 (0,67 – 0,85)	
Дошкольный	М	3-7	2,68 (2,40- 3,72)		0,73 (0,51 – 0,78)	
	Ж	3-7	4,91 (3,58 – 6,39)		0,74 (0,71 – 0,82)	
Младший школьный	М	8-12	6,22# (5,53 – 1,19)		0,73 (0,67 – 0,77)	
	Ж	7-11	6,78# (5,29 – 9,29)		1,01 (0,63 – 1,17)	
Старший школьный	М	13-17	9,02# (8,33 – 9,66)		0,73 (0,65 – 0,89)	
	Ж	12-16	9,36# (5,35 – 1,34)		0,65 (0,63 – 0,70)	
Переходный	М	18-24	5,09# (4,66 – 6,31)		0,66 (0,64 – 0,70)	
	Ж	17-24	5,05# (4,33 – 6,67)		0,66 (0,61 – 0,78)	
Ранний взрослый	М	25-44	3,90 (3,66 – 5,44)		0,76 (0,65 – 0,80)	
	Ж	25-44	3,15 (3,09 – 4,33)		0,78 (0,64 – 0,83)	

Примечание: * различия достоверны, при $p \leq 0,05$ между мужским и женским полом (по критерию Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна); # различия достоверны, при $p \leq 0,05$ между возрастными периодами в порядке увеличения (по критерию Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна). М – мужской пол, Ж – женский пол. Жирным отмечены значения, достоверно отличающиеся по половому и возрастному признаку.

В сыворотке крови группы условно здоровых мы не обнаружили существенных отличий концентрации IGF-2 как по возрастному, так и по половому признаку (таблица 11).

При исследовании концентрации васкулярноэндотелиального фактора роста (VEGF) в сыворотке крови не было выявлено достоверных отличий в ранний, дошкольный, младший школьный и старший школьный периоды. Достоверные отличия были выявлены между переходным периодом и ранним взрослым периодах. Нами были выявлены достоверные отличия в ранний взрослый период (25–44 лет) у мужчин и женщин. Причем, концентрация VEGF у женщин была в 1,6 раз выше концентрации фактора роста у мужчин (таблица 12).

Таблица 12 – Концентрация факторов роста VEGF и VEGF-A в сыворотке крови условно здоровых лиц разных возрастных периодах

Период	Пол	Возраст, годы	VEGF, нг/мл		VEGF-A, нг/мл	
			Медиана	Квартиль 25 – квартиль 75	Медиана	Квартиль 25 – квартиль 75
Ранний возраст	М	1-3	0,07	0,06 – 0,61	0,33#	0,23 – 0,66
	Ж	1-3	1,20	0,65 – 1,75	0,23#	0,24 – 0,25
Дошкольный	М	3-7	0,31	0,24 – 0,37	0,12\$	0,12 – 0,13
	Ж	3-7	0,15	0,16 – 0,17	0,11	0,09 – 0,18
Младший школьный	М	8-12	0,21	0,20 – 0,23	0,22	0,14 – 0,24
	Ж	7-11	0,18	0,12 – 0,24	0,06\$	0,05 – 0,06
Старший школьный	М	13-17	0,14	0,09 – 0,25	0,12	0,08 – 0,22
	Ж	12-16	0,15	0,08 – 0,25	0,25	0,09 – 0,46
Переходный	М	18-24	0,28#	0,24 – 0,32	0,24	0,13 – 0,34
	Ж	17-24	0,29#	0,27 – 0,32	0,21	0,10 – 0,31
Ранний взрослый	М	25-44	0,13*	0,13 – 0,13	0,27\$	0,25 – 0,40
	Ж	25-44	0,22	0,17 – 0,30	0,33	0,27 – 0,39

Примечание: * различия достоверны, при $p \leq 0,05$ между мужским и женским полом (по критерию Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна); # различия достоверны, при $p \leq 0,05$ между возрастными периодами в порядке увеличения (по критерию Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна). М – мужской пол, Ж – женский пол. Жирным отмечены значения, достоверно отличающиеся по половому и возрастному признаку. \$ - различия достоверны при $p \leq 0,05$ между фактором роста VEGF и VEGF-A

Существует ряд авторов, которые считают, что VEGF и VEGF-A – это один и тот же фактор роста, другие авторы полагают, что это два разных фактора, относящиеся к одному семейству [82]. Из приведённой нами таблицы видно, что значения концентраций VEGF-A и VEGF отличаются (таблица 12). При исследовании концентрации VEGF-A не обнаружены достоверные отличия по возрастному признаку в младший и старший школьный, переходный и ранний взрослый периоды. Отмечены достоверные отличия по возрастному признаку между группами: ранний возраст → дошкольный. Значение концентрации фактора роста VEGF-A в сыворотке крови условно здоровых лиц не имело отличий по половому признаку (таблица 12).

Исследование сывороточной концентрации рецептора VEGF-R2 не выявило достоверных возрастных отличий. Концентрация рецептора VEGF-R2 в ранний возраст у мальчиков в 5,4 раза (17,01 нг/мл) превышала концентрацию у девочек, которая составила 3,15 нг/мл (таблица 13).

Таблица 13 – Концентрация рецептора VEGF-R2 и VEGF-R3 в сыворотке крови условно здоровых лиц разных возрастных периодах

Период	Пол	Возраст, годы	VEGF-R2, нг/мл Медиана, Квартиль 25 – квартал 75	VEGF-R3, нг/мл Медиана, Квартиль 25 – квартал 75
Ранний возраст	М	1-3	17,01* (13,45 – 18,52)	107,86# (87,05 – 166,84)
	Ж	1-3	3,15 (24,27 – 28,65)	152,67# (146,01 – 214,94)
Дошкольный	М	3-7	13,78 (10,58 – 14,91)	56,54 (34,99 – 131,22)
	Ж	3-7	11,83 (10,02 – 15,94)	88,06 (69,91 – 113,34)
Младший школьный	М	8-12	10,82 (9,27 – 13,72)	122,79 (110,72 – 135,95)
	Ж	7-11	10,54 (8,29 – 17,48)	131,69 (124,07 – 140,57)
Старший школьный	М	13-17	13,47 (10,34 – 17,94)	95,91 (86,77 – 122,29)
	Ж	12-16	8,96 (6,35 – 15,15)	108,11 (93,49 – 174,39)
Переходный	М	18-24	10,26 (8,72 – 15,15)	115,90 (78,82 – 134,02)
	Ж	17-24	13,61 (11,16 – 15,23)	99,11 (94,69 – 102,44)
Ранний взрослый	М	25-44	10,39 (6,69 – 18,85)	78,16 (69,09 – 87,98)
	Ж	25-44	28,56 (22,90 – 34,23)	119,99 (80,69 – 123,91)

Примечание: * различия достоверны, при $p \leq 0,05$ между мужским и женским полом (по критерию Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна); # различия достоверны, при $p \leq 0,05$ между возрастными периодами в порядке увеличения (по критерию Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна). М – мужской пол, Ж – женский пол. Жирным отмечены значения, достоверно отличающиеся по половому и возрастному признаку.

Изучение концентрации рецептора VEGF-R3 не выявило существенных возрастных отличий в периоды: младший, старший школьный, переходный и ранний взрослый. Значение концентрации рецептора VEGF-R3 в сыворотке крови УЗЛ отличалось только по возрастному признаку в ранний и дошкольный возраст (таблица 13).

Значение концентрации фактора роста FGF-basic в сыворотке крови УЗЛ разных возрастных периодов не имело каких-либо статистических отличий (таблица 14).

Таблица 14 – Концентрация фактора роста FGF-basic в сыворотке крови условно здоровых лиц разных возрастных периодах

Период	Пол	Возраст, годы	Медиана, пг/мл Квартиль 25 – квартал 75
Ранний возраст	М	1-3	15,73 (12,15 – 32,06)
	Ж	1-3	16,76 (15,19 – 24,19)
Дошкольный	М	3-7	15,86 (12,83 – 18,88)
	Ж	3-7	9,98 (9,46 – 10,49)
Младший школьный	М	8-12	7,35 (3,02 – 17,55)
	Ж	7-11	8,48 (7,15 – 10,26)
Старший школьный	М	13-17	8,94 (4,61 – 11,19)
	Ж	12-16	9,01 (4,59 – 20,46)
Переходный	М	18-24	7,45 (4,41 – 9,42)
	Ж	17-24	4,67 (4,67 – 4,67)
Ранний взрослый	М	25-44	4,31 (1,42 – 7,37)
	Ж	25-44	5,16 (2,78 – 7,54)

*Примечание: * различия достоверны, при $p \leq 0,05$ между мужским и женским полом (по критерию Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна); # различия достоверны, при $p \leq 0,05$ между возрастными периодами в порядке увеличения (по критерию Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна). М – мужской пол, Ж – женский пол. Жирным отмечены значения, достоверно отличающиеся по половому и возрастному признаку.*

Значение концентрации трансформирующего фактора роста (TGF- β 1) в крови условно здоровых разных возрастных групп не имело достоверных отличий (таблица 15). В дошкольном периоде концентрация этого фактора роста у девочек была ниже предела обнаружения (4,639 нг/мл). Исследование концентрации TGF- β 2 не выявило статистических отличий в переходном и раннем взрослом периоде. Концентрация в крови детей для фактора роста TGF- β 2 отличалась в периоды: ранний возраст → дошкольный; дошкольный школьный → младший; младший школьный → старший школьный (таблица 15). У мальчиков и девочек отмечены достоверные отличия по половому признаку в ранний возраст. Причем, концентрация у мальчиков составила 7,06 нг/мл, а у девочек – 4,44 нг/мл (таблица 15).

Таблица 15 – Концентрация фактора роста TGF-β1 и TGF-β2 в сыворотке крови условно здоровых лиц разных возрастных периодах

Период	Пол	Возраст, годы	TGF-β1, нг/мл		TGF-β2, нг/мл	
			Медиана	Квартиль 25 – квартал 75	Медиана	Квартиль 25 – квартал 75
Ранний возраст	М	1-3	31,48	26,78 – 41,35	7,06*#	6,43 – 7,68
	Ж	1-3	19,06	16,43 – 20,49	4,44#	4,30 – 4,58
Дошкольный	М	3-7	21,42	17,56 – 25,27	7,98#	7,71 – 8,41
	Ж	3-7	Ниже 4,639		7,45#	5,92 – 8,99
Младший школьный	М	8-12	29,05	24,48 – 31,24	5,29#	4,52 – 5,54
	Ж	7-11	20,93	18,87 – 27,71	6,93#	4,89 – 7,64
Старший школьный	М	13-17	31,86	23,75 – 36,95	6,84	6,44 – 7,89
	Ж	12-16	25,91	20,48 – 29,69	6,85	5,21 – 7,43
Переходный	М	18-24	24,51	11,17 – 37,89	7,49	6,62 – 8,78
	Ж	17-24	23,82	16,26 – 26,58	6,55	5,41 – 8,32
Ранний взрослый	М	25-44	32,93	16,29 – 44,96	5,16	3,81 – 7,06
	Ж	25-44	18,08	13,34 – 23,00	7,81	7,01 – 8,85

*Примечание: * различия достоверны, при $p \leq 0,05$ между мужским и женским полом (по критерию Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна); # различия достоверны, при $p \leq 0,05$ между возрастными периодами в порядке увеличения (по критерию Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна). М – мужской пол, Ж – женский пол. Жирным отмечены значения, достоверно отличающиеся по половому и возрастному признаку.*

Сывороточная концентрация для фактора роста TGF-α в возрастные периоды: старший школьный, переходный и ранний взрослый – не отличалась. В периоды ранний возраст → дошкольный, дошкольный → младший установлены достоверные отличия сывороточной концентрации TGF-α. Концентрация фактора роста TGF-α у УЗЛ в старший школьный период у мальчиков в 3,7 раз превышала такую концентрацию у девочек (таблица 16).

Таблица 16 – Концентрация фактора роста TGF- α в сыворотке крови условно здоровых лиц разных возрастных периодах

Период	Пол	Возраст, годы	Медиана, пг/мл Квартиль 25 – квартал 75
Ранний возраст	М	1-3	13,81# (12,25 – 19,06)
	Ж	1-3	18,76# (17,29 – 20,22)
Дошкольный	М	3-7	17,49# (16,50 – 20,44)
	Ж	3-7	25,84# (25,48 – 26,21)
Младший школьный	М	8-12	14,69 (12,15 – 15,98)
	Ж	7-11	15,91 (12,58 – 20,83)
Старший школьный	М	13-17	33,61* (15,24 – 45,06)
	Ж	12-16	9,11 (8,43 – 18,9)
Переходный	М	18-24	16,34 (11,77 – 50,81)
	Ж	17-24	24,96 (17,79 – 39,42)
Ранний взрослый	М	25-44	18,27 (17,78 – 18,70)
	Ж	25 – 44	27,13 (18,79 – 30,09)

*Примечание: * различия достоверны, при $p \leq 0,05$ между мужским и женским полом (по критерию Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна); # различия достоверны, при $p \leq 0,05$ между возрастными периодами в порядке увеличения (по критерию Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна). М – мужской пол, Ж – женский пол. Жирным отмечены значения, достоверно отличающиеся по половому и возрастному признаку.*

При исследовании концентрации SCF не обнаружено возрастных отличий в переходный и ранний взрослый периоды. Достоверные изменения концентрации фактора роста SCF в сыворотке крови происходили в периоды: дошкольный \rightarrow младший, младший школьный \rightarrow старший школьный. Исследование концентрации фактора роста стволовых клеток (SCF) в периоды раннего и переходного возраста, выявило их достоверные различия. Причем, в обоих случаях концентрация фактора роста у мальчиков была выше, чем у девочек (*таблица 17*).

При исследовании рецептора SCF Sr в крови здоровых детей и взрослых не обнаружено отличий в возрастные периоды: младший и старший школьный, переходный и ранний взрослый. В периоды ранний возраст \rightarrow дошкольный наблюдались достоверные различия. Исследование сывороточной концентрации растворимого рецептора SCF Sr показало, что только в раннем взрослом периоде имеются различия в значениях между мужчинами и женщинами (*таблица 17*). Тенденция изменения концентрации возрастных факторов роста SCF и его рецептора SCF Sr одинаковая.

Таблица 17 – Концентрация фактора роста SCF и рецептора SCF Sr в сыворотке крови условно здоровых лиц разных возрастных периодах

Период	Пол	Возраст, годы	SCF, пг/мл Медиана, Квартиль 25 – квартиль 75	SCF Sr, ,пг/мл Медиана, Квартиль 25 – квартиль 75
Ранний возраст	М	1-3	596,88 541,76 – 632,96	10,89# 10,76 – 11,03
	Ж	1-3	708,81 582,489 – 835,14	11,20# 11,20 – 11,20
Дошкольный	М	3-7	841,71*# 816,54 – 899,73	10,18 9,92 – 11,03
	Ж	3-7	731,13# 714,01 – 748,26	10,21 10,21 – 10,21
Младший школьный	М	8-12	571,59# 571,59 – 571,59	13,50 13,34 – 13,67
	Ж	7-11	485,74# 428,33 – 643,96	11,97 11,08 – 12,71
Старший школьный	М	13-17	869,51 788,66 – 943,38	10,39 9,64 – 10,55
	Ж	12-16	753,71 709,96 – 808,80	9,91 9,46 – 11,35
Переходный	М	18-24	893,51* 874,79 – 917,05	11,32 8,26 – 11,84
	Ж	17-24	649,53 461,74 – 673,33	10,57 7,74 – 11,62
Ранний взрослый	М	25-44	773,39 746,21 – 852,052	11,56* 11,00 – 12,12
	Ж	25-44	757,06 699,46 – 814,66	9,63 8,98 – 10,04

*Примечание: * различия достоверны, при $p \leq 0,05$ между мужским и женским полом (по критерию Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна); # различия достоверны, при $p \leq 0,05$ между возрастными периодами в порядке увеличения (по критерию Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна). М – мужской пол, Ж – женский пол. Жирным отмечены значения, достоверно отличающиеся по половому и возрастному признаку.*

3.2 – Исследование содержание маркеров остеогенеза в сыворотке крови условно здоровых лиц

Изучение сывороточной концентрация ОК в раннем возрасте, дошкольном, младшем и старшем школьном не выявило статистических изменений. Значения ОК у УЗЛ в дошкольном, младшем школьном и старшем школьном периоде оказались ниже предела обнаружения 0,5 нг/мл (таблица 18). Концентрация остеокальцина в сыворотке крови взрослых имела достоверные различия в периоды: переходный и ранний взрослый.

Таблица 18 – Концентрация остеокальцина в сыворотке крови условно здоровых лиц разных возрастных периодах

Период	Пол	Возраст, годы	Медиана, нг/мл Квартиль 25 – квартиль 75
Ранний возраст	М	1-3	55,01 (44,91 – 55,01)
	Ж	1-3	36,03 (28,36 – 36,03)
Дошкольный	М	3-7	Ниже 0,5 нг/мл
	Ж	3-7	
Младший школьный	М	8-12	Ниже 0,5 нг/мл
	Ж	7-11	
Старший школьный	М	13-17	Ниже 0,5 нг/мл
	Ж	12-16	
Переходный	М	18-24	29,95# (27,76 – 29,95)
	Ж	17-24	27,73# (24,96 – 30,59)
Ранний взрослый	М	25-44	17,53 (11,19 – 17,53)
	Ж	25-44	10,89 (7,287 – 10,89)

*Примечание: * различия достоверны, при $p \leq 0,05$ между мужским и женским полом (по критерию Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна); # различия достоверны, при $p \leq 0,05$ между возрастными периодами в порядке увеличения (по критерию Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна). М – мужской пол, Ж – женский пол. Жирным отмечены значения, достоверно отличающиеся по половому и возрастному признаку.*

Концентрация CrossLaps в крови УЗЛ раннем возрасте, дошкольном (мальчики), младшем школьном (девочки) и раннем взрослом не имела возрастных отличий. У девочек в старшем школьном возрасте отмечена высокая концентрация CrossLaps, которая составила 1,52 пг/мл, достоверно отличающаяся от концентрации в переходном периоде у девочек. В дошкольном (девочки), младшем школьном (мальчики) и старшем школьном (мальчики) возрасте сывороточная концентрация CrossLaps, была ниже предела обнаружения 0,460 пг/мл (таблица 19).

Таблица 19 – Концентрация CrossLaps в сыворотке крови условно здоровых лиц разных возрастных периодах

Период	Пол	Возраст, годы	Медиана пг/мл Квартиль 25 – квартиль 75
Ранний возраст	М	1-3	0,76 (0,74 – 0,84)
	Ж	1-3	0,84 (0,84 – 0,98)
Дошкольный	М	3-7	0,89 (0,89 – 0,89)
	Ж	3-7	Ниже 0,460
Младший школьный	М	8-12	Ниже 0,460
	Ж	7-11	1,19 (0,54 – 1,57)
Старший школьный	М	13-17	Ниже 0,460
	Ж	12-16	1,52# (1,41 – 1,56)
Переходный	М	18-24	0,92 (0,91 – 0,93)
	Ж	17-24	0,53 (0,47 – 0,58)
Ранний взрослый	М	25-44	0,62 (0,52 – 0,78)
	Ж	25-44	0,44 (0,36 – 0,48)

*Примечание: * различия достоверны, при $p \leq 0,05$ между мужским и женским полом (по критерию Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна); # различия достоверны, при $p \leq 0,05$ между возрастными периодами в порядке увеличения (по критерию Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна). М – мужской пол, Ж – женский пол. Жирным отмечены значения, достоверно отличающиеся по половому и возрастному признаку.*

Достоверных отличий в значениях концентрации пиридинолина в сыворотке крови условно здоровых лиц по половому и возрастному признакам выявлено не было (таблица 20).

Таблица 20 – Концентрация пиридинолина в сыворотке крови условно здоровых лиц разных возрастных периодах

Период	Пол	Возраст, годы	Медиана, нмоль/л Квартиль 25 – квартал 75
Ранний возраст	М	1-3	3,17 (1,68 – 4,65)
	Ж	1-3	8,37 (7,81 – 8,93)
Дошкольный	М	3-7	10,31 (9,49 – 11,12)
	Ж	3-7	6,96 (5,07 – 9,23)
Младший школьный	М	8-12	8,56 (7,70 – 8,92)
	Ж	7-11	10,47 (9,29 – 11,29)
Старший школьный	М	13-17	9,68 (8,74 – 9,84)
	Ж	12-16	6,84 (6,52 – 8,9)
Переходный	М	18-24	7,36 (6,18 – 8,54)
	Ж	17-24	9,11 (8,41 – 9,92)
Ранний взрослый	М	25-44	6,74 (6,53 – 7,33)
	Ж	25-44	7,07 (5,89 – 8,34)

*Примечание: * различия достоверны, при $p \leq 0,05$ между мужским и женским полом (по критерию Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна); # различия достоверны, при $p \leq 0,05$ между возрастными периодами в порядке увеличения (по критерию Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна). М – мужской пол, Ж – женский пол. Жирным отмечены значения, достоверно отличающиеся по половому и возрастному признаку.*

3.3 – Резюме

Исследование факторов роста и регуляторных молекул в сыворотке крови условно здоровых детей и взрослых выявило, что различий в значениях концентрации по половому и возрастному признаку не найдено для PYD, TGF- β 1, FGF-basic, IGF-2. Возрастному изменению подвержены: CrossLaps, остеокальцин, VEGF-R3, VEGF-A, IGF-1. Только по половому признаку отличался рецептор VEGF-R2. В сыворотке крови концентрация факторов роста и их рецепторов отличающиеся как по половому, так и по возрастному признаку были: TGF- β 2, TGF- α , SCF и его рецептор SCF Sr, VEGF.

Список работ, опубликованных по результатам 3-ей главы

1. *Выхованец, Е.П.* Концентрация некоторых остеотропных факторов роста и маркеров остеогенеза в крови соматически здоровых детей и взрослых / *Е.П. Выхованец, С.Н. Лунева, Н.В. Накоскина* // Физиология человека. – 2018. – Т.44, № 6. – С.1-7 (Scopus, РИНЦ- 1,113).

2. *Выхованец, Е.П.* Факторы роста семейства TGF- β в крови больных ахондроплазией на этапах ортопедического лечения / *Е.П. Выхованец, Н.В. Сакулин, С.Н. Лунева, Н.В. Накоскина, О.В. Климов* // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2018. – Т. 62, № 2. – С. 70 – 76 (Scopus, РИНЦ – 0,594).

3. *Выхованец, Е.П.* Содержание факторов роста и маркеров в крови детей и взрослых (справочное пособие) / *Е.П. Выхованец, С.Н. Лунева.* - Beau Bassin (Mauritius): Lap Lambert Academic publishing, 2018. - 53с.

4. *Выхованец, Е.П.* Исследование содержания некоторых факторов роста в сыворотке крови субъективно здоровых людей и людей с врожденными заболеваниями скелета / *Е.П. Выхованец* // Материалы регионального конкурса на лучшую научную работу среди студентов и аспирантов образовательных организаций высшего образования и научных учреждений Курганской области. – Курган, 2017. – С. 32-33.

5. *Выхованец, Е.П.* Исследование содержание некоторых факторов роста в сыворотке крови субъективно-здоровых людей в различные возрастные периоды / *Е.П. Выхованец* // Материалы регионального конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений и научных учреждений Курганской области. Шадринск, 2016. – С. 39.

ГЛАВА 4 – СОДЕРЖАНИЕ ОСТЕОТРОПНЫХ ФАКТОРОВ РОСТА И МАРКЕРОВ ОСТЕОГЕНЕЗА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И МОЧЕ ПАЦИЕНТОВ С ВРОЖДЕННЫМ ЛОЖНЫМ СУСТАВОМ

Нами проанализирована сыворотка крови 12 пациентов с врожденным ложным суставом голени.

4.1 – Содержание остеотропных факторов роста в сыворотке крови и пациентов с врожденным ложным суставом

Сывороточные концентрации факторов роста IGF-1 и IGF-2 у больных с ВЛС до лечения не отличалась от таковых у условно здоровых лиц (рисунки 10).

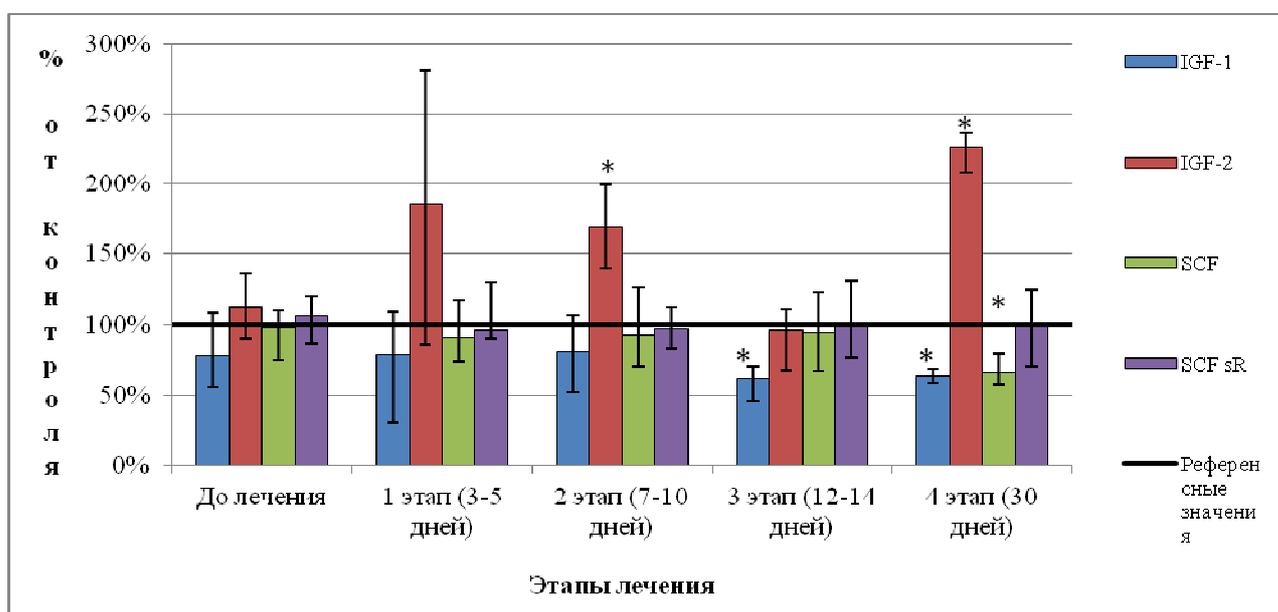


Рисунок 10 – Содержание инсулинподобных факторов роста – 1 и 2 типа и стволового фактора роста и его растворимого рецептора в сыворотке крови пациентов с врожденным ложным суставом голени

Примечание: IGF – 1 – инсулинподобный фактор роста 1 типа; IGF – 2 – инсулинподобный фактор роста 2 типа; SCF – стволовой фактор роста; Sr SCF – растворимый рецептор стволового фактора роста. Обозначение «*» - различия достоверно отличимые при $p \leq 0,05$, от референсных значений по критериям Вилкоксона, Манна-Уитни и Данна; - референсные значения см. таблицы № 11 и №17.

Применение цементного спейсера на первом этапе и введение невааскуляризированных трансплантатов во вторую операционную сессию не вызывало достоверных изменений концентраций IGF-1. Начиная с 12 суток после операции, концентрация IGF-1 снижалась достоверно ($p = 0,00081$) и оставалась таковой вплоть до снятия аппарата Илизарова и окончания лечения.

Значение концентрации фактора роста IGF-2 в крови больных с врожденным псевдоартрозом на 7-10-е сутки и на 30-е сутки после операции превышало значение контрольной группы ($p = 0,00903$ и $p = 0,00394$ соответственно) (*рисунок 10*). Максимум концентрации приходился на 30-е сутки и составил 226 % от контрольных значений.

Значение концентрации SCF в крови больных ВЛС на дооперационном этапе, на 3–5 и 7–10 сутки после операции не отличалось от контроля. К 30-м суткам наблюдалось достоверное снижение значений концентрации данного фактора у пациентов с ВЛС ($p = 0,00907$). Значение концентрации рецептора SCF Sr в сыворотке крови пациентов с врожденным ложным суставом на дооперационном этапе и на этапах ортопедического лечения не отличались от значений, полученных у УЗЛ (*рисунок 10*).

Концентрация фактора TGF- β 1 в сыворотке крови больных ВЛС на дооперационном, 3–5-х и 7–10-х сутках не отличалась от значений контрольной группы. К 12–14 дню после операции значение концентрации резко возросло по сравнению с предыдущим этапом и достигало 192 % от значений, полученных у УЗЛ ($p = 0,04727$) (*рисунок 11*).

Сывороточная концентрация фактора роста TGF- β 2 у пациентов с врожденным псевдоартрозом как на дооперационном этапе, так и на всех этапах ортопедического лечения отличались от значений, полученных у контрольной группы. Максимум концентрации приходился на 30-е сутки после операции и составлял 122 % от контроля ($p = 0,00906$) (*рисунок 11*).

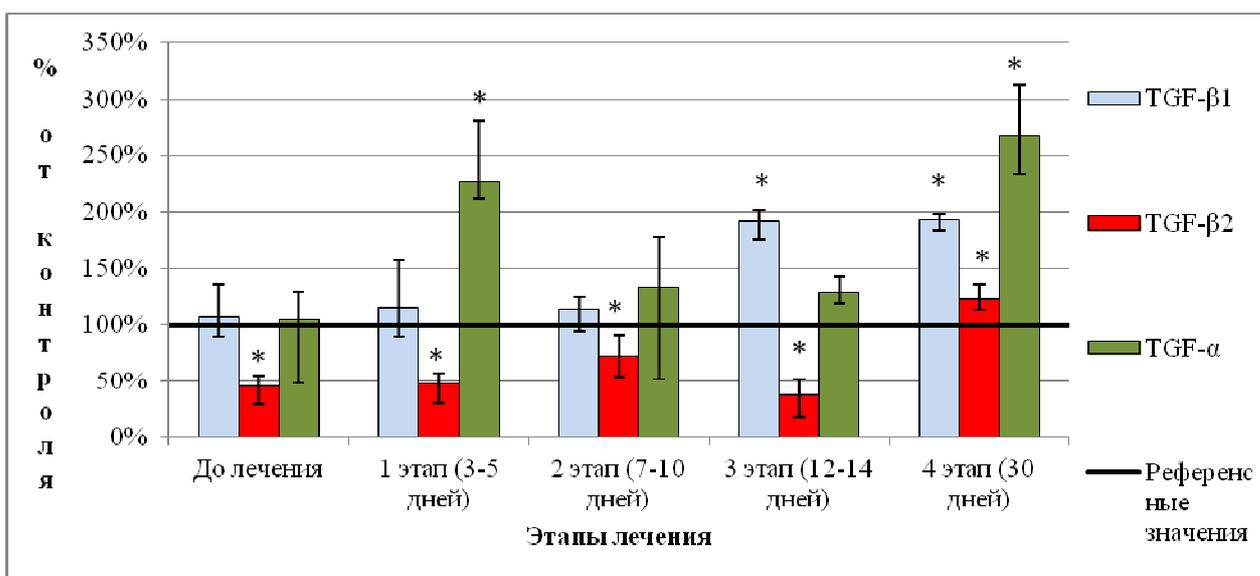


Рисунок 11 – Содержание трансформирующих факторов роста в

сыворотке крови пациентов с врожденным ложным суставом голени

Примечание: TGF – β1 – трансформирующий фактор роста бета – 1; TGF-β2 – трансформирующий фактор роста бета – 2; TGF-α – трансформирующий фактор роста – альфа. Обозначение «» – различия достоверно отличимые при $p \leq 0,05$, от референсных значений по критериям Вилкоксона, Манна-Уитни и Данна; - референсные значения см. таблицы №15 и №16.*

На дооперационном этапе у пациентов с ВЛС значение концентрации фактора роста TGF-α составило 105 % и не отличалось от значений УЗЛ. Однако на 3–5 сутки после операции его концентрация резко возросла и составила 227 % от контроля ($p = 0,00393$). К 7–10 суткам после операции значение концентрации снизилось и к 12–14 суткам составило 128 %, тем не менее, отличаясь от значений контроля. Максимум концентрации приходился на 30-е сутки после операции (268 %). Динамика его концентрации в сыворотке крови напоминала динамику TGF-β2 (рисунок 11).

Концентрация фактора роста VEGF в крови пациентов с ВЛС до лечения соответствовала значениям контрольной группы. И только на 30 сутки после операции концентрация фактора отличалась от контрольных значений и составляла 143 % от референсной ($p = 0,00908$) (рисунок 12).

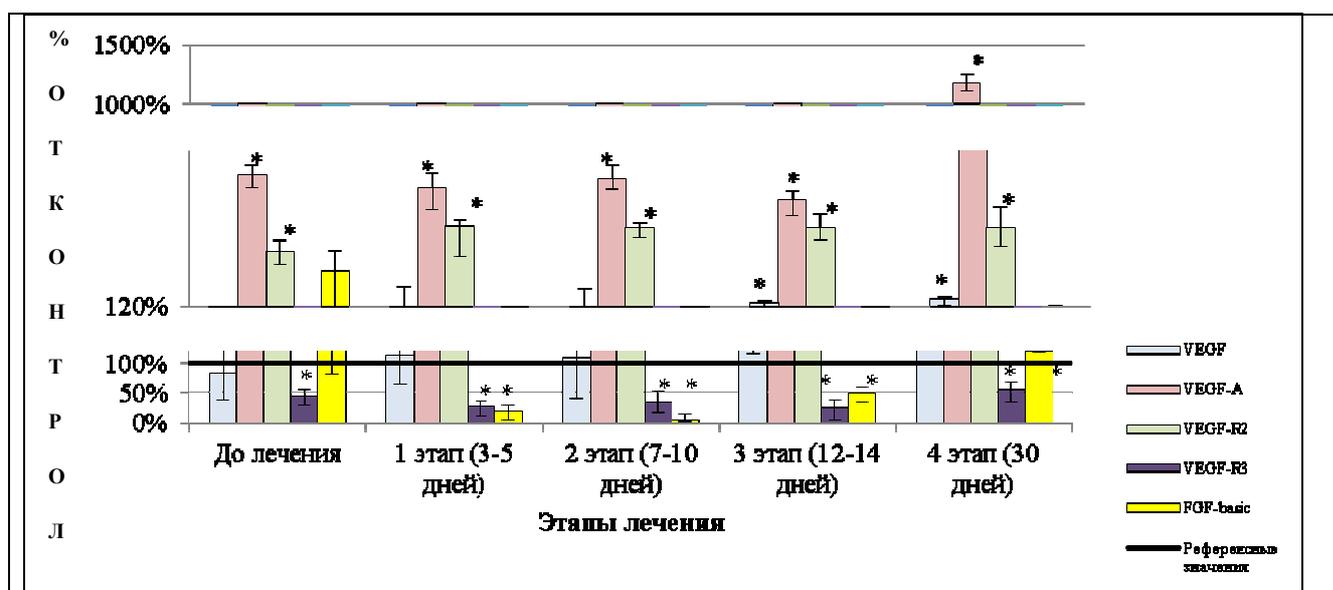


Рисунок 12 – Содержание васкуляроэндотелиальных факторов роста и их рецепторов, а также фактора фибробластов в сыворотке крови пациентов с врожденным ложным суставом голени

Примечание: VEGF – сосудистый фактор роста; VEGF-A – сосудистый фактор роста – А; VEGF-R2 – рецептор васкуляроэндотелиального фактора роста; VEGF-R3 – рецептор васкуляроэндотелиального фактора роста; FGF-basic – фактор роста фибробластов основной. Обозначение «» – различия достоверно отличимые при $p \leq 0,05$, от референсных значений по критериям Вилкоксона, Манна-Уитни и Данна; - референсные значения см. таблицы № 12, №13 и №14.*

Кроме фактора роста VEGF, нами была исследована концентрация фактора VEGF-A. Было установлено, что еще до какого-либо лечения у пациентов с ВЛС концентрация VEGF-A была более чем в 5 раз выше значений контроля. На всех этапах ортопедического лечения концентрации данного фактора роста также были выше значений УЗЛ. Максимум концентрации приходился на 30-е сутки после операции и составлял 1182 % ($p = 0,00392$) (рисунок 12).

Нам удалось установить, что концентрация VEGF-C фактора роста в крови пациентов с ВЛС была ниже 54 пг/мл. Известно, что рецептором, отвечающим за связывание VEGF-C, является рецептор VEGF-R3, сывороточная концентрация которого как на дооперационном этапе, так и на всех этапах ортопедического лечения достоверно отличалась от значений

контрольной группы. Полученные значения концентрации были более чем на 50 % ниже контроля (*рисунок 12*).

При этом концентрация рецептора VEGF-R2, активируемого фактором роста VEGF-C на всех этапах ортопедического лечения была выше значений, определенных у контроля, практически в 1,5 раза. Максимум значений концентрации приходился на 3–5 сутки ($p = 0,00622$; $p = 0,00545$) после операции (367 %), а минимум – на дооперационном этапе (287 %) (*рисунок 12*).

У больных с врожденным псевдоартрозом на дооперационном этапе в сыворотке крови концентрации фактора роста FGF-basic находились в пределах контрольных значений. Необходимо отметить, что значение данного показателя у пациентов с ВЛС имели значительный разброс значений, высокую дисперсию и вариацию, обладая при этом левосторонним сдвигом. Это приводило к тому, что при значении медианы 229 % от контрольной, повышение концентрации фактора роста FGF-basic в крови больных ВЛС было недостоверно ($p = 0,05613$). Ортопедическое лечение приводило к значительному снижению количества фактора роста FGF-basic в крови (более чем в 10 раз) и уменьшению линейного коэффициента вариации. К моменту окончания лечения и снятия аппарата Илизарова медиана составила 120 %, снижался и коэффициент вариации. Подобное уменьшение содержания фактора роста FGF-basic может быть связано с его активным расходом на построение новых сосудов (ангиогенеза) в ходе хондро- и остеогенеза (*рисунок 12*).

В результате проведенных исследований в сыворотке крови пациентов с врожденным ложным суставом голени было показано, что содержание фактора роста SCF и его рецептора SCF Sr, практически не отличаются от значений контрольной группы. Комбинированная ортопедическая реконструкция по методу остеоиндуцирующей мембраны по Masquelet и транспорта кости по Г.А. Илизарову не вызывала значительных отклонений данных показателей в сыворотке крови. Судя по динамике содержания IGF в

крови пациентов, к моменту снятия аппарата завершался процесс активации остеобластов и синтез коллагена, одновременно с этим, начиналась активная перестройка костной ткани.

Наибольшие изменения концентраций обнаружены у представителей семейств: васкуляроэндотелиальных и трансформирующий факторов роста. Анализируя концентрации TGF- β 1 и TGF- β 2, можно предположить, что у пациентов с ВЛС наблюдается дисбаланс сывороточного содержания факторов роста семейства TGF.

4.2 – Исследование содержания маркеров остеогенеза в сыворотке крови и моче пациентов с врожденным ложным суставом голени

Значение концентрации белка – CrossLaps в сыворотке крови пациентов с ВЛС до лечения и на всех этапах ортопедического лечения достоверно отличалось от значений, полученных у референсной группы. До оперативного вмешательства, через 3 и до 10 дней концентрация белка была снижена. На 12–14 сутки после операции происходило более чем 2-х кратное увеличение содержания, как по сравнению с контролем, так и с дооперационным уровнем ($p = 0,01163$; $p = 0,00907$). К моменту завершения лечения был отмечен минимум значений концентрации CrossLaps, который составил 69 % от контрольного уровня (*рисунок 13*).

Значение концентрации пиридинолина, как на дооперационном, так и на этапах ортопедического лечения, не отличалось от значений контрольной группы (*рисунок 13*). Активность КФ у пациентов с ВЛС на дооперационном этапе была выше значений контроля и продолжала расти до 3-5 суток. Далее активность снижалась и к 30-м суткам возвращалась к референсным показателям.

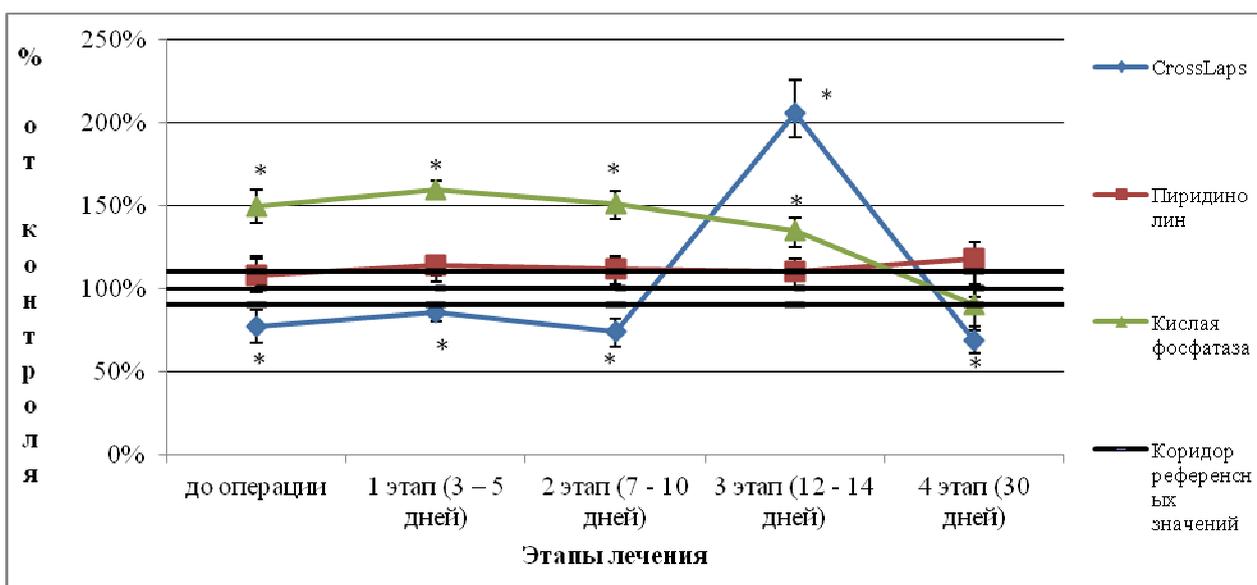


Рисунок 13 – Содержание маркеров резорбции костной ткани в сыворотке крови пациентов с врожденным ложным суставом голени

Примечание: CrossLaps – белок Крослабс. Обозначение «*» – различия достоверно отличимые при $p \leq 0,05$, от референсных значений по критериям Вилкоксона, Манна-Уитни и Данна; - референсные значения см. таблицы № 19 и №20.

Концентрация ОК на дооперационном этапе не отличалась от значений контроля. С 3 и до 10 суток после операции значение концентрации в сыворотке крови пациентов с ВЛС достоверно снижалось ($p=0,00356$) (рисунок 14).

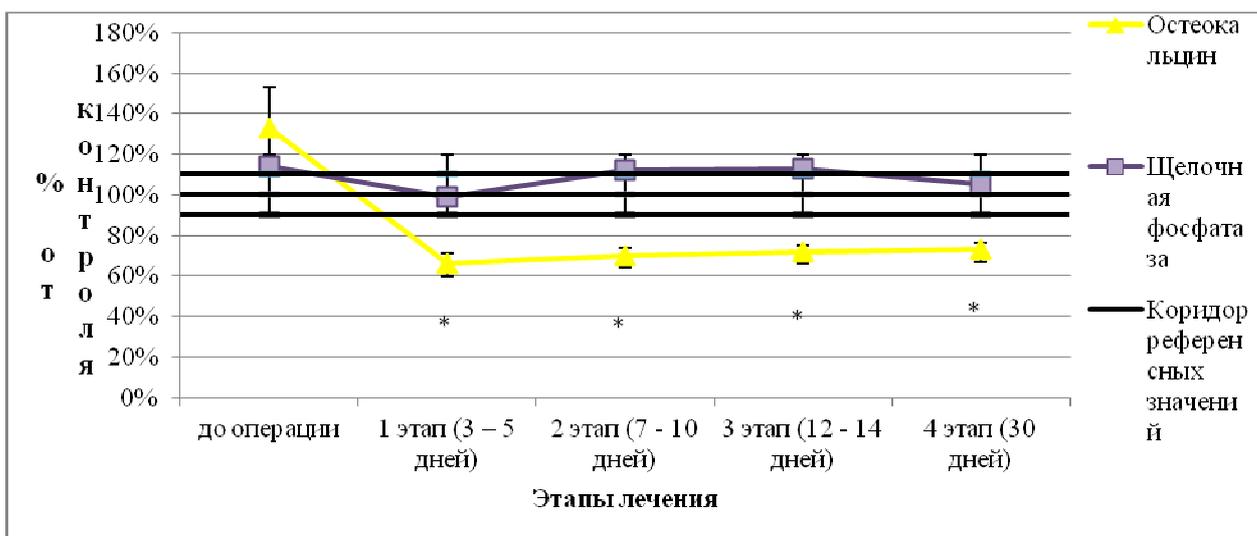


Рисунок 14 – Содержание маркеров костеобразования костной ткани в сыворотке крови пациентов с врожденным ложным суставом голени

Примечание: Обозначение «*» – различия достоверно отличимые при $p \leq 0,05$, от референсных значений по критериям Вилкоксона, Манна-Уитни и Данна; - референсные значения см. таблицу № 18.

Содержание кальция в сыворотке крови у пациентов с ВЛС соответствовало референсным значениям. Концентрация кальция была снижена лишь в конце ортопедического лечения, после снятия аппарата Илизарова, при этом концентрация неорганического фосфора была достоверно выше контроля, как до оперативного вмешательства, так и на протяжении всего периода лечения – это свидетельствует о начале стадии минерализации (*таблица 21*).

Концентрация магния в крови пациентов с ВЛС соответствовала нормативным значениям, некоторое снижение концентрации наблюдалось на 3-5 ($p = 0,02985$) и 30-е сутки ($p = 0,00396$) после операции (*таблица 21*).

Содержание хлоридов в сыворотке крови больных людей на протяжении лечения соответствовало контрольным значениям (*таблица 21*).

Таблица 21 – Биохимические показатели сыворотки крови пациентов с врожденным ложным суставом голени на этапах ортопедического лечения

Биохимический показатель, единицы измерения	Нормативные значения	Референсные значения	До оперативного вмешательства	3-5 сутки после операции	7-10 сутки после операции	12-14 сутки после операции	30 сутки после операции
Кальций, ммоль/л	2,02 – 2,60	2,43	2,43	2,40	2,43	2,48	2,34#
		2,37 – 2,45	2,40 – 2,48	2,24 – 2,49	2,27 – 2,51	2,37 – 2,49	2,31– 2,37
Фосфор неорганический, ммоль/л	0,87 – 1,45	1,24	1,57*	1,41*	1,64 *	1,79*	1,47*
		1,15 – 1,34	1,38 – 1,63	1,26 – 1,63	1,36 – 1,74	1,42 – 2,02	1,44 – 1,68
Магний, ммоль/л	0,8 – 1,0	0,78	0,84	0,79*	0,88	0,80	0,71*#
		0,73 – 0,98	0,78 – 0,89	0,73 – 0,82	0,81 – 0,89	0,72 – 0,85	0,69 – 0,73
Хлор, ммоль/л	97 – 108	104	106	104	108	103	107
		100 – 105	104–108	102 – 107	106 – 109	102 – 104	106 – 108

*Примечание: * – различия достоверны при $p \leq 0,05$ между пациентами с патологией и референсными значениями, по критериям Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна; # – результаты достоверно отличимые при $p \leq 0,05$ между дооперационными и этапами после операции, по критериям Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна. Жирным отмены достоверность различий. Данные в таблице представлены в виде медиан (25 и 75 квартилей)*

С целью повышения информативности показателей электролитов, как маркеров процессов минерального обмена в костной ткани в сыворотке крови, был рассчитан системный индекс электролитов (СИЕ). Значение СИЕ у пациентов с ВЛС до оперативного вмешательства и на протяжении 2-х недель после нее были достоверно ниже референсных значений. К моменту окончания лечения показатель СИЕ приходил в норму и указывал на баланс обмена минералов в костной ткани пациентов (таблица 22).

Таблица 22 – Интегральные индексы оценки обмена костной ткани пациентов с врожденным ложным суставом на этапах ортопедического лечения

Интегральные индексы оценки обмена костной ткани	Референсные значения	До оперативного вмешательства	3–5 сутки после операции	7–10 сутки после операции	12–14 сутки после операции	30 сутки после операции
Системный индекс электролитов (СИЕ)	156,98 146,9-188,8	130,69 115,9 –140,7	117,93# 116,8-126,4	115,63# 106,5-123,1	103,60# 90,2 – 117,4	163,52 158,8-167,5
$C_{Mg^{2+}}/C_{Ca^{2+}}$	0,32 0,31 – 0,40	0,35 0,33 – 0,36	0,33 0,33 – 0,34	0,36 0,36 – 0,36	0,32 0,30 – 0,34	0,30 0,29 – 0,31
Индекс фосфатаз	1,6% 0,57 – 2,8	0,76%	0,62%	0,74%	0,84%	1,17%

*Примечание: * – различия достоверны при $p \leq 0,05$ между пациентами с патологией и референсными значениями, по критериям Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна; # – результаты достоверно отличимые при $p \leq 0,05$ между дооперационными и этапами после операции, по критериям Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна. Жирным отмены достоверность различий. Данные в таблице представлены в виде медиан (25 и 75 квартилей). Значение индекса фосфатаз представлено в процентном отношении от референсных значений.*

Показатель соотношения магния и кальция у пациентов с ВЛС на всех этапах был в пределах референсных значений (таблица 22).

Концентрация кальция в суточной моче больных ВЛС на дооперационном этапе находилась в пределах нормативных значений. После операции на 3–5 сутки в моче концентрация кальция была снижена по

сравнению с дооперационными значениями и продолжала снижаться до 7–10 суток ($p = 0,00296$). К 12–14 суткам концентрация в моче больных возрастала по сравнению с 7–10 днем после операции и продолжила расти до 30-х суток (таблица 23).

Таблица 23 – Биохимические показатели суточной мочи пациентов с врожденным ложным суставом на этапах ортопедического лечения

Биохимический показатель	Кальций, ммоль/сут	Фосфор, ммоль/сут
Значения этапов		
Нормативные значения	2,25 – 4,06	15,96 – 33,3
До оперативного вмешательства	3,54	10,61 *
	1,22 – 8,14	9,09 – 12,13
3–5 сутки после операции	3,15	15,2*
	1,39 – 3,78	7,4 – 20
7–10 сутки после операции	2,52	8,83*
	2,11 – 3,07	6,7 – 12,37
12–14 сутки после операции	2,77	13,05*#
	1,85 – 3,3	11,53 – 17,08
30 сутки после операции	3,53	11,61*#
	3,30 – 3,56	11,58 – 11,65

*Примечание: * – различия достоверны при $p \leq 0,05$ между пациентами с патологией и нормативными значениями, по критериям Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна; # – результаты достоверно отличимые при $p \leq 0,05$ между до операционными и этапами после операции, по критериям Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна. Жирным отмены достоверность различий. Данные в таблице представлены в виде медиан (25 и 75 квартилей)*

Концентрация фосфора в моче больных на дооперационном этапе статистически отличалась от нормативных значений. После хирургического вмешательства к 3–5 дню концентрация была повышена по сравнению с дооперационными значениями и контролем ($p = 0,00234$). Концентрация фосфора начинала падать по сравнению с предыдущем этапом. К 12–14 суткам концентрация была увеличена по сравнению с дооперационными значениями, а также с нормативными значениями ($p = 0,0026$). К 30-м суткам в моче концентрация фосфора снижалась по сравнению с предыдущим этапом и была достоверно отличимой от дооперационных и нормативных значений (таблица 23).

4.3 – Резюме

У пациентов с врожденным ложным суставом голени было обнаружено повышенное содержание КЩ и пониженное содержание другого маркера резорбции костной ткани – CrossLaps. Получена волнообразная картина течения концентрации в сыворотке крови неорганического фосфора. В то время как остальные маркеры остеогенеза и электролиты буферной системы крови находились в пределах референсных значений. Проведенное нами исследование выявило, что при нормальной активности ЩФ наблюдалось увеличение активности КФ. К завершению ортопедического лечения данный показатель приходил к нормальным значениям. Индекс фосфатаз указывал на достоверное преобладание остеосинтетических процессов в костной ткани, что подтверждалось нормализацией значений СИЕ в сыворотке крови пациентов ВЛС.

Нам удалось установить, что концентрация фосфора в суточной моче пациентов с ВЛС на всех этапах лечения имела статистически значимые различия.

Известно, что при репаративном остеогенезе костной ткани происходит постепенная смена стадий восстановления костной ткани. От момента начала нарушения целостности кости до стадии формирования регенерата, должно пройти достаточное количество времени. При этом каждая стадия в норме имеет свои сроки и особенности течения [45, 356].

По результатам нашего исследования было обнаружено, что у пациентов с врожденным ложным суставом голени чередование стадий репаративного остеогенеза не нарушено, однако течение фаз репаративной регенерации замедлено, восстановление костной ткани происходит отсрочено более чем на 2 недели. Высвобождение IGF-2 и TGF- α в сыворотку крови на 3–7 сутки может свидетельствовать о начале острофазовой реакции и начале формирования костной мозоли [57]. На 12–14 сутки после ортопедического вмешательства увеличение содержания TGF- β 1

способствует формированию клеточного пула остеобластов [62]. Затем происходит уменьшение их митотической и пролиферативной активности, о чем свидетельствует уменьшение сывороточной концентрации IGF-1 [57, 62]. В это время в сыворотке крови мы обнаружили повышенное содержание маркеров резорбции костной ткани – CrossLaps, КФ.

Лишь к 30-м суткам завершается процесс резорбции и начинается стадия формирования костного матрикса, что сопровождается увеличением высвобождения факторов роста TGF- α , TGF- β 2 и маркеров перестройки костной ткани [180, 201, 211, 234].

У пациентов с ВЛС весь процесс репаративной регенерации происходит на фоне многократного увеличения содержания ангиогенных факторов роста VEGF и VEGF-A и их рецептора VEGF-R2 в сыворотке крови, не только способствует увеличению васкуляризации костного мозга, но и свидетельствует о патологической активности воспалительных процессов в соединительной ткани [16, 186, 245, 256, 396].

Таким образом, судя по динамике сывороточного содержания факторов роста и маркеров остеогенеза в послеоперационном периоде у пациентов с ВЛС, с сохранением этапности репаративного остеогенеза происходит замедление течения его фаз, что необходимо учитывать при расчете сроков фиксации в аппарате Илизарова.

Список работ, опубликованных по результатам 4-й главы

1. *Выхованец, Е.П.* Вазодилататорный эффект сосудистых факторов роста (VEGF) в условиях формирования костной ткани методом дискретной тракции при врожденной сегментарной патологии / *Е.П. Выхованец, Т.И. Долганова, С.Н. Лунева, Д.Ю. Борзунов* // Гений ортопедии. – 2018. – Т. 24, № 2. – С. 209–215 (Scopus, РИНЦ - 0,311).

2. *Выхованец, Е.П.* Оценка изменения концентрации ряда факторов роста семейства TGF в сыворотке крови на этапах дистракционного остеосинтеза аппаратом Илизарова / *Е.П. Выхованец, Н.В. Сакулин,*

С.Н. Лунева, О.В.Климов // Вестник новых медицинских технологий. – 2017. – Т. 24, № 1. – С. 187–190 (РИНЦ – 0,516).

3. *Выхованец, Е.П.* Показатели минерального обмена в сыворотке крови пациентов с врожденным ложным суставом голени на этапах лечения по методу индуцирующей мембраны / *Е.П. Выхованец, С.Н. Лунева, А.И. Митрофанов* // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 3. – С. 17–18 (РИНЦ – 0,413).

4. *Выхованец, Е.П.* Содержание некоторых маркеров остеогенеза в сыворотке крови людей с заболеваниями опорно-двигательного аппарата / *Е.П. Выхованец, С.Н. Лунева* // X Юбилейная Российская научно-практическая конференция с международным участием: сб. науч. ст. – Казань, 2018. – С. 389–395.

5. *Выхованец, Е.П.* Изучение роли трансформирующих факторов роста при лечении пациентов с врожденными системными заболеваниями скелета / *Е.П. Выхованец, С.Н. Лунева, Н.В. Накоскина, Э.Р. Минзагов, А.В. Попок* // Новые горизонты травматологии и ортопедии: сб. науч. статей, посв. 150-летию со дня рождения Р.Р. Вредена. – Санкт-Петербург, 2017. – С. 58–61.

6. *Выхованец, Е.П.* Значение некоторых биохимических показателей фосфорно-кальциевого обмена в сыворотке крови больных с врожденным псевдоартрозом голени / *Е.П. Выхованец, А.И. Митрофанов, С.Н. Лунева* // Перспективы развития фундаментальных наук: сб. науч. тр. XIII междунар. конф. студентов и молодых ученых. – Томск, 2016. – Т. 4. – С. 27–29.

7. *Vykhovanez, E.P.* Concentration des facteurs de croissance de l'endothélium vasculaire et 73efects73 du réseau microcirculatoire au cours de la substitution des 73efects congénitaux de la jambe par technique de Masquelet / *E.P. Vykhovanez, T.I. Dolganova, S.N. Luneva, D.Y. Borzunov, A.A. Rakhmatulina, E.N. Shchurova* // Livre des résumés. – Paris, 2018. – P. 71-72.

8. Рахматулина, А.А. Изменение некоторых биохимических показателей у больных с высокоэнергетической травмой в процессе лечения методом чрескостного остеосинтеза / А.А. Рахматулина, Н.В. Тушина,

Е.А. Киреева, *Е.П. Выхованец* // Костная патология от теории до практики: Илизаровские чтения: материалы науч.-практ. конф. Курган, 2016. – С.299-300.

9. *Выхованец, Е.П.* Исследование содержание некоторых факторов роста в сыворотке крови субъективно-здоровых людей в различные возрастные периоды / *Е.П. Выхованец* // Материалы регионального конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений и научных учреждений Курганской области. Шадринск, 2016. – С. 40.

10. *Выхованец, Е.П.* Сравнительная характеристика биохимических показателей сыворотки крови больных с фосфат диабетом и врожденным ложным суставом / *Е.П. Выхованец, А.И. Митрофанов, А.В. Попков, Н.В. Тушина, Е.А. Киреева, А.А. Рахматулина* // Илизаровские чтения: материалы науч.-практ. конф. – Курган, 2016. – С. 103-104.

ГЛАВА 5 – СОДЕРЖАНИЕ ОСТЕОТРОПНЫХ ФАКТОРОВ РОСТА И МАРКЕРОВ ОСТЕОГЕНЕЗА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И МОЧЕ ПАЦИЕНТОВ С НЕСОВЕРШЕННЫМ ОСТЕОГЕНЕЗОМ

Нами был проведен анализ сыворотки крови 7 пациентов с несовершенным остеогенезом.

5.1 – Содержание остеотропных факторов роста в сыворотке крови пациентов с несовершенным остеогенезом

Концентрация факторов роста IGF-1 и IGF-2 у пациентов с НО до лечения не отличалась от концентрации УЗЛ (рисунок 15).

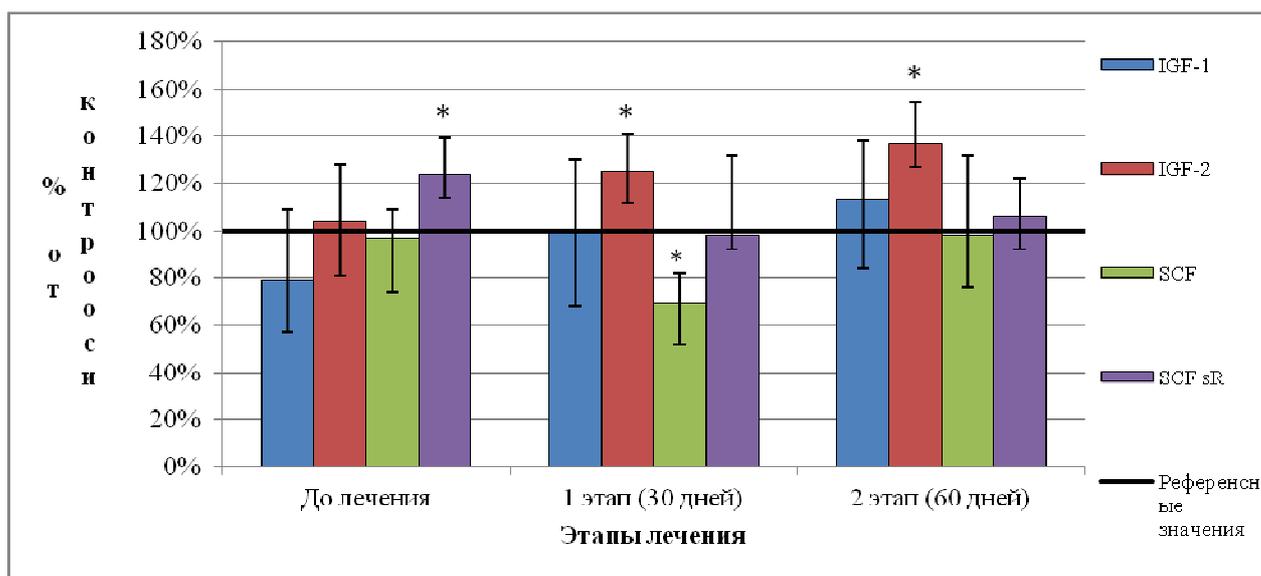


Рисунок 15 – Содержание инсулинподобных факторов роста – 1 и 2 типа и стволового фактора роста и его растворимого рецептора в сыворотке крови пациентов с несовершенным остеогенезом

Примечание: IGF-1 – инсулинподобный фактор роста 1 типа; IGF-2 – инсулинподобный фактор роста 2 типа; SCF – стволовой фактор роста; Sr SCF – растворимый рецептор стволового фактора роста. Обозначение «» – различия достоверно отличимые при $p \leq 0,05$, от референсных значений по критериям Вилкоксона, Манна-Уитни и Данна; - референсные значения см. таблицы № 11 и № 17.*

Применение корригирующей остеотомии с использованием интрамедуллярного армирования спицами не вызвало изменений сывороточных концентрации IGF-1 у пациентов с НО во время и после лечения (*рисунок 15*).

Значение концентрации фактора роста IGF-2 в крови больных на 60-е сутки после операции превышало значение контрольной группы ($p = 0,00833$) (*рисунок 15*).

Концентрация SCF на дооперационном этапе была в пределах контроля. После ортопедического вмешательства к 30-м суткам она снижалась до 69 % от контроля ($p = 0,01837$), но к концу лечения вернулась к референсным значениям. Концентрация растворимого рецептора SCF Sr на дооперационном этапе была выше полученных значений контрольной группы ($p = 0,02939$). В процессе лечения значения рецептора соответствовали референсным (*рисунок 15*).

Сывороточная концентрация TGF- β 1 на дооперационном этапе была выше контрольных значений ($p = 0,03040$). В процессе лечения концентрация данного фактора снижалась, составив к концу лечения 47 % ($p = 0,02491$) от нормальных. В то время как концентрация TGF- β 2 на дооперационном этапе была низкой ($p = 0,03104$), по сравнению с контрольными значениями и после хирургического вмешательства продолжала падать ($p = 0,02491$) (*рисунок 16*).

Сывороточная концентрация TGF- α на дооперационном этапе составила 218 % и достоверно отличалась от значений УЗЛ ($p = 0,04339$). После наложения аппарата Илизарова концентрация данного фактора снижалась и составила на 60-е сутки 138 % от контроля, оставаясь при этом достоверно отличимой ($p = 0,03416$) (*рисунок 16*).

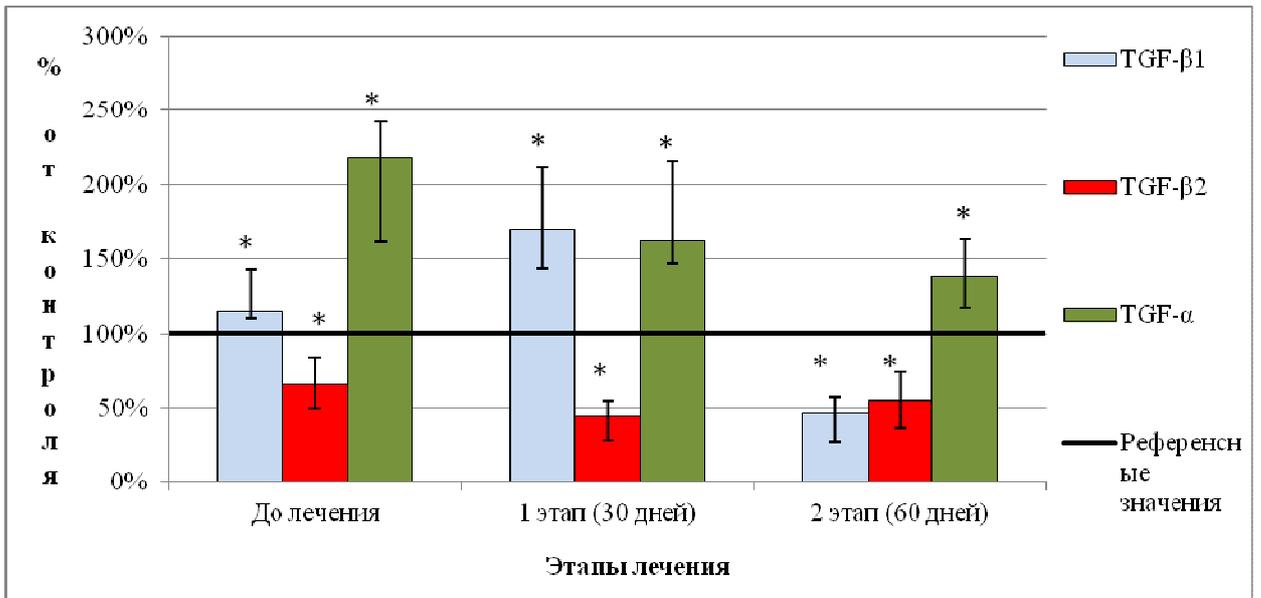


Рисунок16 – Содержание трансформирующих факторов роста в сыворотке крови пациентов с несовершенным остеогенезом

Примечание: TGF-β1 – трансформирующий фактор роста бета – 1; TGF-β2 – трансформирующий фактор роста бета – 2; TGF-α – трансформирующий фактор роста – альфа. Обозначение «» – различия достоверно отличимые при $p \leq 0,05$ от референсных значений по критериям Вилкоксона, Манна-Уитни и Данна; - референсные значения см. таблицы №15 и №16.*

Концентрация фактора роста VEGF в крови пациентов с НО до лечения отличалась от значений контрольной группы ($p = 0,00347$). На 30-е сутки после операции концентрация увеличивалась и составила 267 % от референсной группы ($p = 0,00041$) (рисунок 17).

Концентрация VEGF-C фактора роста в крови больных была ниже 54 пг/мл. Как уже отмечалось ранее, VEGF-C связывается с рецептором VEGF-R3, его сывороточная концентрация как на дооперационном, так и на всех этапах лечения была достоверно ниже значений контрольной группы ($p = 0,00091$). Фактор роста VEGF-C способен активировать рецептор VEGF-R2, концентрация которого на всех этапах ортопедического лечения была выше значений контроля ($p = 0,00057$) (рисунок 17).

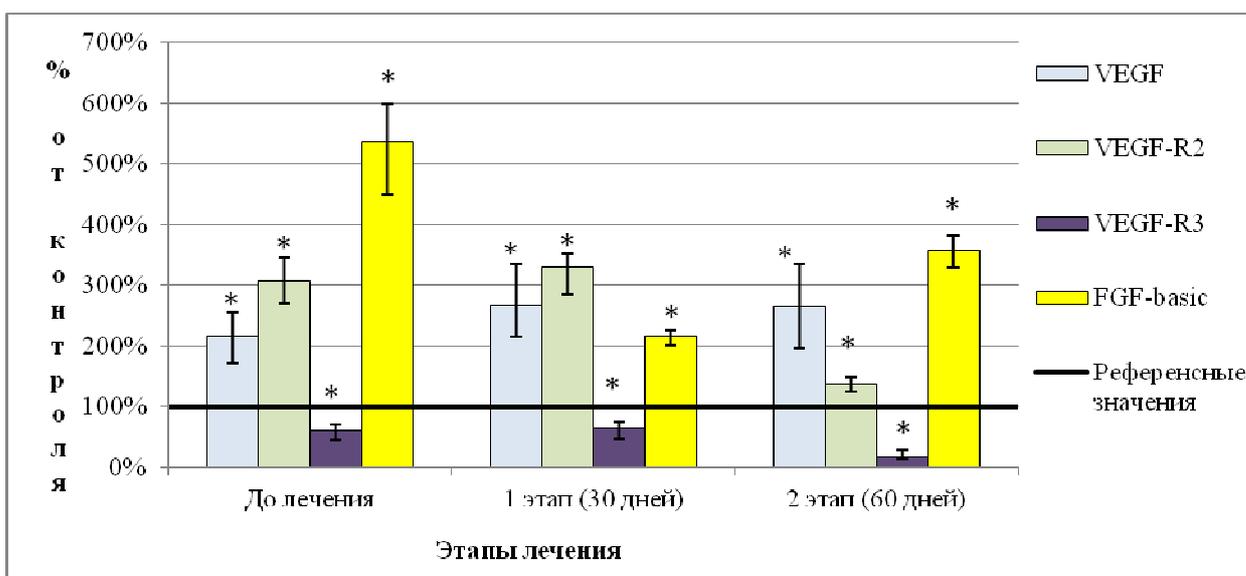


Рисунок 17 – Содержание васкуляроэндотелиальных факторов роста и их рецепторов, а также фактора фибробластов в сыворотке крови пациентов с несовершенным остеогенезом

Примечание: VEGF – сосудистый фактор роста; VEGF-A – сосудистый фактор роста – A; VEGF-R2 – рецептор васкуляроэндотелиального фактора роста; VEGF-R3 – рецептор васкуляроэндотелиального фактора роста; FGF-basic – фактор роста фибробластов основной. Обозначение «» – различия достоверно отличимые при $p \leq 0,05$ от референсных значений по критериям Вилкоксона, Манна-Уитни и Данна; - референсные значения см. таблицы № 12, №13 и №14.*

Дооперационные значения концентрации фактора роста FGF-basic у пациентов с НО в крови были выше значений контрольной группы ($p = 0,01935$). После хирургического вмешательства концентрация данного фактора снижалась, оставаясь при этом достоверно отличимой от значений референсной группы ($p = 0,01433$). (рисунок 17)

Таким образом, нам удалось установить, что, в сыворотке крови пациентов, страдающих несовершенным остеогенезом, наибольшие отличия от референсных значений наблюдаются в содержании сосудистых факторов роста. Среди изученных сосудистых факторов роста и их рецепторов наибольшее значение имел VEGF-R3; концентрация VEGF-R3 и других сосудистых факторов имела разнонаправленную динамику: уменьшение

содержания рецептора VEGF-R3 сопровождалось многократным увеличением VEGF, VEGF-A, VEGF-R2 и FGF-2.

5.2 – Содержание маркеров остеогенеза в сыворотке крови и моче пациентов с несовершенным остеогенезом

У пациентов с НО концентрация маркера резорбции – пиридинолина на дооперационном этапе имела предельно низкие значения – 7 % ($p = 0,00319$). После операции концентрация данного маркера возросла до 122 % от референсной ($p = 0,00314$) (рисунок 18).

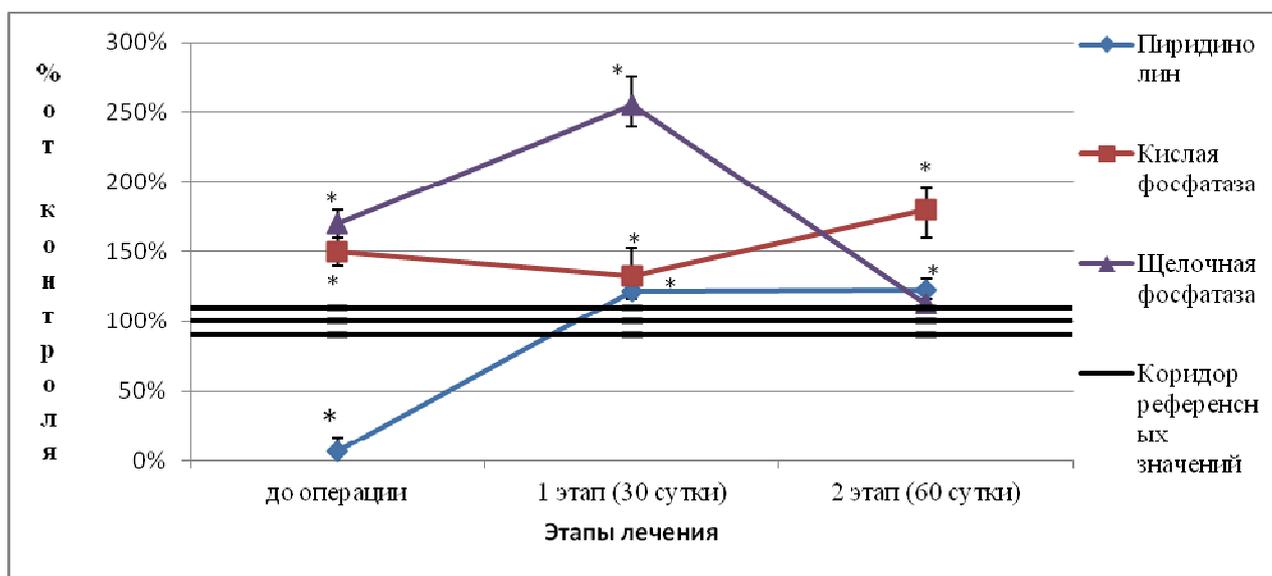


Рисунок 18 – Содержание маркеров остеогенеза в сыворотке крови пациентов с несовершенным остеогенезом

Примечание: CrossLaps – белок – Крослапс. Обозначение «» – различия достоверно отличимые при $p \leq 0,05$ от референсных значений по критериям Вилкоксона, Манна-Уитни и Данна; - референсные значения см. таблицу №20.*

Активность ЩФ на дооперационном этапе была достоверно выше значений нормы, данная картина сохранялась вплоть до 30-х суток после операции. Активность КФ до оперативного вмешательства была высокой ($p =$

0,00208). После 60-х суток мы обнаружили дальнейшее увеличение активности КФ до 180 % ($p = 0,00205$) (рисунк18).

Концентрация кальция в сыворотке крови пациентов с НО на дооперационном этапе была достоверно ниже значений, полученных у референсной группы ($p = 0,00626$). К 30-м суткам после операции концентрации кальция увеличилась, отличаясь как от дооперационных ($p = 0,04397$), так и от референсных значений ($p = 0,03412$). К 60-м суткам после хирургического вмешательства концентрация стабилизировалась, приходя к значениям контрольной группы (таблица 24).

Таблица 24 – Биохимические показатели сыворотки крови пациентов с несовершенным остеогенезом на этапах ортопедического лечения

Биохимический показатель, единицы измерения	Нормативные значения	Референсные значения	До оперативного вмешательства	30 сутки после операции	60 сутки после операции
Кальций, ммоль/л	2,02 – 2,60	2,43 2,37 – 2,45	2,33* 2,32 – 2,34	2,47*# 2,43 – 2,51	2,33 2,20 – 2,46
Фосфор неорганический, ммоль/л	0,87 – 1,45	1,24 1,15 – 1,34	1,69* 1,68 – 1,72	1,81* 1,63 – 1,55	1,40*# 1,32 – 1,47
Магний, ммоль/л	0,8 – 1,0	0,78 0,73 – 0,98	0,77 0,74 – 0,81	0,84 0,77 – 0,90	0,87# 0,84 – 0,89
Натрий, ммоль/л	136 – 145	140 138 – 143	135 132 – 138	141# 139 – 143	140# 139 – 142
Калий, ммоль/л	3,6 – 5,5	4,52 4,27 – 4,73	7,00 4,30 – 9,70	4,26# 4,24 – 4,28	4,47 4,43 – 4,50
Хлор, ммоль/л	97 – 108	104 100 – 105	72* 45 – 99	102# 100 – 105	103# 100 – 106

*Примечание: * – различия достоверны при $p \leq 0,05$ между пациентами с патологией и референсными значениями, по критериям Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна; # – результаты, достоверно отличимые при $p \leq 0,05$ между дооперационными и этапами после операции, по критериям Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна. Жирным шрифтом отмечены достоверность различий. Данные в таблице представлены в виде медиан (25 и 75 квартилей)*

В сыворотке крови концентрация фосфора неорганического на дооперационном этапе была значительно выше значений, полученных у контрольной группы ($p = 0,00746$). Концентрация фосфора продолжала расти

вплоть до 30-х суток, достоверно отличаясь от референсных значений ($p = 0,02745$). К 60-м суткам концентрация снижалась, оставаясь при этом достоверно отличимой от дооперационного этапа ($p = 0,01377$) и от значений УЗЛ ($p = 0,01531$) (таблица 24). Сывороточная концентрация магния на дооперационном этапе не отличалась от значений референсной группы. Концентрация магния к 30-м суткам и далее росла, при этом не имела статистически значимых отличий от референсной группы. Концентрация на 60-е сутки имела достоверные отличия от дооперационных значений ($p = 0,02613$).

Сывороточная концентрация натрия на всех этапах лечения не имела достоверных отличий от концентрации, полученной у УЗЛ, на 30-е и 60-е сутки была обнаружена достоверность отличий от дооперационных значений ($p = 0,04111$, $p = 0,04021$) (таблица 24). Аналогичная картина получена по концентрации ионов калия и хлора.

Полученные значения показателя индекса электролитов на дооперационном этапе были достоверно ниже, чем референсные значения, аналогичная картина наблюдалась и на 30-е сутки. К 60-м суткам наблюдался максимум значений СИЕ, при этом значения показателя входили в предел значений референсной группы (таблица 25).

Таблица 25 – Интегральные индексы оценки обмена костной ткани пациентов с несовершенным остеогенезом на этапах ортопедического лечения

Интегральные индексы оценки обмена костной ткани	Референсные значения	До оперативного вмешательства	30 сутки после операции	60 сутки после операции
Системный индекс электролитов (СИЕ)	156,98 146,9-188,8	86,20* 74,9-97,4	101,11* 97,3 – 107,8	161,24 153,3-169,4
$C_{Mg^{2+}}/C_{Ca^{2+}}$	0,32 (0,31 – 0,40)	0,33 (0,32 – 0,3)5	0,34 (0,32 – 0,36)	0,37 (0,38 – 0,39)
Индекс фосфатаз	1,6% (0,57 – 2,8)	1,1%	1,9%	0,63%

Примечание: * – различия достоверны при $p \leq 0,05$ между пациентами с патологией и референсными значениями, по критериям Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна; # – результаты достоверно отличимые при $p \leq 0,05$ между дооперационными и этапами после операции, по критериям Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна. Жирным отменены достоверность различий. Данные в таблице представлены в виде медиан (25 и 75 квартилей). Значение индекса фосфатаз представлены в процентном отношении от референсной группы.

В суточной моче пациентов с несовершенным остеогенезом на дооперационном этапе концентрация кальция была ниже и достоверно отличалась от значений нормы ($p = 0,00316$). К 30-м суткам и далее концентрация кальция росла, оставаясь при этом достоверно отличимой от нормативных показателей и дооперационных значений ($p = 0,00623$, $p = 0,00218$). Нами обнаружен максимум концентрации в моче на 60-е сутки после операции 4,18 ммоль/сут (таблица 26).

Таблица 26 – Биохимические показатели суточной мочи пациентов с несовершенным остеогенезом на этапах ортопедического лечения

Биохимический показатель	Кальций, ммоль/сут	Фосфор, ммоль/сут
Значения этапов		
Нормативные значения	2,25 – 4,06	15,96 – 33,3
До оперативного вмешательства	1,66* 1,58 – 1,73	12,62 8,48 – 16,76
30 сутки после операции	2,10*# 2,08 – 2,14	7,11*# 7,03 – 7,15
60 сутки после операции	4,18*# 4,09 – 4,26	10,82* 10,73 – 10,94

*Примечание: * – различия достоверны при $p \leq 0,05$ между пациентами с патологией и нормативными значениями, по критериям Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна; # – результаты достоверно отличимые при $p \leq 0,05$ между до операционными и этапами после операции, по критериям Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна. Жирным отмены достоверность различий. Данные в таблице представлены в виде медиан (25 и 75 квартилей)*

Концентрация фосфора в моче у больных на дооперационном этапе не имела статистически значимых отличий от нормы, после операции на 30-е и 60-е сутки концентрация фосфора снижалась, достоверно отличаясь от дооперационных и нормативных значений ($p = 0,00384$, $p = 0,03439$) (таблица 26).

5.3 – Резюме

Исследование концентрации маркеров остеогенеза в сыворотке крови пациентов с несовершенным остеогенезом показало, что маркеры резорбции

имеют разнонаправленный характер, так например, пиридинолин имел низкие значения, в то время как кислая фосфатаза имела высокие значения на дооперационном этапе. После хирургического вмешательства концентрация маркеров менялась, при этом концентрация пиридинолина к концу лечения повышалась, а активность кислой фосфатазы приходила к контрольным значениям. Активность щелочной фосфатазы также была повышена по сравнению с референсной группой, как на дооперационном, так и на этапах лечения.

Электролиты в сыворотке крови, такие как кальций и магний, на дооперационном этапе отличались от контрольной группы, но к концу лечения концентрация данных показателей крови приходила к референсным значениям. Концентрация неорганического фосфора в процессе лечения снижалась, при этом достоверно отличаясь от контрольных значений.

В настоящее время известно, что любые дефекты в структурных белках (фибриллин) изменяют активацию факторов роста [231, 234, 239, 334]. Известно также, что у пациентов НО нарушено образование структурного белка-коллагена. По мнению ряда авторов, аномалии в нарушениях коллагена связаны с неспособностью контролировать активацию молекулы TGF- β [134, 201, 218, 339]. Хотя аномалии коллагена прежде всего ответственны за развитие несовершенного остеогенеза, однако выраженность проявления заболевания может быть вызвана мутациями и инактивацией рецепторов TGF- β [295, 306].

Результаты нашего исследования показали, что у пациентов с несовершенным остеогенезом наблюдаются значительные изменения показателей метаболизма костной ткани. Это может быть вызвано структурно-функциональными нарушениями молекулярно-клеточных взаимодействий остеобластного и остеокластного происхождения в процессах костного ремоделирования [65, 66]. По нашему мнению, это может быть связано с тем, что на 30-е сутки после операции происходит активация остеобластов и активное формирование костного матрикса, о чем

свидетельствует высокое содержание в сыворотке крови IGF-2, TGF- β 1 и TGF- α , а также маркера биосинтетической активности – ЩФ, при одновременном снижении концентрации КФ и PVD [101, 188]. В этот же период наблюдается снижение содержания SCF, что способствует ингибированию активности костного мозга [179].

К 60-м суткам продолжается активный биосинтез матрикса, что сопровождается увеличением IGF-2, SCF и TGF- α .

При репаративном ремоделировании костной ткани у пациентов с несовершенным остеогенезом происходило увеличение ангиогенного фактора VEGF и его рецептора VEGF-R2 более чем в 2,5 раза в крови больных, что свидетельствует о наличии хронического воспалительного процессов в костной ткани, сопровождающегося многоплоскостными деформациями и микропереломами [17].

Таким образом, сывороточные концентрации факторов роста и маркеров остеогенеза в послеоперационном периоде у пациентов с несовершенным остеогенезом, указывают на существенные нарушения процессов костного ремоделирования, которые выражаются прежде всего в расстройствах остеокласт – остеобластного взаимодействия.

Список работ, опубликованных по результатам 5-ой главы:

1. *Выхованец, Е.П.* Содержание некоторых остеотропных факторов роста и маркеров остеогенеза в крови пациентов с несовершенным остеогенезом и фосфат-диабетом / *Е.П. Выхованец, С.Н. Лунева, Н.В. Накоскина, Э.Р. Мингазов, А.В. Попков* // Сибирский научно-медицинский журнал. – 2018. – Т. 38, № 3. С. 59–65 DOI: 10.15372/SSMJ20180309 (РИНЦ – 0,377).

2. *Выхованец, Е.П.* Содержание некоторых остеотропных факторов роста и маркеров остеогенеза в крови пациентов с врожденными заболеваниями скелета / *Е.П. Выхованец, С.Н. Лунева* // Пороки развития

опорно-двигательной системы: Илизаровские чтения: материалы науч.-практ. конф. – Курган, 2018. – С. 34–35.

3. *Выхованец, Е.П.* Содержание некоторых паракринных факторов роста в сыворотке крови у пациентов с несовершенным остеогенезом / *Е.П. Выхованец, А.А. Рахматулина, С.Н. Лунева* // Современные технологии в науке и образовании: проблемы, достижения, перспективы: сб. науч. трудов по матер. I междунар. науч.-практ. конф. – Стерлитамак, 2016. – С. 64–69.

4. *Выхованец, Е.П.* Динамика изменения некоторых биохимических показателей фосфорно-кальциевого обмена сыворотки крови больных с орфанными заболеваниями / *Е.П. Выхованец, Е.А. Киреева, Н.В. Тушина* // Развитие научной, творческой и инновационной деятельности молодежи: материалы VII Всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых, посв. 120-летию со дня рождения Т.С. Мальцева. – Курган, 2015. – С. 133–135.

5. *Выхованец, Е.П.* Значение некоторых биохимических показателей фосфорно-кальциевого обмена в сыворотке крови больных с орфанными заболеваниями скелета / *Е.П. Выхованец, А.И. Митрофанов, Н.В. Сакулин* // Перспективы развития фундаментальных наук: сб. науч. тр. XII междунар. конф. студентов и молодых ученых. – Томск, 2015. – С. 775–777.

ГЛАВА 6 – СОДЕРЖАНИЕ ОСТЕОТРОПНЫХ ФАКТОРОВ РОСТА И МАРКЕРОВ ОСТЕОГЕНЕЗА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И МОЧЕ ПАЦИЕНТОВ С ФОСФАТ-ДИАБЕТОМ

Нами был проведен анализ факторов роста и маркеров остеогенеза в сыворотке крови и суточной мочи пациентов с фосфат-диабета.

6.1 – Содержание остеотропных факторов роста в сыворотке крови пациентов с фосфат-диабетом

Сывороточная концентрация фактора роста IGF-1 у пациентов с ФД до лечения не отличалась от таковой у УЗЛ. На 5-7 сутки после остеосинтеза аппаратом Илизарова концентрация данного фактора роста снижалась ($p = 0,00081$). Начиная с 30-х и вплоть до 60-х суток после операции, концентрация IGF-1 соответствовала референсным значениям. Окончание лечения у пациентов с ФД сопровождалось повышением концентрации до 128% ($p = 0,00480$) (рисунок 19).

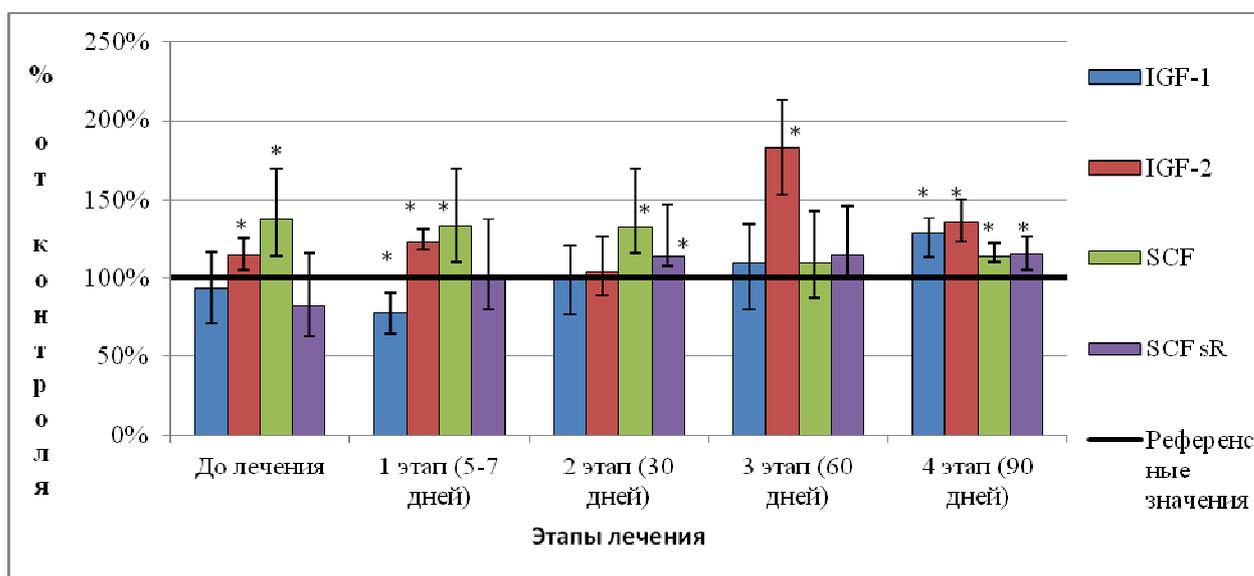


Рисунок 19 – Содержание инсулинподобных факторов роста – 1 и 2 типа и стволового фактора роста и его растворимого рецептора в сыворотке крови пациентов с фосфат-диабетом

Примечание: IGF-1 – инсулинподобный фактор роста 1 типа; IGF-2 – инсулинподобный фактор роста 2 типа; SCF – стволовой фактор роста; Sr SCF – растворимый рецептор стволового фактора роста. Обозначение «» – различия достоверно отличимые при $p \leq 0,05$, от референсных значений по критериям Вилкоксона, Манна-Уитни и Данна; - референсные значения см. таблицы № 11 и №17.*

Значение концентрации фактора роста IGF-2 в крови больных ФД на дооперационном этапе превышало значение контрольной группы ($p = 0,00394$). На 5–7 сутки после остеосинтеза концентрация данного фактора была выше с дооперационных и контрольных значений ($p = 0,00259$). На отдаленном этапе лечения концентрация IGF-2 была максимальной и составляла 183 % ($p = 0,00281$) (*рисунок 19*).

Значение концентрации SCF в крови больных на дооперационном этапе и вплоть до 60-х суток после операции не отличалось от контроля. К 90-м суткам наблюдалось снижение значений концентрации данного фактора роста ($p = 0,00762$) (*рисунок 19*).

Обратная закономерность обнаружена для рецептора к данному фактору роста Sr SCF. На дооперационном этапе концентрация рецептора была ниже значений референсной группы ($p = 0,00685$). После операции было обнаружено увеличение концентрации в сыворотке крови, при этом концентрация на данных этапах не имела статистически значимых отличий. К 90-м суткам концентрация увеличивалась по сравнению с контрольными значениями (*рисунок 19*).

На дооперационном этапе в крови больных ФД концентрация TGF- β 1 имела более высокие значения по сравнению с референсной группой ($p = 0,00711$). После остеосинтеза на 30-е сутки было обнаружено уменьшение концентрации ($p = 0,00030$, $p = 0,00076$). На отдаленном этапе лечения концентрация фактора вновь повышалась ($p = 0,00434$, $p = 0,00612$) (*рисунок 20*).

Сывороточная концентрация фактора роста TGF- β 2 у пациентов с ФД, как на дооперационном, так и на этапах ортопедического лечения, не отличалась от значений УЗЛ. После снятия аппарата Илизарова его концентрация снижалась и составила всего 50 % от контрольных значений ($p = 0,00852$) (*рисунок 20*).

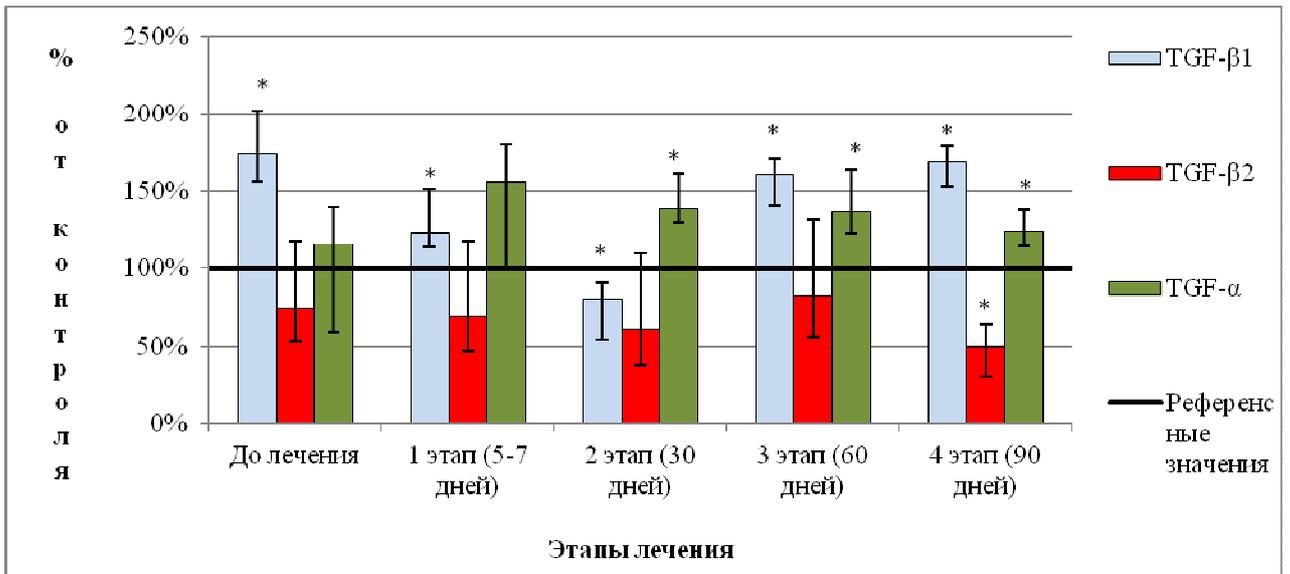


Рисунок 20 – Содержание трансформирующих факторов роста в сыворотке крови пациентов с фосфат-диабетом

Примечание: TGF-β1 – трансформирующий фактор роста бета – 1; TGF-β2 – трансформирующий фактор роста бета – 2; TGF-α – трансформирующий фактор роста – альфа. Обозначение «» – различия достоверно отличимые при $p \leq 0,05$ от референсных значений по критериям Вилкоксона, Манна-Уитни и Данна; - референсные значения см. таблицы № 15 и №16.*

На дооперационном этапе у пациентов с ФД значение концентрации фактора роста TGF-α составило 116 % и не отличалось от значений референсной группы. На 30-е сутки после операции его концентрация составила 139 %, достоверно отличаясь от значений УЗЛ ($p = 0,00438$) (рисунок 20).

Концентрация фактора роста VEGF в крови пациентов с ФД до лечения практически в 20 раз превышала значения, полученные у референсной группы ($p = 0,00333$). Высокая концентрация сохранялась вплоть до конца лечения (рисунок 21).

Еще до лечения у пациентов с ФД концентрация VEGF-A в крови была выше в 4,5 раза значений контроля ($p = 0,00044$). На всех этапах ортопедического лечения концентрация данного фактора роста также была выше значений контрольной группы (рисунок 21).

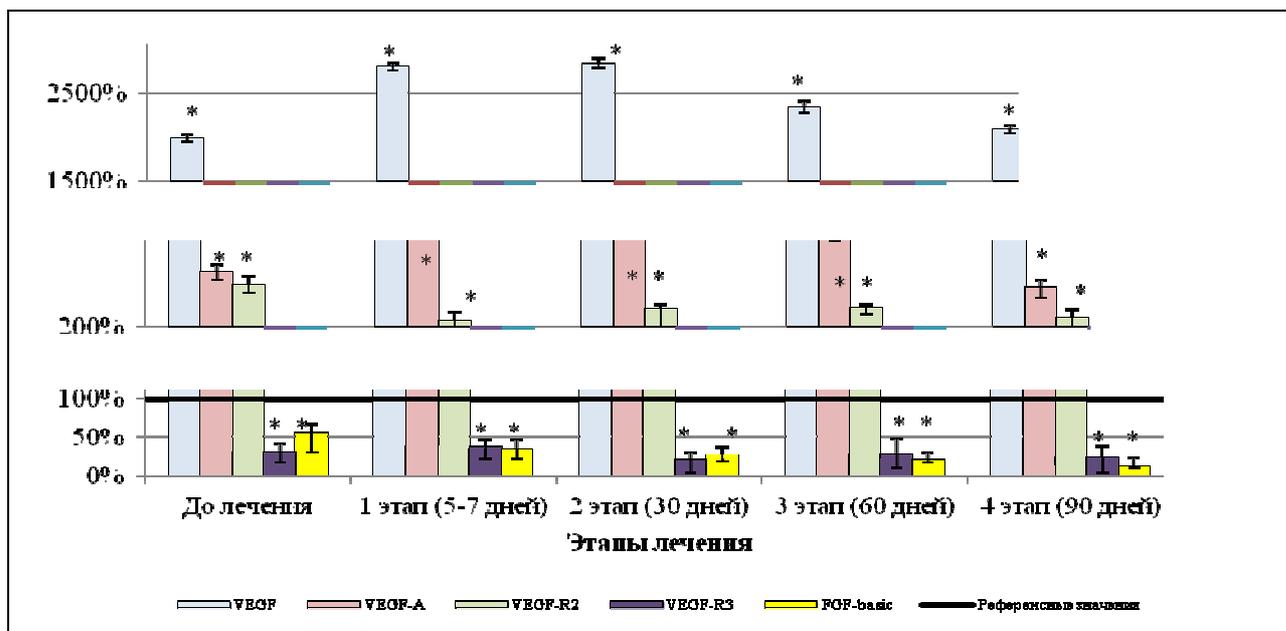


Рисунок 21 – Содержание васкуляроэндотелиальных факторов роста и их рецепторов, а также фактора фибробластов в сыворотке крови пациентов с фосфат-диабетом

Примечание: VEGF – сосудистый фактор роста; VEGF – A – сосудистый фактор роста – A; VEGF – R2 – рецептор васкуляроэндотелиального фактора роста; VEGF – R3 – рецептор васкуляроэндотелиального фактора роста; FGF – basic – фактор роста фибробластов основной. Обозначение «» - различия достоверно отличимые при $p \leq 0,05$, от референсных значений по критериям Вилкоксона, Манна-Уитни и Данна; - референсные значения см. таблицы № 12, №13 и №14.*

Нами установлено, что концентрация VEGF-C в крови больных с ФД была ниже 54 пг/мл. При этом концентрация его рецептора VEGF-R3, как на дооперационном этапе, так и на всех этапах ортопедического лечения, достоверно отличалась от значений контрольной группы. Полученные значения были более чем на 50 % ниже, чем у УЗЛ. При этом концентрация рецептора VEGF-R2, активируемого фактором роста VEGF-C на всех этапах ортопедического лечения была выше значений, определенных у контроля, практически в 2-3 раза. Максимум значений приходился на дооперационном этапе 392 % ($p = 0,00527$) (рисунок 21).

Низкие значения обнаружены в содержании фактора роста FGF-basic как на дооперационном ($p = 0,00043$), так и на всех этапах ортопедического лечения (рисунок 21).

Таким образом, нам удалось установить, что в сыворотке крови пациентов с фосфат-диабетом наибольшие отличия от контрольных значений наблюдались в содержании сосудистых факторов роста. Среди изученных сосудистых факторов роста и их рецепторов наибольшее значение имел VEGF-R3; концентрация VEGF-R3 и других сосудистых факторов имела разнонаправленную динамику: уменьшение содержания рецептора VEGF-R3 сопровождалось многократным увеличением VEGF, VEGF-A, VEGF-R2 и FGF-2.

6.2 – Содержание маркеров остеогенеза в сыворотке крови и моче пациентов с фосфат-диабетом

В сыворотке крови пациентов с ФД концентрация CrossLaps была в пределах референсных значений. На 30-е сутки после операции концентрация возросла и отличалась от контроля ($p = 0,00403$) (*рисунок 22*).

Активность КФ на дооперационном этапе была выше контроля ($p = 0,00305$), к 5–7 суткам было обнаружено ее снижение (до 110 %), а к 30-м суткам – увеличение активности (до 165 %), далее волнообразное изменение концентрации сохранялось. При этом активность ЩФ на всех этапах отличалась от нормативных значений (*рисунок 22*).

Концентрация пиридинолина у пациентов с ФД в крови, как на дооперационном этапе, так и на всех последующих этапах, была в пределах референсных значений, однако на 90-е сутки было обнаружено снижение концентрации до 77 %, при этом она достоверно отличалась от контроля (*рисунок 22*).

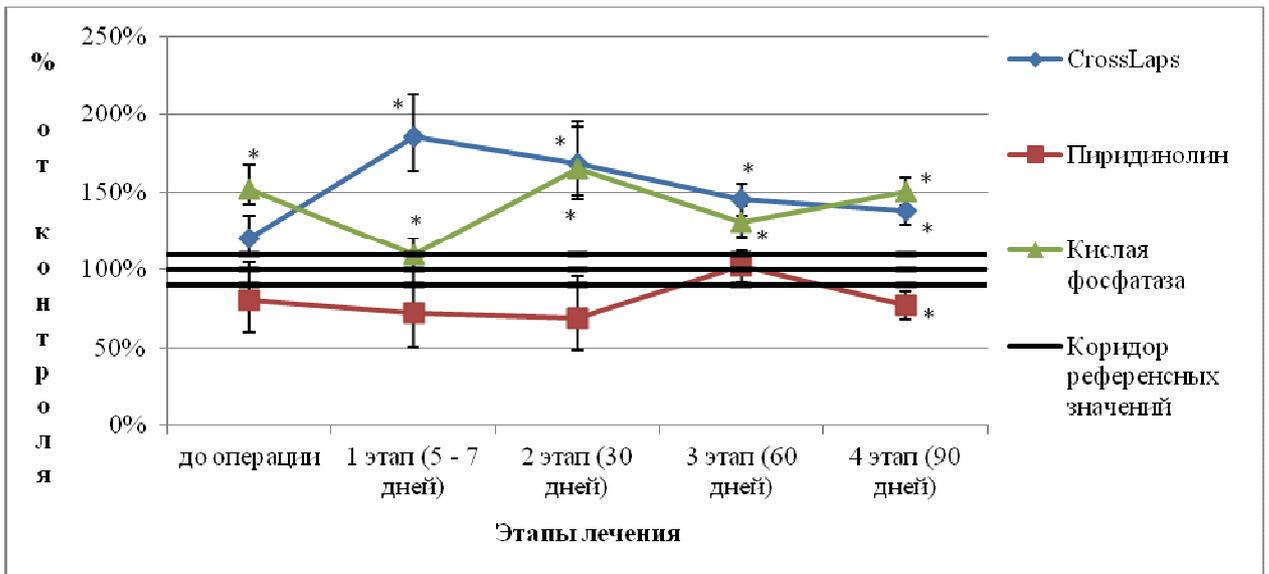


Рисунок 22 – Содержание маркеров резорбции костной ткани в сыворотке крови пациентов с фосфат-диабетом

Примечание: CrossLaps – белок – Крослапс. Обозначение «» – различия достоверно отличимые при $p \leq 0,05$, от референсных значений по критериям Вилкоксона, Манна-Уитни и Данна; - референсные значения см .таблицы №19 и №20.*

Сывороточная концентрация ОК до оперативного вмешательства была на 69 % выше контроля ($p = 0,00215$). После операции на 30-е сутки концентрация снижалась, оставаясь при этом достоверно высокой ($p = 0,00507$). На 60-е сутки после остеосинтеза аппаратом Илизарова концентрация ОК в крови больных с ФД от референсной группы не отличалась (рисунок 23).

Активность ЩФ на дооперационном этапе была высокой ($p = 0,0030$), к 5–7 суткам было выявлено ее снижение (до 119 %), а к 30-м суткам – увеличение активности (до 212 %), далее волнообразное изменение концентрации сохранялось. При этом активность ЩФ на всех этапах отличалась от нормативных значений.

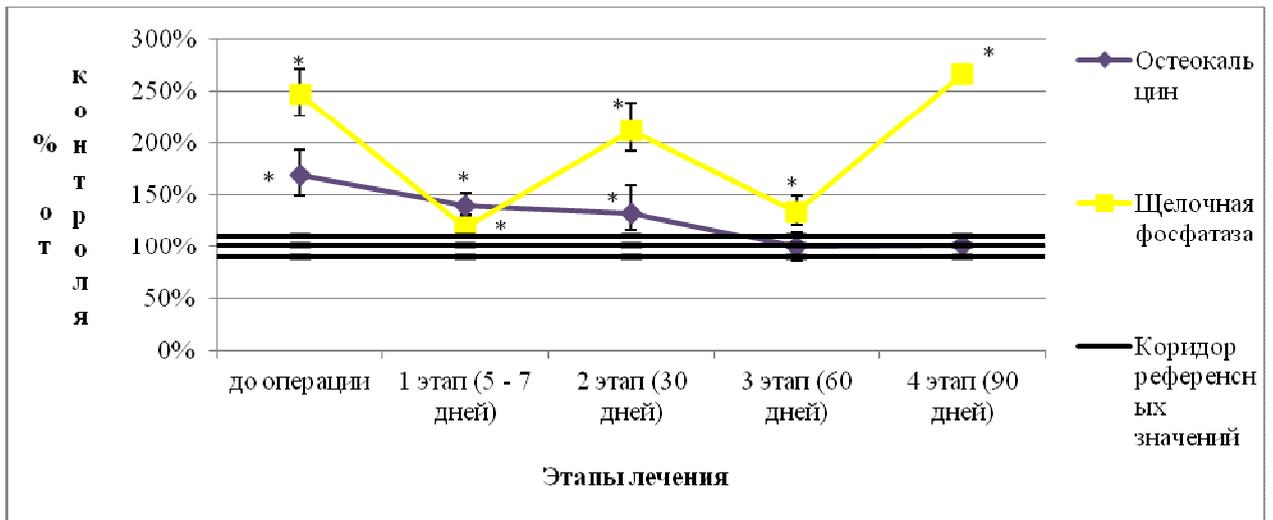


Рисунок 23 – Содержание маркеров формирования костной ткани в сыворотке крови пациентов с фосфат-диабетом

Примечание: Обозначение «» – различия достоверно отличимые при $p \leq 0,05$, от референсных значений по критериям Вилкоксона, Манна-Уитни и Данна; - референсные значения см .таблицу №18.*

На дооперационном этапе в сыворотке крови пациентов с ФД концентрация кальция имела значения ниже, чем у референсной группы ($p = 0,03400$). Ортопедическое лечение пациентов с ФД приводило к нормализации концентрации кальция в крови (таблица 27).

Концентрация фосфора неорганического в крови больных на дооперационном этапе имела низкие значения по сравнению с контрольной группой ($p = 0,00394$). После ортопедического лечения концентрация фосфора стабилизировалась до 60-х суток. К 90-м суткам концентрация снижалась до 0,96 ммоль/л и достоверно отличалась от референсных значений ($p = 0,00454$) (таблица 27). В сыворотке крови пациентов с ФД концентрация магния на дооперационном этапе имела статистически значимые отличия от референсных значений ($p = 0,00092$). После хирургического вмешательства концентрация магния возросла на 5-7 сутки, но к 30-м суткам снижалась и продолжала снижаться до 90-х суток ($p = 0,00716$, $p = 0,00164$) (таблица 27).

Таблица 27 – Биохимические показатели сыворотки крови пациентов с фосфат-диабетом на этапах ортопедического лечения

Биохимический показатель, единицы измерения	Нормативные значения	Референсные значения	До оперативного вмешательства	5 -7 сутки после операции	30 сутки после операции	60 сутки после операции	90 сутки после операции
Кальций, ммоль/л	2,02 – 2,60	2,43 2,37 – 2,45	2,37* 2,31 – 2,46	2,45 2,31 – 2,85	2,37 2,33 – 2,41	2,41 2,37 – 2,49	2,37 2,33 – 2,39
Фосфор неорганический, ммоль/л	0,87 – 1,45	1,24 1,15 – 1,34	0,76* 0,69 – 1,13	0,69 0,65 – 1,25	1,05 0,86 – 1,27	1,02 0,85 – 1,05	0,96* 0,54 – 1,15
Магний, ммоль/л	0,8 – 1,0	0,78 0,73 – 0,98	0,77* 0,75 – 0,81	0,80 0,69 – 0,86	0,71* 0,66 – 0,81	0,66*# 0,63 – 0,69	0,71*# 0,70 – 0,71
Натрий, ммоль/л	136 – 145	140 138 – 143	143 141 – 147	139# 138 – 142	142 140 – 144	142 141 – 143	140# 138 – 142
Калий, ммоль/л	3,6 – 5,5	4,52 4,27 – 4,73	4,39 4,27 – 4,72	5,14 4,50 – 5,30	4,47 4,36 – 4,66	4,68 4,34 – 4,70	4,70 4,69 – 4,71
Хлор, ммоль/л	97 – 108	104 100 – 105	106 103 – 109	105 104 – 105	104 101 – 107	104 102 – 106	102# 100 – 104

*Примечание: * - различия достоверны при $p \leq 0,05$ между пациентами с патологией и референсными значениями, по критериям Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна; # - результаты достоверно отличимые при $p \leq 0,05$ между дооперационными и этапами после операции, по критериям Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна. Жирным отмены достоверность различий. Данные в таблице представлены в виде медиан (25 и 75 квартилей)*

Сывороточная концентрация натрия на дооперационном этапе была выше значений УЗЛ ($p = 0,00499$). На 5–7 сутки после операции концентрация натрия снижалась ($p = 0,00541$).

На всех этапах ортопедического лечения концентрация калия в сыворотке крови больных не имела статистически значимых отличий (таблица 27).

Показатель СИЕ у пациентов с ФД на дооперационном этапе имел достоверные отличия от контрольной группы людей ($p = 0,00619$). СИЕ продолжал расти до 5–7 суток ($p = 0,00935$). К 30-м суткам данный показатель снижался, вплоть до 60-х суток. К 90-м суткам снова увеличился, достоверно отличаясь от значений УЗЛ ($p = 0,00684$) (таблица 28).

Таблица 28 – Интегральные индексы оценки обмена костной ткани пациентов с фосфат-диабетом на этапах ортопедического лечения

Интегральные индексы оценки обмена костной ткани	Референсные значения	До оперативного вмешательства	5-7 сутки после операции	30 сутки после операции	60 сутки после операции	90 сутки после операции
Системный индекс электролитов (СИЕ)	156,98 146,9-188,8	268,32* 165,9-292,6	272,5* 192,4-317,6	167,01 139,9-238,5	153,2 150,6-171,5	239,6* 221,5-249,9
$C_{Mg^{2+}}/C_{Ca^{2+}}$	0,32 0,31 – 0,40	0,32 0,32- 0,33	0,33 0,29 – 0,34	0,29 0,28 – 0,34	0,27 0,27 – 0,28	0,29 0,30 – 0,31
Индекс фосфатаз	1,6% 0,57 – 2,8	1,63%	1,08%	1,29%	1,03%	1,78%

*Примечание: * - различия достоверны при $p \leq 0,05$ между пациентами с патологией и референсными значениями, по критериям Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна; # - результаты достоверно отличимые при $p \leq 0,05$ между дооперационными и этапами после операции, по критериям Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна. Жирным отмены достоверность различий. Данные в таблице представлены в виде медиан (25 и 75 квартилей). Значение индекса фосфатаз представлены в процентом отношении от референсной группы.*

У пациентов с ФД показатели ИФ и соотношения ионов магния к кальцию не было выявлено статистически значимых отличий (таблица 28).

Концентрация кальция в суточной моче пациентов с ФД на дооперационном этапе была ниже значений УЗЛ ($p = 0,00773$), к 5–7 суткам после операции концентрация увеличилась, но оставаясь при этом также достоверно отличимой от значений референсной группы ($p = 0,00201$). К 30-м суткам после операции и далее концентрация кальция увеличилась, имея при этом статистически значимые различия только на 60-е сутки ($p = 0,0032$). К 90-м суткам концентрация по сравнению с предыдущим этапом снижалась, не имея каких-либо достоверных отличий (таблица 29).

Таблица 29 – Биохимические показатели суточной мочи пациентов с фосфат-диабетом на этапах ортопедического лечения

Биохимический показатель	Кальций, ммоль/сут	Фосфор, ммоль/сут
Значения этапов		
Нормативные значения	2,25 – 4,06	15,96 – 33,3
До оперативного вмешательства	1,09* 0,67 – 2,37	14,43* 10,97 – 19,58
5-7 сутки после операции	1,79* 1,19 – 2,98	17,13 15,83 – 18,40
30 сутки после операции	1,99 1,19 – 3,18	17,25* 11,34 – 20,95
60 сутки после операции	2,77# 2,16 – 3,13	17,21* 13,13 – 21,53
90 сутки после операции	2,06 1,91 – 2,20	10,87* 5,73 – 16,01

*Примечание: * – различия достоверны при $p \leq 0,05$ между пациентами с патологией и нормативными значениями, по критериям Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна; # – результаты достоверно отличимые при $p \leq 0,05$ между до операционными и этапами после операции, по критериям Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна. Жирным отмены достоверность различий. Данные в таблице представлены в виде медиан (25 и 75 квартилей)*

Концентрация фосфора в суточной моче пациентов с ФД на дооперационном этапе имела достоверно низкие значения, по сравнению с референсными ($p = 0,00051$). На 5–7 сутки концентрация увеличилась, приходя к значениям УЗЛ. К 60-м и далее суткам концентрация снижалась, статистически отличаясь от контрольной группы ($p = 0,00079$) (таблица 29).

Нам удалось показать неоднородную картину в концентрации маркеров остеогенеза пациентов с фосфат-диабетом. Так, например, маркер резорбции

CrossLaps на дооперационном этапе не был отличим, после же хирургического вмешательства концентрация повышалась, отличаясь от значений условно здоровых лиц. В то время как другой маркер резорбции – кислая фосфатаза – на всех этапах лечения был повышен, а значения пиридинолина находились в пределах референсных. Маркеры костеобразования – остеокальцин и щелочная фосфатаза – были значительно повышены по сравнению с контрольной группой, однако концентрация остеокальцина к окончанию лечения стабилизировалась, а активность щелочной фосфатазы оставалась высокой.

6.3 – Резюме

Согласно L. Wang и соавт. (2013) в молекулярно-клеточных взаимодействиях системы ремоделирования костной ткани выявлены функциональные зависимости между повреждением структуры кости, дифференцировки остеобластов и продукцией факторов роста семейства TGF- β [230]. Tang S. и соавт. (2013) считают, что антирезорбтивный эффект TGF- β может реализовываться не только через TGF- β -рецепторы на остеокластах, но и через остеобласты, регулируя экспрессию ими других аутокринных факторов роста. При этом известно, что концентрации TGF- β , ниже физиологических стимулируют остеокластогенез, а концентрации TGF- β , превышающие физиологические, оказывают стимулирующее действие на пролиферацию и дифференцировку остеобластов [361]. По другим данным TGF- β определяют дифференцировку и активность, в основном, остеобластного дифферона [217, 304]. Действительно, у пациентов с ФД еще до оперативного вмешательства было обнаружено высокое содержание TGF- β 1 и остеокальцина, сопровождающееся увеличением активности ЩФ в 2,5 раза, что указывало на высокую синтетическую активность остеобластов. Однако согласно концепции «костной муфты», предложенной Parfitt A.M., вновь синтезированный в процессе ремоделирования кости матрикс

соответствует нормальному строению только при определенном уровне активности остеокластов [313, 314, 329, 323, 324]. Кроме того, активные формы остеокластов способны экспрессировать TGF- β 2, оказывающие аутокринное влияние на остеобласты для стимуляции синтетической фазы ремоделирования [259]. У пациентов с ФД до лечения и во время всех этапов хирургического лечения, содержание в крови TGF- β 2 находилось ниже, а TGF- β 1 выше референсных значений. Одновременно только у этой категории больных увеличение содержания VEGF в сыворотке крови составило более 1500 %, VEGF-A и VEGF-R2 более чем 2000 %. По мнению Вартаняна А.А. (2013), повышенная секреция VEGF приводит к высвобождению большого количества провоспалительных цитокинов: GM-CSF (гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора), G-CSF (гранулоцитарного колониестимулирующего фактора), IL-6 (интерлейкина – 6), PIGF (тромбоцитарного фактора роста) и IGF [16]. При этом известно, что остеокластный дифферон является наиболее цитокинчувствительной системой костной ткани. Местное повышение количества провоспалительных цитокинов вызывает нарушение формирования пула активных остеокластов [266], приуменьшает их резорбтивную активность, снижают адгезивные характеристики остеобластов в резорбционной лакуне [400].

Кроме этого, ведущим в патогенезе ФД является недостаток активных метаболитов витамина D и дефицит кальция [146]. Уменьшенное всасывание кальция приводит к вторичному гиперпаратиреоидизму [342], который в свою очередь активирует остеокластогенез, и, соответственно, сдвиг ремоделирования в сторону усиленной резорбции костной ткани [309], несмотря на одновременную активность остеобластов. Общеизвестно, что нарушение фосфорно-кальциевого обмена у пациентов с ФД регистрируется еще до оперативного вмешательства. По данным нашего исследования оперативное вмешательство усугубляет этот дисбаланс. У больных с ФД происходит патологическое ремоделирование костной ткани, связанное с

нарушением клеточно-молекулярных механизмов, обеспечивающих морфо-функциональный гомеостаз костной ткани. Последнее иллюстрируется значительным и одновременным снижением маркеров и остеобластической и остеокластической активности (ЩФ и КФ) на 5–7 сутки после операции, высоким уровнем CrossLaps и ЩФ и КФ на 30 сутки после операции. Изменение метаболической активности остеобластов обусловлено также снижением уровня инсулиноподобных факторов роста на 5–7 сутки после операции, что еще больше усиливает резорбцию кости остеокластами [277]. Все вышеописанное приводит к высокой скорости костного обмена [8, 253, 268, 288, 298] и, неизбежно, к остеопорозу, развивающемуся на фоне сильнейшего воспаления соединительной ткани [38].

Список работ, опубликованных по результатам 6-ой главы

1. *Выхованец, Е.П.* Содержание некоторых остеотропных факторов роста и маркеров остеогенеза в крови пациентов с несовершенным остеогенезом и фосфат-диабетом / *Е.П. Выхованец, С.Н. Лунева, Н.В. Накоскина, Э.Р. Мингазов, А.В. Попоков* // Сибирский научно-медицинский журнал. – 2018. – Т. 38, № 3. С. 59–65 DOI: 10.15372/SSMJ20180309 (РИНЦ – 0,377).

2. *Выхованец, Е.П.* Оценка изменения концентрации ряда факторов роста семейства TGF в сыворотке крови на этапах дистракционного остеосинтеза аппаратом Илизарова / *Е.П. Выхованец, Н.В. Сакулин, С.Н. Лунева, О.В. Климов* // Вестник новых медицинских технологий. – 2017. – Т. 24, № 1. – С. 187-190 (РИНЦ – 0,595).

3. *Выхованец, Е.П.* Содержание некоторых маркеров остеогенеза в сыворотке крови людей с заболеваниями опорно-двигательного аппарата / *Е.П. Выхованец, С.Н. Лунева* // X Юбилейная Российская науч.-практ. конф. с междунар. участием: сб. науч. статей. – Казань, 2018. – С. 389–395.

4. *Выхованец, Е.П.* Содержание некоторых остеотропных факторов роста и маркеров остеогенеза в крови пациентов с врожденными заболеваниями скелета / *Е.П. Выхованец, С.Н. Лунева* // Пороки развития

опорно-двигательной системы: Илизаровские чтения: материалы науч.-практ. конф. – Курган, 2018. – С. 34–35.

5. *Выхованец, Е.П.* Изучение роли трансформирующих факторов роста при лечении пациентов с врожденными системными заболеваниями скелета / *Е.П. Выхованец, С.Н. Лунова, Н.В. Накоскина, Э.Р. Мингазов, А.В. Попков* // Новые горизонты травматологии и ортопедии: сб. науч. статей, посв. 150-летию со дня рождения Р.Р. Вредена. – Санкт-Петербург, 2017. – С. 58-61.

6. *Выхованец, Е.П.* Биохимические показатели сыворотки крови у пациентов с фосфат диабетом / *Е.П. Выхованец, С.Н. Лунова, А.А. Рахматулина* // XX Менделеевский съезд по общей и прикладной химии: тез. докл. – Екатеринбург, 2016. – Т. 4. – С. 470.

7. *Выхованец, Е.П.* Сравнительная характеристика биохимических показателей сыворотки крови больных с фосфат диабетом и врожденным ложным суставом / *Е.П. Выхованец, А.И. Митрофанов, А.В. Попков, Н.В. Тушина, Е.А. Киреева* // Костная патология от теории до практики: Илизаровские чтения: материалы науч.-практ. конф. – Курган, 2016. – С. 103–104.

8. *Выхованец, Е.П.* Динамика изменения некоторых биохимических показателей фосфорно-кальциевого обмена сыворотки крови больных с орфанными заболеваниями / *Е.П. Выхованец, Е.А. Киреева, Н.В. Тушина* // Развитие научной, творческой и инновационной деятельности молодежи: материалы VII Всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых, посв. 120-летию со дня рождения Т.С. Мальцева. – Курган, 2015. – С. 133–135.

9. *Выхованец, Е.П.* Значение некоторых биохимических показателей фосфорно-кальциевого обмена в сыворотке крови больных с орфанными заболеваниями скелета / *Е.П. Выхованец, А.И. Митрофанов, Н.В. Сакулин* // Перспективы развития фундаментальных наук: сб. науч. тр. XII междунар. конф. студентов и молодых ученых. – Томск, 2015. – С. 775–777.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время существует мнение, что для успешного исправления деформаций костей необходима тесная взаимосвязь трех компонентов – остеогенных клеток, факторов роста и внеклеточного костного матрикса [48, 79, 93, 263]. Регуляция костеобразования во многом зависит от баланса факторов, стимулирующих и подавляющих те или иные этапы репаративной регенерации [351]. При этом регуляция костного обмена на 50–70 % детерминирована наследственными показателями [289, 331].

Важную гомеостатическую и структуроопределяющую роль костной ткани играют соединения кальция и фосфора (кристаллы гидроксиапатита и аморфный фосфат кальция внеклеточного матрикса). Именно резервные концентрации фосфора и кальция находятся под гормональным контролем (паратиреоидного гормона (ПТГ), кальцитриола (активная форма витамина D3) и кальцитонина) [285].

В случае патологического ремоделирования при заболеваниях костной ткани происходит дезорганизация клеточно-молекулярных процессов, одной из причин которой чаще всего является генетически детерминированный дефект [183, 345, 355].

Вопросы диагностики и лечения наследственных заболеваний костной системы представляют собой важную социальную проблему, решение которой является первоочередной задачей в системе здравоохранения развитых стран мира [163, 303, 329]. Особый интерес к этим сложным заболеваниям обусловлен рядом причин.

Во-первых, наследственные заболевания костной системы – это комплекс генетических, гормональных и метаболических нарушений, приводящих к неблагоприятным результатам ортопедического лечения [208].

Во-вторых, лечение одного такого больного обходится государству в миллионы рублей и, зачастую, продолжается всю жизнь [110, 111].

В-третьих, до настоящего времени остаются неясными механизмы развития конкретных патологических состояний. Дальнейшее исследование их патогенеза может привести к разработке целого ряда лекарственных средств направленной коррекции метаболических нарушений с целью уменьшения риска развития костных деформаций.

Для объяснения причин нарушений в костной ткани при наследственных заболеваниях скелета все чаще обращают внимание на исследование роли факторов роста, а также маркеров остеогенеза [48, 58, 75, 79, 93]. Вопросы образования, депонирования и действия факторов роста очень сложны, но имеют большое значение для понимания механизмов развития наследственных патологий опорно-двигательной системы. Поэтому цель нашего исследования заключалась в оценке содержания остеотропных факторов роста и маркеров остеогенеза в крови *здоровых людей и пациентов с фосфат-диабетом, с несовершенным остеогенезом и с врожденным ложным суставом* на этапах репаративного остеогенеза при использовании методик чрескостного остеосинтеза по Илизарову.

Объектом исследования послужили 180 *условно здоровых лиц* в возрасте от 1 года до 44 лет, составивших контрольную группу. Объектом экспериментального наблюдения были пациенты с *фосфат-диабетом* – 27 человек, *врожденным ложным суставом* – 12 человек и *несовершенным остеогенезом* – 7 человек в возрасте от 1 года до 44 лет.

Исследование проводилось биохимическими и иммуноферментными методами. Материалами для биохимического и иммуноферментного исследования была сыворотка крови больных людей, *условно здоровых лиц* и суточная моча больных.

Результаты исследований обработаны методом вариационной статистики, применяемым для малых выборок, с принятием доверительной вероятности $p \leq 0,05$. Нормальность выборок полученных результатов оценивали по критерию Шапиро-Уилка, которые в дальнейшем обрабатывали методами непараметрической статистики. Для сравнения к

нескольким группам применили критерий Манна-Уитни. Различия между этапами вычислялись по критерию Данна. Достоверность различий между несвязанными выборками определяли W-критерием Вилкоксона для независимых выборок. Результаты исследования представляли медианами, 25 и 75 квартилями. Для исследования корреляционных связей применяли непараметрический критерий Пирсона. При статистической обработке результатов исследования был использован интеграторный модуль Atte Stat 13.1 для программы Microsoft Excel, разработанный в РНЦ «ВТО» им. академика Г.А. Илизарова И.П. Гайдшевым [31, 32, 33].

Ввиду того, что в настоящее время остаются недостаточно изученными вопросы о половых и возрастных различиях в содержании факторов роста в кровеносном русле *здоровых детей и взрослых*, было проведено иммуноферментное исследование сыворотки крови различных возрастных групп *условно здоровых детей и взрослых*.

По результатам исследования было установлено, что для факторов роста *IGF-1* и *IGF-2* не имеется отличий по половому признаку у *условно здоровых детей и взрослых*. Концентрация *IGF-1* отличается в разных возрастных группах. Концентрации *VEGF* в сыворотке крови здоровых людей увеличивалась в переходном и раннем взрослом возрасте у женщин и в переходном возрасте у мужчин. В настоящее время широко обсуждается вопрос об идентичности факторов роста *VEGF* и *VEGF-A*. Полученные результаты сывороточных концентраций показали, что данные факторы различны. Наибольшие отличия были обнаружены у всех детей в раннем возрасте, в младшем школьном у девочек и раннем взрослом возрасте у мужчин. Рецептор – *VEGF-R2*, который экспрессируется во всех эндотелиальных клетках сосудистого происхождения, отличается у мальчиков и девочек в ранний период.

Фактор роста фибробластов, основная форма (*FGF-basic*), являющийся активатором пролиферации, у *условно здоровых детей и взрослых* не отличался по половому и возрастному признаку. Фактор роста

TGF-β1, регулирующий процессы резорбции и формирование костной ткани и ингибирующий зрелые остеокласты, не отличался по половому и возрастному признакам. Фактор роста *TGF-β2*, модулирующий развитие костной ткани и влияющий на заживление ран, отличался по половым признакам только в раннем возрасте у здоровых детей. Фактор роста *TGF-α* в сыворотке крови *условно здоровых лиц* отличался по половому признаку только в период старшего школьного возраста.

Исследование концентрации фактора *SCF* в сыворотке крови выявило отличия по половому признаку в двух периодах: переходный и дошкольный, в то время как рецептор данного фактора отличался только в раннем взрослом возрасте.

Нами было проанализировано содержание остеотропных факторов роста и маркеров остеогенеза у больных с врожденными патологиями опорно-двигательного аппарата.

Наибольшим изменениям среди изученных факторов роста и их рецепторов в крови больных с *врожденным ложным суставом* были подвержены представители сосудистых факторов роста, такие как *VEGF-A* и его рецептор *VEGF-R2*, *FGF-basic*. Очевидно, что у данной группы пациентов до оперативного вмешательства был нарушен процесс ангиогенеза. Кроме того, нами было обнаружено, что наименьшая сывороточная концентрация до оперативного вмешательства наблюдается для рецептора для *VEGF-R3* и фактора роста *TGF-β2*. Поскольку обнаружено низкое содержание рецептора *VEGF-R3*, мы предполагаем, что это связано с нарушением образования лимфоцитов. Концентрация фактора роста *TGF-β2* также была снижена, что свидетельствует о низком потенциале формирования костной ткани. Маркер резорбции костной ткани – *CrossLaps* – также имел низкие значения концентрации, что может указывать на повышенную резорбцию костной ткани. Это подтверждает увеличение другого маркера резорбции – *кислой фосфатазы*, а также высокое содержание *неорганического фосфора* в крови. Нами было установлено, что

в сыворотке крови пациентов с *врожденным ложным суставом голени* содержание *IGF-1, IGF-2, VEGF, TGF- α , SCF* и его рецептора *SCF Sr, остеокальцина, пиридинолина* и *щелочной фосфатазы* не отличалось от значений группы контроля.

Можно заключить, что у пациентов с *врожденным ложным суставом голени* до какого-либо хирургического лечения нарушены процессы остео-, ангио- и возможно лимфогенеза. Последнее может быть объяснено сопутствующей соматической патологией [126].

Нами были обнаружены высокие значения концентрации факторов роста: *VEGF, VEGF-R2, FGF-basic, TGF- β 1, TGF- α* и рецептор *Sr SCF* у пациентов с *несовершенным остеогенезом*. Вероятно, что у пациентов с *несовершенным остеогенезом* нарушено образование новых сосудов и формирование фибробластов, основных продуцентов коллагена I типа. Кроме того, в сыворотке крови пациентов с *несовершенным остеогенезом* обнаружено низкое содержание фактора *TGF- β 2* и рецептора *VEGF-R3*, что может указывать не только на преобладание резорбции над образованием костной ткани, но и на нарушение процесса лимфогенеза. Были получены результаты, подтверждающие это данные: уменьшение концентрации *пиридинолина* и увеличение активности *кислой фосфатазы*, а также направление изменения содержания электролитов крови – *кальция, фосфора, магния* и *хлоридов*.

У пациентов с *фосфат-диабетом* до начала лечения достоверно выше оказались сывороточные концентрации факторов *VEGF, VEGF-A, VEGF-R2, TGF- β 1* и *SCF*. Наименьшие значения в сыворотке крови наблюдались для фактора *FGF-basic* и рецептора *VEGF-R3*. В пределах референсных значений находились факторы роста *IGF-1, IGF-2, TGF- α , TGF- β 2* и рецептор *SCF Sr*, а также маркеры остеогенеза *CrossLaps, пиридинолин*. Результаты исследования электролитов крови, *щелочной фосфатазы* и *остеокальцина* свидетельствовали об ускоренном образовании органического матрикса костной ткани и задержке его минерализации у пациентов с *фосфат-*

диабетом. То есть у пациентов с фосфат-диабетом на дооперационном этапе был нарушен процесс костеобразования и ангиогенеза.

Нам удалось установить, что во всех исследуемых группах на дооперационном этапе был нарушен процесс костеобразования и васкуляризации. Эти нарушения имеют свои особенности в каждой группе обследуемых больных. Так, у пациентов с *врожденным ложным суставом голени* происходили наименьшие изменения концентрации остеогенных факторов роста, их рецепторов и маркеров остеогенеза в крови до оперативного вмешательства. У пациентов с *несовершенным остеогенезом* в сыворотке крови был наибольший дисбаланс содержания факторов роста по сравнению с *контрольной группой*. Также нами обнаружено, что, вопреки ожиданиям, у всех обследуемых групп больных не происходят изменения по сравнению с *референсной группой* таких факторов роста, как *IGF-1* и *IGF-2*.

Ортопедическое лечение пациентов с врожденными наследственными заболеваниями костной ткани осуществляется по методу академика Г.А. Илизарова. На сегодняшний день метод Илизарова является наиболее эффективным при устранении различных деформаций опорно-двигательного аппарата.

Во время ортопедического лечения по методу Masquelet у пациентов с *врожденным ложным суставом голени* происходило увеличение на начальных этапах (3–5; 7–10 сутки) факторов роста *VEGF*, *IGF-2*, *TGF- α* , *TGF- β 1*, *TGF- β 2*, а также рецепторов *VEGF-R2*, уменьшение рецептора *VEGF-R3* и фактора *FGF-basic*, что сопровождалось приспособительной перестройкой метаболизма в костной ткани и выражалось в увеличении маркеров резорбции *CrossLaps* (на 9 %), *пиридинолина* (на 6 %), *кислой фосфатазы* (на 10 %) и уменьшения уровня маркеров костеобразования *остеокальцина* (на 67 %), *щелочной фосфатазы* (на 15 %). На поздних сроках ортопедического лечения (30 сутки) на фоне уменьшения сывороточных концентраций (по сравнению с дооперационными значениями) факторов роста *IGF-1* (на 15 %), *SCF* (32 %) и увеличения в

крови факторов роста *TGF-β2* (77 %) были выявлены уменьшения содержания маркера *CrossLaps* на 8 %, *остеокальцина* на 60 %, *неорганического фосфора* на 0,1 ммоль/л и *магния* на 0,07 ммоль/л. При этом концентрация *VEGF* и рецептора *VEGF-R2* на протяжении всего лечения была повышена, а концентрация *VEGF-R3* понижена.

Результаты нашего исследования показали, что у пациентов с врожденным ложным суставом голени течение стадий репаративной регенерации было замедлено, восстановление костной ткани происходило отсрочено более чем на 2 недели. Лишь к 30-м суткам завершался процесс резорбции и начиналась стадия формирования костного матрикса, что подтверждалось высвобождением большого количества факторов роста *TGF-α*, *TGF-β2* и маркеров перестройки костной ткани [180, 201, 231, 234]. При этом весь процесс репаративной регенерации происходил на фоне многократного увеличения содержания ангиогенных факторов роста *VEGF* и *VEGF-A* и их рецептора *VEGF-R2* в сыворотке крови, что свидетельствовало о патологической активности воспалительных процессов в соединительной ткани [16, 186, 256, 352, 353, 397].

У пациентов с *несовершенным остеогенезом* после применения остеосинтеза аппаратом Илизарова с использованием интрамедуллярного армирования на 30-е сутки было обнаружено увеличение факторов роста *IGF-2*, *VEGF*, *VEGF-R2* (22 %), *VEGF-R3* (4 %), *TGF-β1* (55 %) и уменьшение факторов роста *FGF-basic* (320 %), *TGF-β2* (21 %), *TGF-α* (56 %), *SCF* (28 %), что сопровождалось изменением концентрации маркеров остеогенеза. Наблюдалось увеличение концентрации для *пиридинолина* на 115 % и активности *щелочной фосфатазы* на 85 %, уменьшение *кислой фосфатазы* на 16 %. Увеличение обнаружено также в сывороточных концентрациях *кальция* на 0,14 ммоль/л и *неорганического фосфора* на 0,12 ммоль/л, *хлоридов* на 30 ммоль/л. Это могло быть вызвано нарушениями молекулярно-клеточных взаимодействий остеобластного и остеокластного происхождения в процессах костного ремоделирования [65, 66]. У данной категории больных

лишь к 30–60 суткам после операции происходила активация остеобластов и активное формирование костного матрикса, о чем свидетельствовало высокое содержание в сыворотке крови IGF-2 и TGF- α , а также маркера биосинтетической активности – ЩФ, при одновременном снижении концентрации TGF- β 1, КФ и PVD [101, 188].

При этом репаративное ремоделирование костной ткани у пациентов с несовершенным остеогенезом происходило в условиях дальнейшего увеличения ангиогенного фактора VEGF и его рецептора VEGF-R2 более чем в 2,5 раза. Таким образом, сывороточные концентрации факторов роста и маркеров остеогенеза в послеоперационном периоде у пациентов с несовершенным остеогенезом указывали на существенные нарушения процессов костного ремоделирования, которые выражались, прежде всего, в расстройствах остеокласт – остеобластного взаимодействия.

У пациентов с фосфат-диабетом на начальном этапе (5–7 дней) лечения происходило увеличение факторов роста *VEGF*, *VEGF-A*, а также уменьшение *IGF-1*, *IGF-2*, *VEGF-R2*, *FGF-basic* и *TGF- β 1*, которое сопровождалось уменьшением маркеров костеобразования: *остеокальцина* на 20 % и активности *щелочной фосфатазы* на 128 %. Активность маркера резорбции *кислой фосфатазы* увеличивалась на 42 %, наряду с увеличением маркеров костной ткани *CrossLaps* на 65 %. Увеличение обнаружено и для концентрации *кальция* на 5–7 сутки на 0,08 ммоль/л, при уменьшении *неорганического фосфора* на 0,07 ммоль/л. Наибольшие изменения обнаружены по сравнению с дооперационными значениями были обнаружены на отдаленном этапе (90 сутки) у пациентов с *фосфат-диабетом*. Увеличились концентрации *IGF-1*, *IGF-2* *VEGF*, уменьшилась *VEGF-A*, *VEGF-R2*, *VEGF-R3*, *FGF-basic*, *TGF- β 2* *SCF* и его рецептора *Sr SCF*. Маркеры ремоделирования костной ткани к окончанию лечения возвращались к дооперационным значениям, исключение составили электролиты. *Неорганический фосфор* увеличился на 0,2 ммоль/л и *магний* уменьшился на 0,06 ммоль/л. Все перечисленное свидетельствовало о

высокой синтетической активности остеобластов. Однако известно, что вновь синтезированный в процессе ремоделирования кости матрикс соответствует нормальному строению только при определенном уровне активности остеокластов [300, 301, 313, 314, 323, 324]. Увеличение содержания VEGF в сыворотке крови составило более 1500 %, VEGF-A и VEGF-R2 более чем в 2000 %, что по мнению ряда авторов, вызывает дальнейшее нарушение формирования пула активных остеокластов [266]. Таким образом, у больных с фосфат-диабетом происходило патологическое ремоделирование костной ткани, связанное с нарушением клеточно-молекулярных механизмов, обеспечивающих морфо-функциональный гомеостаз костной ткани.

Остеорепарация является динамическим биологическим процессом, который, кроме стадии воспаления и восстановления тканью утраченной или поврежденной специализированной структуры, включает также все фазы и стадии ремоделирования кости [199]. Наибольшие изменения в протекании стадий репаративного остеогенеза происходили у пациентов фосфат-диабетом во время ортопедического лечения. У этих пациентов происходило патологическое ремоделирование костной ткани, связанное с нарушением клеточно-молекулярных механизмов, обеспечивающих морфо-функциональный гомеостаз костной ткани. Наименьшие изменения были обнаружены у пациентов с врожденным ложным суставом.

ВЫВОДЫ

1. В условиях физиологического ремоделирования костной ткани в крови условно здоровых детей и взрослых отсутствуют выраженные количественные различия в содержании пиридинолина, TGF- β 1, FGF-basic, IGF-2; наибольшие половые различия наблюдаются в содержании рецептора VEGF-R2 и факторов роста TGF- β 2, TGF- α , SCF; достоверно были изменены в зависимости от возраста остеотропные факторы роста и рецепторы TGF- α , IGF-1, VEGF-A, VEGF-R3, SCF, sR SCF, а также маркеры остеогенеза CrossLaps и остеокальцин.

2. В крови больных с врожденным ложным суставом до оперативного вмешательства ангиогенные факторы роста (VEGF, FGF-basic) превышали референсные значения на 20 %, их рецептор VEGF-R2, а также трансформирующие факторы роста TGF- β 1 и TGF- α – в три раза превышали референсные значения; трансформирующие факторы роста- β 2 и ангиогенные рецепторы VEGF-R3 были снижены более чем в 3 раза по сравнению с условно здоровыми.

3. В крови больных с несовершенным остеогенезом до оперативного вмешательства васкулярноэндотелиальные факторы роста (VEGF, FGF-basic) и их рецептор VEGF-R2 в 2 раза превышали значения условно здоровых лиц, трансформирующие факторы роста TGF- β 1 и TGF- α – превышали в 1,5 раза; трансформирующий фактор роста- β 2 и ангиогенный рецептор VEGF-R3 был снижен в два раза по сравнению с референсными значениями.

4. В крови больных с фосфат-диабетом до оперативного вмешательства васкулярноэндотелиальные факторы роста (VEGF, VEGF-A), их рецептор VEGF-R2 и трансформирующий фактор роста- β 1 в 8 раз превышали показатели референсных значений; содержание FGF-basic и рецептора VEGF-R3 были в 5 раз ниже в сравнении с условно здоровыми лицами.

5. После проведенного оперативного вмешательства в костной ткани у пациентов с врожденным ложным суставом происходит замедление репаративного остеогенеза при сохранении его этапности; у пациентов с несовершенным остеогенезом наблюдаются глубокие нарушения костного ремоделирования, вызванные сбоем остеокласт – остеобластного взаимоотношения; у пациентов с фосфат-диабетом происходит патологическое ремоделирование костной ткани с нарушением фаз репаративного остеогенеза.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Исследование концентрации факторов роста и их рецепторов в сыворотке крови условно здоровых детей и взрослых позволяет выявить половые и возрастные отличия, которые могут быть использованы при обработке данных различного рода патологий.

2. У пациентов с врожденным ложным суставом голени, при коррекции в аппарате Илизарова, начиная с 3-х суток после операции, необходимо учитывать в сыворотке крови содержание трансформирующих факторов роста- β , а также маркеров резорбции CrossLaps, пиридинолина и активность кислой фосфатазы. При уменьшении концентрации данных факторов и маркеров на 5-10 сутки необходима медикаментозная коррекция препаратами, стимулирующими репаративный остеогенез и подавляющими резорбцию костной ткани.

3. Пациентам с несовершенным остеогенезом и фосфат-диабетом после хирургического вмешательства необходимо применение препаратов, стимулирующих костеобразование.

4. Пациентам с нарушениями опорно-двигательного аппарата, начиная с 3-х суток после операции, рекомендуется контролировать уровень ангиогенных факторов роста, отвечающих за воспаление. При увеличении содержания в периферической крови васкулярноэндотелиальных факторов (VEGF, VEGF-A) и их рецепторов (VEGF-R2, VEGF-R3, sVEGF-R1) необходимо назначение препаратов, снижающих воспаление (ННВП, ГКС).

5. Оценка степени тяжести течения заболеваний, связанных с нарушениями опорно-двигательного аппарата, должна включать поэтапное исследование концентрации факторов роста, а также маркеров остеогенеза в сыворотке крови. Такая оценка направлена на выявление нарушения

процессов костного ремоделирования, а также процессов ангио- и лимфогенеза.

6. Для мониторинга процессов костного ремоделирования у пациентов с врожденным ложным суставом голени необходимо отслеживать динамику изменения следующих показателей:

А) на 7–10 сутки после операции: IGF-2, TGF- β 1, TGF- α , VEGF, VEGF-R2, VEGF-R3, неорганический фосфор;

Б) на 12–14 сутки после операции: IGF-1 TGF- β 2, TGF- α , CrossLaps, остеокальцина, ЩФ;

В) на 30 сутки после операции: TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- α , VEGF-A, FGF-basic, VEGF-R3, остеокальцина, ЩФ, фосфор неорганический.

7. Для мониторинга процессов костного ремоделирования у пациентов с несовершенным остеогенезом необходимо отслеживать динамику изменения следующих показателей:

А) на 30 сутки после операции: IGF-2, SCF, TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- α , КФ, пиридинолин;

Б) на 60 сутки после операции: TGF- β 1, TGF- β 2, FGF-basic, ЩФ, пиридинолин.

8. Для мониторинга процессов костного ремоделирования у пациентов с фосфат-диабетом необходимо отслеживать динамику изменения следующих показателей:

А) на 30 сутки после операции: TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- α , VEGF-A, VEGF, VEGF-R2, VEGF-R3, КФ, ОК;

Б) на 60 сутки после операции: TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- α , VEGF-A, VEGF, VEGF-R2, VEGF-R3, пиридинолин, ОК и ЩФ.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

CrossLaps – кросслабс

FGF-basic – фактор роста фибробластов (основная форма)

IGF-1 (ИПФР-1) – инсулинподобный фактор роста – 1

IGF-2 (ИПФР-2) – инсулинподобный фактор роста – 2

PYD (ПИД) – пиридинолин

IL-6 - интерлейкин-6

GM-CSF - гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор

G-CSF - гранулоцитарный колониестимулирующий фактор

SCF – фактор роста стволовых клеток

sR SCF – растворимая форма рецептора фактора роста стволовых клеток

TGF- α – трансформирующий фактор роста альфа

TGF- β 1 – трансформирующий фактор роста бета-1

TGF- β 2 – трансформирующий фактор роста бета-2

VEGF – васкулярноэндотелиальный фактор роста

VEGF-A - васкулярноэндотелиальный фактор роста – A

VEGF-R2 - васкулярноэндотелиальный рецептор – 2

VEGF-R3 - васкулярноэндотелиальный рецептор – 3

БАВ – биологические активные вещества

БАМ – биологические активные молекулы

ВЛС - врожденный ложный сустав

ДПИД – деоксиридинолин

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИФА – иммуноферментный анализ

КМБ (ВМР) – костно-морфогенетические белки

КТ – кальцитонин

КФ – кислая фосфатаза

НО – несовершенный остеогенез

ОК - остеокальцин

ПТГ – паратериоидный гормон

СТГ – соматотропный гормон

ТрКФ – тартрат резистентная кислая фосфатаза

УЗЛ – условно здоровые лица

ФД – фосфат-диабет

цАМФ – циклическая азенозинмонофосфат

ЩФ – щелочная фосфатаза

ЭФР – эпидермальный фактор роста

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аврунин, А.С. Гипотеза о роли клеток остеоцитарного ряда в формировании стабильной морфологической структуры минералов костного матрикса / А.С. Аврунин, Н.В. Корнилов, Ю.П. Марин // Морфология. – 2002. – Т. 22, № 6. – С. 74-77.
2. Аврунин, А.С. Остеоцитарное ремоделирование: история вопроса, современные представления и возможности клинической оценки / А.С. Аврунин // Травматология и ортопедия России. – 2012. – № 1 (63). – С. 128-134.
3. Антонова, О.А. Возрастная анатомия и физиология / О.А. Антонова. – Москва: Высш. образование, 2006. – С. 143-156.
4. Арутюнян, И.В. Роль рецепторов VEGF-A165 в ангиогенезе / И.В. Арутюнян, Е.Ю. Кананыхина, А.В. Макаров // Гены и клетки. – 2013. – Т. 8, № 1. – С. 12-18.
5. Базарный, В.В. Клеточные механизмы реализации эффектов физических факторов на ремоделирование костной ткани / В.В. Базарный, А.И. Исайкин, Н.Б. Крохина // Вестн. травматологии и ортопедии им. В.Д. Чаклина. – 2010. – № 2. – С. 18-20.
6. Баранова, Т.И. Фосфат-диабет у детей / Т.И. Баранова, В.А. Михно // Забайкальский мед. журн. – 2017. – № 4. – С. 7-9.
7. Березов, Т.Т. Биологическая химия / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. – Москва: Медицина, 2002. – 704 с.
8. Берченко, Г.Н. Биология заживления переломов кости и влияние биокомпозиционного наноструктурированного материала КОЛЛАПАН на активизацию репаративного остеогенеза / Г.Н. Берченко // Медицинский алфавит. Больница. – 2011. – № 1. – С. 12-1.

9. Биохимические маркеры костного ремоделирования у онкологических больных с поражением скелета / Н.В. Любимова, И.Ю. Бронников, С.П. Робин, и др. // *Вопр. онкологии.* – 2000. – № 3. – С. 290-297.

10. Биохимические маркеры костного метаболизма – предикторы развития структурно-функциональных изменений костной ткани / А.М. Игнатъев, Т.А. Ермоленко, и др. // *Лабораторная диагностика. Восточная Европа.* – 2015. – № 2 (14). – С. 70-76.

11. Биохимические маркеры метаболизма костной ткани и их влияние на нестабильность атеросклеротических очагов в сосудистой стенке / Я.В. Полонская, Е.В. Каштанова, И.С. Мурашов, и др. // *Рос. кардиолог. журнал.* – 2016. – Т. 139, № 11. – С. 66-69.

12. Биохимия человека: в 2-х т. / Р. Марри, Д. Греннер, П. Мейес, В. Родуэлл. – Москва: Мир, 1993. – Т.2. – 415 с.

13. Брыкина, И.А. Новые аспекты иммунологической регуляции регенерации органов / И.А. Брыкина, И.Г. Данилова // *Вестн. Уральской мед. академ. науки.* – 2010. – Т. 29, № 2/1. – С. 18.

14. Вавилов, В.В. Факторы роста в лечении выпадения волос: перспективы применения / В.В. Вавилов, А.Г. Гаджигороева // *Вестн. эстет. медицины.* – 2014. – Т. 13, № 3-4. – С. 136-140.

15. Вавилова, Т.П. Биохимия тканей и жидкостей полостей рта: учеб. пособие / Т.П. Вавилова. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 208 с.

16. Вартамян, А.А. Основные закономерности ангиогенеза при онкогематологических заболеваниях / А.А. Вартамян // *Клиническая онкогематология.* – 2013. – Т. 6, № 4. – С. 343–353.

17. Варюшина, Е. А. Провоспалительные цитокины в регуляции процессов воспаления и репарации: дис. ... д-ра биол. наук: 03.03.03 / Варюшина Елена Анатольевна. – Москва, 2013. – С. 56.

18. Викторова, И.А. Несовершенный остеогенез: полиморфизм клинических проявлений и тактика лечения / И.А. Викторова, Н.В. Коншу, Д.С. Иванова // Архив внутренней медицины. – 2015. – Т. 22, № 2. – С. 69-73.

19. Влияние остеогенона на биохимические маркеры метаболизма костной ткани при хирургическом лечении псевдоартрозов, осложненных иммобилизационным остеопорозом / Е.Б. Трифонова, С.В. Гюльназарова, А.В. Осипенко, и др. // Вестн. травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2008. – № 3. – С. 43-47.

20. Возрастная физиология: (Физиология развития ребенка): учеб. пособие для студ. высш. пед. учеб. заведений / М.М. Безруких, В.Д. Сонькин, Д.А. Фарбер. – Москва: Издат. центр «Академия», 2003. – 416 с. Режим доступа: <https://studfiles.net/preview/1812044/> (дата обращения: 05.04.2018).

21. Волков, М.В. Болезни костей у детей / М.В. Волков. – Москва: Медицина, 1974. – 512 с.

22. Волков, М.В. Костная патология детского возраста / М.В. Волков. – Москва: Медицина, 1968. – 496 с.

23. Всемирная Организация Здравоохранения: [электр. ресурс]. – Режим доступа: <http://www.who.int/ru/> (дата обращения: 03.03.2018).

24. Выхованец, Е.П. Биохимические показатели сыворотки крови у пациентов с фосфат диабетом / Е.П. Выхованец, С.Н. Лунева, А.А. Рахматулина // XX Менделеевский съезд по общей и прикладной химии: тез. докл.: в 5 т. – Екатеринбург, 2016. – Т. 4. – С. 470.

25. Выхованец, Е.П. Значение некоторых биохимических показателей фосфатно-кальциевого обмена в сыворотке крови больных с орфанными заболеваниями скелета / Е.П. Выхованец, А.И. Митрофанов, Н.В. Сакулин // Перспективы развития фундаментальных наук: [электр. ресурс]: сб. науч. тр. XII Междунар. конф. студентов и молодых ученых. – Томск, 2015. – С. 775-777. Режим доступа: <http://www.lib.tpu.ru/fulltext/c/2015/C21/244.pdf> (дата обращения: 23.07.2018).

26. Выхованец, Е.П. Исследование содержания некоторых факторов роста в сыворотке крови субъективно здоровых людей и людей с врожденными заболеваниями скелета / Е.П. Выхованец // Материалы регионального конкурса на лучшую научную работу среди студентов и аспирантов (молодых ученых) образовательных организаций высшего образования и научных учреждений Курганской области. – Курган, 2017. – С. 32-33.

27. Выхованец, Е.П. Показатели минерального обмена в сыворотке крови пациентов с врожденным ложным суставом голени на этапах лечения по методу индуцирующей мембраны / Е.П. Выхованец, С.Н. Лунева, А.И. Митрофанов // Современные проблемы науки и образования : электр. науч. журн. – 2016. – № 3. – С. 17.

28. Выхованец, Е.П. Применение регуляторных белков костной ткани в травматологии и ортопедии / Е.П. Выхованец, С.А. Мельников, Н.В. Сакулин // Вестник КГУ. – 2015. – № 2 (36). – С. 116-118. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=24986624> (дата обращения: 09.05.2017)

29. Выхованец, Е.П. Содержание некоторых маркеров остеогенеза в сыворотке крови людей с заболеваниями опорно-двигательного аппарата: [электр/ ресурс] / Е.П. Выхованец, С.Н. Лунева // Здоровье человека в XXI веке : сб. науч. ст. X юбилейной Рос. науч.-практ. конф. с междунар. участием (30-31 марта 2018 г.). – Казань, 2018. – С. 389-395.

30. Выхованец, Е.П. Содержание некоторых паракринных факторов роста в сыворотке крови у пациентов с несовершенным остеогенезом / Е.П. Выхованец, А.А. Рахматулина, С.Н. Лунева // Современные технологии в науке и образовании: проблемы, достижения, перспективы: сб. науч. трудов по материалам I междунар. науч.- практ. конф. – Стерлитамак, 2016. – С. 64-68. – Режим доступа: https://elibrary.ru/download/elibrary_28190212_94877297.pdf (дата обращения: 23.07.2018)

31. Гайдышев, И.П. Анализ и обработка данных: спец. справочник / И.П. Гайдышев. – Санкт-Петербург: Питер, 2001. – 752 с.

32. Гайдышев, И.П. Решение научных и инженерных задач средствами Excel, VBA и C/C ++ / И. П. Гайдышев. – Санкт-Петербург: БХВ, 2004. – 512 с.
33. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – Москва: Практика. – 1998. – 459 с.
34. Гололобов, В.Г. Боевые повреждения конечностей: репаративная регенерация костной ткани: (сообщение 5) / В.Г. Гололобов, В.М. Шаповалов // Травматология и ортопедия России. – 2006. – № 2 (40). – С. 304.
35. Голубева, А.А. Редкие генетические заболевания у детей / А.А. Голубева // Бюл. мед. интернет-конференций. – 2013. – Т. 3, № 2. – С. 446.
36. Горидова, Л.Д. Репаративная регенерация кости в различных условиях / Л.Д. Горидова, Н.В. Дедух // Травма. – 2009. – № 1. – С. 88-91.
37. Губин, А.В. Парадигма Илизарова / А.В. Губин, Д.Ю. Борзунов // Гений ортопедии. – 2012. – № 4. – С. 5-9.
38. Гусев, Е.Ю. Иммунологические и патофизиологические механизмы системного воспаления / Е.Ю. Гусев, В.А. Черешнев // Медицинская иммунология. – 2012. – Т. 14, №. 1-2. – С. 9-20.
39. Гусева, Е.С. Карбокситерминальный телопепти коллагена I типа, как предиктор нарушений ритма сердца у беременных женщин с недифференцированной дисплазией соединительной ткани / Е.С. Гусева, Н.В. Ларёва // Сибир. мед. журн. – 2013. – Т. 122, № 7. – С. 86-89.
40. Дедух, Н.В. Значение кальция и витамина D₃ в метаболизме костной ткани / Н.В. Дедух // Проблемы остеологии. – 2002. – Т. 5, № 2-3. – С. 45-48.
41. Дедух, Н.В. Магний и костная ткань / Н.В. Дедух // Остеопороз и остеопатии. - 2003. - № 1. - С. 18-22.
42. Десятниченко, К.С. Неколлагеновые белки костной ткани в регуляции скелетного гомеостаза, минерализации и репаративного

остеогенеза: дис. ... д-ра мед. наук: 03.00.04, 14.00.16 / Десятниченко Константин Степанович. – Челябинск, 1997. – 34 с.

43. Диагностика остеопороза хроматографическими методами / И.В. Золкина, И.С. Мамедов, П.Б. Глаговский, и др. // Лаборатор. служба. – 2016. – Т. 5, № 3. – С. 44.

44. Диваков, М.Г. Асептические некрозы костей и обоснование методов их лечения: дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.22 / Диваков Михаил Григорьевич. – Москва, 1999. – 28 с.

45. Довгалевиц, И.И. Нарушение репаративного остеогенеза при инфицированных дефектах трубчатых костей // Медицинский журнал. – 2017. – № 2 (60). – С. 76-81

46. Дружинина, Т.В. Дистантные молекулярные маркеры физиологической и репаративной регенерации костной ткани: дис. ... канд. мед. наук: 03.00.13; 14.00.16 / Дружинина Татьяна Валерьевна. – Курган, 2008. – 77 с.

47. Ермакова, И.П. Современные биохимические маркеры в диагностике остеопороза / И.П. Ермакова, И.А. Пронченко // Остеопороз и остеопатии. – 1998. – № 1. – С. 24-27.

48. Жуков, Д.В. Влияние факторов роста и биоантиоксиданта тиофана на репаративную регенерацию костной ткани в эксперименте: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.22 / Жуков Дмитрий Викторович. – Новосибирск, 2006. – С. 26.

49. Зайцева, Е.Л. Роль факторов роста и цитокинов в репаративных процессах в мягких тканях у больных сахарным диабетом / Е.Л. Зайцева, А.Ю. Токмакова // Сахарный диабет. – 2014. – № 1. – С. 57-62.

50. Захарова, Н. Ангиогенез и фактор роста эндотелия сосудов при цереброваскулярной патологии / Н. Захарова, О. Воскресенская, Ю. Тарасова // Врач. – 2014. – № 10. – С. 12-13.

51. Ивантер, Э.В. Элементарная биометрия: учеб. пособие / Э.В. Ивантер, А.В. Коросов. – Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2013. – 110 с.

52. Идентификация VEGF-R1 в опухолевых клетках человека / Е.Г. Тырсина, С.И. Никулицкий, А.Н. Иншаков, и др. // Онкогинекология. – 2016. – № 2. – С. 13-21.

53. Изменения функционального состояния сосудистого эндотелия у юных спортсменов различной квалификации / Т.В. Бершова, М.И. Баканов, И.Е. Смирнов, и др. // Рос. педиатр. журнал. – 2016. – Т. 19, № 1. – С. 14-19.

54. Изучение роли трансформирующих факторов роста при лечении пациентов с врожденными системными заболеваниями скелета / Е.П. Выхованец, С.Н. Лунева, Н.В. Накоскина, и др. // Новые горизонты травматологии и ортопедии: сб. науч. ст., посв. 150-летию со дня рождения Р.Р. Вредена. – Санкт-Петербург, 2017. – С. 58-61.

55. Имуноферментативный анализ (ИФА) / Е.С. Воронин, В.Н. Кисленко, Н.М. Колычев, и др. // Ветеринар. микробиология и иммунология. – 2010. – С. 11-12.

56. Ингибиторы опухолевого ангиогенеза: (обзор) / С.М. Киселев, С.В. Луценко, С.Е. Северин, и др. // Биохимия. – 2003. – Т. 68, № 5. – С. 611-631.

57. Использование факторов роста в восстановлении костной ткани (обзор) / В.С. Казакова, В.П. Чуев, О.О. Новиков, и др. // Науч. ведомости Белгород. гос. ун-та. – 2011. – Т. 13, № 4-2 (99). – С. 5-12.

58. Калиниченко, С.Г. Ангиогенное и цитопротективное влияние основного фактора роста фибробластов в фокусе экспериментальной церебральной ишемии / С.Г. Калиниченко, С.П. Щава, Н.Ю. Матвеева // Тихоокеанский мед. журн. – 2009. – № 2. – С. 66-69.

59. Кальций и биосинтез коллагена: систематический анализ молекулярных механизмов воздействия / О.А. Громова, И.Ю. Торшин, И.К. Томилова, и др. // Рус. мед. журн. – 2016. – Т. 24, № 15. – С. 1009-1017.

60. Карбоангидраза как маркер активности остеокластов при репарации зоны перелома длинной кисти / И.А. Шурыгина, М.Г. Шурыгин,

Л.В. Родионова, и др. // Acta Biomedica Scientifica. – 2012. – № 5-2 (87). – С. 120-122.

61. Картамышева, Н.Н. Костное ремоделирование как модель межклеточных взаимодействий: (обзор литературы) / Н.Н. Картамышева, О.В. Чумаков // Нефрология и диализ. – 2004. – Т 6, № 1. – С. 43–46.

62. Катенев, В.Л. КСС. Врожденные ложные суставы: [электр. ресурс] / В.Л. Катенев. – Режим доступа: <https://radiomed.ru/publications/15661-kss-vrozhdenные-lozhные-sustavy> (дата обращения: 13.04.2018).

63. Кишкун, А.А. Биологический возраст и старение: возможности определения и пути их коррекции: рук-во для врачей / А.А. Кишкун. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 415 с.

64. Клеменов, А.В. Наследственные нарушения соединительной ткани: современный подход к классификации и диагностике: (обзор) / А.В. Клеменов, А.С. Суслов // Современные технологии в медицине. – 2014. – Т.6, № 2. – С. 127-137.

65. Климовицкий, В.Г. Клеточные механизмы нарушения репаративного остеогенеза / В.Г. Климовицкий, В.М. Оксимец, А.Г. Попандопуло // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2011. – № 2. – С. 5-16.

66. Клиническая биохимия / А.Я. Цыганенко, В.И. Жуков, В.В. Мясоедов, и др. – Москва: Триада-Х, 2002. – 504 с.

67. Клинический случай синдрома Бролика (несовершенного остеогенеза II типа) у девочки / В.А. Сорокина, Р.О. Цуцаев, Т.М. Вдовина, и др. // Вестн. молодого ученого. – 2017. – Т. 16, № 1. – С. 49-56.

68. Ковалик, В.А. ИФА, ПИФ или ПЦР: какой метод лабораторной диагностики лучше: [электр. ресурс]. – 2016. – Режим доступа: <http://www ldc tom ru>.

69. Коваль, С.Н. Семейство васкулоэндотелиального фактора роста и его возможная роль в патогенезе артериальных гипертензий / С.Н. Коваль,

И.А. Снегурская, О.В. Мысниченко // Артериальная гипертензия. – 2012. – Т.24, № 4. – С. 85-93.

70. Козлова, А.В. Содержание сосудисто-эндотелиального фактора роста и его растворимых форм рецепторов I и II типа в слезной жидкости при длительном применении мягких контактных линз из различных материалов / А.В. Козлова, Ю.А. Витковский // Забайкальский мед. вестн. – 2012. – № 2. – С. 101-105.

71. Козлова, С.И. Наследственные синдромы и медико-генетическое консультирование / С.И. Козлова. – Москва: Медицина, 1996. – 416 с.

72. Компоненты фракционированной плазмы крови и их роль в механизме оптимизации репаративного остеогенеза / О.Л. Гребнева, Д.В. Самусенко, М.А. Ковинька, и др. // Гений ортопедии. – 2013. – № 2. – С.102-105.

73. Корж, А.А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Стадии регенерации: (сообщение 1) / А.А. Корж, Н.В. Дедух // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2006. – № 1. – С. 77-84.

74. Костив, Р.Е. Трофические факторы роста костной ткани, их морфогенетическая характеристика и клиническое значение / Р.Е. Костив, С.Г. Калиниченко, Н.Ю. Матвеева // Тихоокеанский мед. журн. – 2017. – № 1. – С. 10-16.

75. Крымшокова, З.С. Оптимизация диагностики и патогенетической терапии задержки роста плода: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Ростовский государственный медицинский университет. – Ростов-на-Дону, 2009. – С. 81.

76. Кубанов, А.А. Оценка терапевтической эффективности препарата селецин в комплексной терапии алопеции / А.А. Кубанов, Ю.А. Галлямова, О.А. Селезнева // Фарматека. – 2016. – № 2. – С. 34-42.

77. Кубанов, А.А. Роль пептидов факторов роста в физиологии волос / А.А. Кубанов, Ю.А. Галлямова, О.А. Селезнева // Вестн. дерматологии и венерологии. – 2015. – № 3. – С. 54-61.

78. Кузнецова, О.М. Роль фактора роста эндотелия сосудов в развитии ангиогенеза костной ткани / О.М. Кузнецова, Т.Т. Березов // Вестн. Рос. ун-та дружбы народов. – 2004. – № 3. – С. 18-22.

79. Кузнецова, О.М. Факторы роста эндотелия сосудов: особенности секреции в костной ткани в норме и при патологии / О.М. Кузнецова, Н.Е. Кушлинский // Биомедицинская химия. – 2003. – Т. 49, № 4. – С. 360-373.

80. Кузник, Б.И. Факторы роста фибробластов FGF19, FGF21, FGF23 как эндокринные регуляторы физиологических функций и геропротекторы. Эпигенетические механизмы регуляции / Б.И. Кузник, В.Х. Хавинсон, Н.С. Линькова // Успехи современной биологии. – 2017. – Т. 137, № 1. – С. 84-99.

81. Лаборатория Ditrux medical: [электр. ресурс] // Медицинские анализы. Тартрат резистентная кислая фосфатаза. – Режим доступа <http://www.ditrux.ru>.

82. Лабораторная диагностика. Факторы роста: [электр. ресурс]. - Режим доступа: <http://www.ld.ru/proteins>.

83. Лабораторный мониторинг послеоперационного течения при устранении осевых деформаций нижних конечностей посредством чрескостного остеосинтеза / К.С. Десятниченко, Л.В. Скляр, И.П. Гайдышев, и др. // Актуальные вопросы детской травматологии и ортопедии: материалы науч.-практ. конф. – Санкт-Петербург, 2000. – С. 129-132.

84. Левин, М.Я. Остеокальцин как чувствительный маркер метаболизма костной ткани у высококвалифицированных спортсменов / М.Я. Левин, Н.М. Жаринов, С.Г. Круглов // Материалы международной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ. – Санкт-Петербург, 2016. – С. 46-47.

85. Мазуренко, С.О. Остеопороз: диагностика и лечение: [электр. ресурс]. – Режим доступа: med122.com

86. Маршалл, В.Дж. Клиническая биохимия / В.Дж. Маршалл. – Москва: Бином, 2002. – 384 с.
87. Меженина, Е.П. Врожденные уродства / Е.П. Меженина. – Киев: Здоров'я, 1974. – 143 с.
88. Метаболизм андрогенов в злокачественных опухолях костей / Н.Е. Кушлинский, В.Г. Дегтярь, и др. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2000. – № 1. – С. 90-92.
89. Метаболизм костной ткани и остеопороз / М.И. Шупина, Г.И. Нечаева, Д.В. Шупин, и др. // Лечащий врач. – 2015. – № 10. – С. 78-82.
90. Министерство здравоохранения Российской Федерации: [электр. ресурс] Перечень редких (орфанных) заболеваний. Международная классификация болезней (МКБ 10). – Режим доступа <http://mkb-10.com>.
91. Мирская, М.Б. Диагностика нарушений и заболеваний костно-мышечной системы современных школьников: подходы, терминология, классификация / М.Б. Мирская, А.Н. Коломенская // Вопр. современной педиатрии. – 2009. – Т. 8, № 3. – С.10-12.
92. Молекулярные маркеры генов инсулиноподобных факторов роста при новообразованиях костных тканей / О.В. Алейникова, Л.П. Киселев, Т.В. Савицкая, и др. // Онколог. журн. – 2017. – Т. 11, № 4 (44). – С. 87-94.
93. Морозова, Ю.А. Маркеры метаболизма костной ткани / Ю.А. Морозова // Справочник заведующего КДЛ. – 2014. – № 1. – С. 27-32.
94. Мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) в оценке кости у больных с врожденным ложным суставом голени / С.А. Кутиков, Г.В. Дьячкова, Д.Ю. Борзунов, и др. // Гений ортопедии. – 2013. – № 1. – С. 61-65.
95. Мусаева, А.В. Особенности течения и лечения фосфат-диабета в зависимости от типа наследования у детей и подростков / А.В. Мусаева, Н.Д. Савенкова // Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии: материалы IX Рос. конгресса по детской нефрологии в рамках X рос. конгресса. – Москва, 2011. – С. 214-215.

96. Надыршина, Д.Д. Молекулярно-генетические основы несовершенного остеогенеза / Д.Д. Надыршина, Р.И. Хусаинова, Э.К. Хуснутдинова // Мед. генетика. – 2013. – Т. 12, № 6 (132). – С. 15-20.

97. Надь, Ю.Г. Прогнозирование риска остеопороза при нарушении секреции пролактина с использованием биохимических маркеров (остеокальцин, В-кросслапс) / Ю.Г. Надь // Рос. биомед. журн. - 2010. - Т. 11, № 1. - С. 12-18.

98. Наседкина, А.К. Иммуноферментный анализ. Суть, принцип метода и этапы исследования: [электр. ресурс] – 2017. – Режим доступа: <http://www.polismed.com>.

99. Научное наследие академика Г.А. Илизарова: взгляд из прошлого в будущее (часть 1) (95-летию со дня рождения академика Г.А. Илизарова, 65-летию метода чрескостного остеосинтеза по Илизарову посвящается) / А.В. Губин, Д.Ю. Борзунов, Л.О. Марченкова, и др. // Гений ортопедии. – 2016. – № 2. – С. 6-12.

100. Неверова, Ю.Н. Современные принципы ускорения регенерации костной ткани / Ю.Н. Неверова, М.В. Соловьева // Фундаментальные науки и практика. – 2011. – Т. 3, № 1. – С.26.

101. Недич, О. Изучение четырех комплексов IGF-связывающих белков, циркулирующих в крови человека, и старение / О. Недич, М. Зандерич, Н. Глигориджевич // Биохимия. - 2018. - Т. 83, № 1. - С. 109-116

102. Несовершенный остеогенез патогенез, классификация, клиническая картина лечения / В.В. Поворознюк, Е.Я. Гречанина, Н.И. Балацкая, и др. // Ортопедия, травматология и протезирование. - 2009. - № 4 (576). - С. 110-117.

103. Несовершенный остеогенез: внутрисемейный клинический полиморфизм этиологически единой формы заболевания / Н.М. Марычева, Д.Д. Надыршина, Р.И. Хусаинова, и др. // Педиатрия. – 2014. – Т. 93, № 6. - С. 198-199.

104. Нечаев, К.А. Вариабельность экспрессии гена остеопонтина при влиянии различных факторов остеогенеза и их комбинаций: материалы III региональной конференции «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии» / К.А. Нечаев, О.В. Кокорев // Сибир. онколог. журнал. – 2008. – Прил. № 1. – С. 95-96.

105. Николаев, А.Я. Биологическая химия / А.Я. Николаев. – Москва: Мед. инфор. агентство, 2004. – 566 с

106. Новиков, П.В. Рахит и наследственные рахитоподобные заболевания у детей / П.В. Новиков. – Москва: Триада, 2006. – 336 с.

107. Новый подход к анализу биологически активных веществ растительного происхождения с целью разработки БАД к пище для поддержания здоровья костей / Д. Фаст, А. Чандра, Ю. Лин, и др. // Вопр. диетологии. – 2014. – Т. 4, № 3. – С. 16-20.

108. Нутини, А. Теоретическая модель перестройки костной ткани / А. Нутини // Рос. журн. биомеханики. – 2015. – Т. 19, № 4. – С. 385-397.

109. О перечне централизованнокупаемых за счет средств Федерального бюджета лекарственных средств: распоряжение Правительства РФ от 31.12.2008 № 2053-р // Собрание законодательства РФ. – 2009. – № 2. – Ст. 334.

110. О порядке ведения Федерального регистра лиц, страдающих жизнеугрожающими и хроническими прогрессирующими редкими (орфанными) заболеваниями, приводящими к сокращению продолжительности жизни граждан или их инвалидности, и его регионального сегмента: постановление Правительства РФ от 26.04.2012 № 403 // Собрание законодательства РФ. – 2012. – № 19. – Ст. 2428.

111. О программе государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи на 2014 и плановый период 2015 и 2016 годов: постановление Правительства РФ от 18.10.2013 № 932 // Собрание законодательства РФ. – 2013. – № 43. – Ст. 5558.

112. Об обращении лекарственных средств: Федер. закон: [принят Гос. Думой 12 апр. 2010 г.] // Собрание законодательства РФ. – 2010. – № 16. – Ст. 1815.

113. Общая врачебная практика: диагностическое значение лабораторных исследований: учеб. пособие / под ред. С.С. Вялова, С.А. Чорбинской. – Москва: МЕДпресс-информ, 2010. – 176 с.

114. Остеолектин – новый фактор роста костной ткани для лечения остеопороза: [электр. ресурс] // Медицинские новости / Наука и технологии. – Режим доступа: <http://medbe.ru>.

115. Остеопластическая эффективность различных форм гидроксиапатита по данным экспериментально морфологического исследования / А.С. Григорян, А.И. Воложин, В.С. Агапов, и др. // Стоматология. – 2000. – № 3. – С. 4-8.

116. Остеопластические препараты нового поколения «Гамалант», содержащие факторы роста и регенерации костной ткани / М.С. Бартов, А.С. Карягиан, А.В. Громов, и др. // Кафедра травматологии и ортопедии. – 2012. – № 2. – С. 21-25.

117. Остеопороз. Диагностика, профилактика и лечение / под ред. О.М. Лесняк, Л.И. Беневоленской. – Москва: ГЭОТАР-Медия, 2009. – 272 с. – (Серия « Клинические рекомендации»).

118. Оценка изменения концентрации ряда факторов роста семейства TGF в сыворотке крови на этапах distractionного остеосинтеза аппаратом Илизарова / Е.П. Выхованец, Н.В. Сакулин, С.Н. Лунева, и др. // Вестн. новых мед. технологий. – 2017. – Т. 24, № 1. – С. 187-190.

119. Оценка результатов удлинения нижних конечностей у больных с системными заболеваниями скелета, сопровождающимися патологически низким ростом / А.А. Щукин, А.М. Аранович, А.В. Попков, и др. // Гений ортопедии. – 2014. – № 2. – С. 44-51.

120. Пальцева, М.А. Лекции по общей патологической анатомии : учеб. пособие / М.А. Пальцева. – Москва, 2003. – 254 с.

121. Перспективы использования препаратов на основе органических солей кальция. Молекулярные механизмы кальция / О.А. Громова, И.Ю. Торшин, Т.Р. Гришина, и др. // Лечащий врач. – 2013. – № 4. – С. 42–44.

122. Перспективы патогенетического лечения больных несовершенным остеогенезом с использованием элементов нанотехнологий / А.В. Попков, А.В. Карлов, А.Я. Коркин, и др. // Гений ортопедии. – 2009. – № 1. – С. 70-74.

123. Петрашенко, П.Р. Актуальные вопросы врачебно-трудовой экспертизы, медицинская и социальная реабилитация. Социальная реабилитация больных с несовершенным остеогенезом. – Днепропетровск, 1980.

124. Поворознюк, В.В. Лечение несовершенного остеогенеза: обзор литературы и результаты собственных исследований / В.В. Поворознюк, Н.И. Балацкая, В.М. Вайда // Боль. Суставы. Позвоночник. – 2012. – № 2. – С. 17-23.

125. Поворознюк, В.В. Маркеры метаболизма костной ткани и их клиническое значение при хронической обструктивной болезни легких / В.В. Поворознюк, Н.П. Масик // Журнал Гродненского гос. мед. ун-та. - 2013. - № 2 (42). - С. 65-68.

126. Поздеев, А.П. Особенности течения врожденных ложных суставов костей голени у детей дистрофического и диспластического генеза / А.П. Поздеев, Е.А. Захарьян // Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста. – 2014. – Т. 2, № 1. – С. 78-84.

127. Притчард, Д.Дж. Наглядная медицинская генетика / Д.Дж. Притчард, Б.Р. Корф; пер. Е.С. Ворониной. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 204 с.

128. V тип несовершенного остеогенеза. Наблюдение редкого случая / Г.Т. Яхяева, Т.В. Маргиева, Л.С. Намазова-Баранова, и др. // Педиатрическая фармакология. – 2015. – Т. 12, № 1. – С. 79-84.

129. Рецепторы фактора роста фибробластов при злокачественных опухолях / М.Ю. Федянин, Д.Н. Хмелькова, Т.С. Серебрянская, и др. // Злокачественные опухоли. – 2014. – № 4 (11). – С. 19-34.

130. Рожинская, Л.Я. Системный остеопороз: практ. рук. – Москва: Мокеев, 2000. – С. 14-22.

131. Роль рецептора - 2 VEGF (KDR/FLK-1) в кардиомиогенезе и цитопротекторных реакциях / И.О. Мешков, Е.И. Новоселова, Г.М. Бушманова, и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – С. 226.

132. Романова, Л.К. Регуляция восстановительных процессов / Л.К. Романова. – Москва: Изд-во МГУ, 1984. – 209 с.

133. Рудой, А.С. Роль трансформирующего ростового фактора β в иммунопатогенезе заболеваний соединительной ткани / А.С. Рудой, А.В. Москалев, В.Б. Сбойчаков // Клиническая лабораторная диагностика. – 2016. – № 61 (2). – С. 103-106.

134. Саблина, Ю.А. Регуляция экспрессии гена фактора роста эндотелия сосудов VEGF-C межклеточными взаимодействиями в популяции клеток / Ю.А. Саблина, Е.С. Какпакова, А.Ф. Карамышева // Биологические мембраны: журн. мембранной и клеточной биологии. – 2005. – Т. 22, № 4. – С. 300-307.

135. Сагаловски, С. Остеопороз: клеточно-молекулярные механизмы развития и молекулы-мишени для поиска новых средств лечения заболевания / С. Сагаловски // Остеопороз и остеопатии. – 2012. – № 1. – С. 15-22.

136. Сертакова, А.В. Биомаркеры ремоделирования костной ткани и ростовые факторы роста в диагностике стадий остеонекроза головки бедра у детей / А.В. Сертакова, И.А. Норкин, С.А. Рубашкин // Молекулярная медицина. – 2014. – № 6. – С. 25-29.

137. Сметник, В.П. Новые подходы к терапии постменопаузального остеопороза / В.П. Сметник // Consilium medicum. – 2008. – № 6. – С. 23-27.

138. Смирнов, А.В. Строение и функции костной ткани в норме и при патологии: (сообщение II) / А.В. Смирнов, А.Ш. Румянцев // Нефрология. – 2015. – Т. 19, № 1. – С. 8-17.

139. Современные представления об обмене коллагена и его регуляции: обзор / Е.Г. Бутолин, И.И. Мосягин, Н.В. Савинова, и др. // Биохимия соединительной ткани: сб. науч. ст., посв. 70-летию каф. биохимии ИГМА. – Ижевск, 2005. – С. 25-36.

140. Содержание VEGF и VEGFR-2 в сыворотке крови и опухоли больных раком почки с учетом клинико-морфологических признаков заболевания / М.Ф. Трапезникова, П.В. Глыбин, В.Г. Туманян, и др. // Клин. лаборатор. диагностика. – 2010. – № 9. Материалы IV съезда научного общества специалистов клин. лаборатор. диагностики России. – С. 29.

141. Содержание некоторых биомаркеров эндотелиальной функции сосудов у пациентов с опухолями и опухолеподобными поражениями костей / Д.М. Пучиньян, Н.Н. Павленко, Г.В. Коршунов, и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 5. – С. 100.

142. Соотношение ангиогенных и антиангиогенного факторов при преэклампсии / Н.Ю. Яковлева, Е.Л. Хазова, Е.Ю. Васильева, и др. // Артериальная гипертензия. – 2016. – Т. 22, № 5. – С. 488-494.

143. Сорокина, Л. У истоков открытия инсулина / Л. Сорокина, А. Леонид, В. Соболев // Артериальная гипертензия. – 2010. – Т. 16, № 5. – С. 526-528.

144. Спивак, Б.Г. Костно-суставные деформации нижних конечностей у детей с фосфат-диабетом и рахитоподобными заболеваниями, современные ортезы для предупреждения и устранения деформаций / Б.Г. Спивак, И.В. Мартынюк // Медико-социальные проблемы инвалидности. – 2018. – № 2. – С. 77-86.

145. Спивак, Б.Г. Профилактика формирования костно-суставных деформаций нижних конечностей у детей дошкольного возраста с фосфат-

диабетом / Б.Г. Спивак, И.В. Мартынюк // Мед.-соц. проблемы инвалидности. – 2016. – № 2. – С. 19-26.

146. Сравнительная оценка концентрации SVEGF-R1 и SVE-cadherin в сыворотке крови беременных и их продукции тканью плаценты / О.И. Степанова, М.В. Лесничая, О.Н. Аржанова, и др. // Молекулярная медицина. – 2010. – № 2. – С. 43-47.

147. Статистические методы обработки результатов медико-социальных исследований: учеб.-метод. пособие / В.Н. Муравьева, Л.Л. Максименко, А.А. Хрипунова, и др. – Ставрополь: Изд-во СтГМУ, 2017. – 51 с.

148. Тарабрина, Т.В. Клиническое значение исследования ангиогенных факторов роста в прогнозировании синдрома задержки развития плода : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова. – Москва, 2010. – 32 с.

149. Тартрат резистентная кислая фосфатаза остеокластов (TRAP-5B) в сыворотке крови у пациентов с первичными опухолями костей / В.А. Державин, Н.С. Сергеева, В.В. Тепляков, и др. // Рос. онколог. журн. – 2010. – № 1. – С. 14-16.

150. Теория и практика иммуноферментного анализа / А.М. Егоров, А.П. Осипов, Б.Б. Дзантиев, и др. – Москва: Высш. школа, 1991. – С. 3-4.

151. Тиц, Н. Клиническое руководство по лабораторным тестам / пер. с англ. В.В. Меньшикова. – Москва: Юнимед-Пресс, 2003. – 943 с.

152. Ткаченко, С.С. Врожденные ложные суставы: [электр. ресурс]: портал о хирургии костной ткани. – 2010. – Режим доступа: <http://bone-surgery.ru/view>.

153. Торбенко, Б.П. Функциональная биохимия костной ткани / Б.П. Торбенко, Б.С. Касавина. – Москва: Медицина, 1977. – 272 с.

154. Тырсина, Е.Г. Роль регуляторной VEGF/VEGF-R1-системы в опухолевом ангиогенезе: (обзор литературы) / Е.Г. Тырсина, С.И. Никулицкий // Онкогинекология. – 2015. – № 4. – С. 4-12.

155. Ульянина, Е.В. Маркеры ангиогенеза и ультразвукового исследования в оценке степени тяжести синдрома задержки развития плода / Е.В. Ульянина, И.Ф. Фаткуллин, Г.Р. Хайруллина // Вестн. совр. клин. медицины. – 2016. – № 3. – С. 79-82.

156. Умарова, З.К. Клиника, диагностика и лечение детей с несовершенным остеогенезом / З.К. Умарова, Г.С. Мамаджанова, Д.А. Мукарамова // Вестн. Авиценны. – 2012. – Т. 52, № 3. – С. 150-153.

157. Уровень экспрессии фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и тетрагидрат-резистентной кислой фосфатазы (TRACP) в костной ткани головки бедра при коксартрозе / Д.А. Давыдов, И.М. Устьянцева, В.В. Агаджанян, и др. // Политравма. – 2016. – № 1. – С. 46-50.

158. Фактор роста стволовых клеток (KL или SCF) // База знаний по биологии человека: [электр. ресурс]. Режим доступа: <http://humbio.ru/humbio/cytology/00335a91.htm> (дата обращения: 01.08.2018)

159. Фактор роста эндотелия сосудов и его растворимые формы рецепторов в сыворотке крови больных первичными саркомами костей / Т.Т. Березов, И.Н. Кузнецов, Н.Е. Кушлинский, и др. // Вопр. биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2009. – Т. 7, № 6. – С. 18-20.

160. Фактор роста эндотелия сосудов как предиктор возникновения тромботических осложнений у больных деформирующим коксартрозом / И.С. Воробьева, В.В. Никитина, Г.П. Гладилин, и др. // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2017. – Т. 69, № 1. – С. 50-54.

161. Факторы ангиогенеза в сыворотке крови при опухолях костей / И.В. Бабкина, И.Н. Кузнецов, Ю.Н. Соловьев, и др. // Клин. лаборатор. диагностика. – 2013. – № 10. – С. 31-33.

162. Федеральная служба государственной статистики: офиц. сайт [Электр. ресурс] Режим доступа: <http://www.gks.ru>.

163. Физиологическая и репаративная регенерация костной ткани: [электр. ресурс]. – Москва: МЦНО. Естественные и медицинские науки, 2015. – № 1(19). – Режим доступа. <http://nauchforum.ru>.

164. Фролова, И.И. Факторы роста и патология эндометрия / И.И. Фролова // *Вопр. гинекологии, акушерства и перинатологии*. – 2007. – Т. 6, № 5. – С. 54-58.
165. Хиггинс, К. Расшифровка клинических лабораторных анализов / К. Хиггинс; пер. с англ. В.Л. Эмануэля. – Москва: БИНОМ, 2014. – 456 с.
166. Храмцова, С.Н. Биохимические маркеры метаболизма костной ткани: (сообщение 3, 4) / С.Н. Храмцова, Л.А. Щеплягина // *Рос. педиатр. журнал*. – 2007. – № 1. – С. 28-30.
167. Чтецова, В.П. Морфология человека / В.П. Чтецова, Б.А. Никитюка. – Москва: МГУ, 1990. – С. 35-79.
168. Шевцов, В.И. Состояние кровообращения конечности в условиях автоматической дистракции / В.И. Шевцов, Н.И. Гордиевских, С.А. Ерофеев // *Гений ортопедии*. – 2000. – № 1. – С. 11-15.
169. Шипицина, И.В. Влияние инсулинподобного фактора роста на репаративный остео- и хондрогенез при заживлении переломов вертлужной впадины: дис. ... канд. биол. наук: 03.03.01 / Шипицина Ирина Владимировна. – Челябинск, 2011. – С. 38-41.
170. Шишкин, А.А. Изменения экспрессии факторов роста эндотелия сосудов VEGF-C и VEGF-D и их рецепторов в некоторых злокачественных новообразованиях человека: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 14.00.14 / Шишкин Александр Алексеевич. – Москва, 2005. – С. 8-15.
171. Шурыгин, М.Г. Динамика факторов роста эндотелия сосудов и фибробластического фактора роста при экспериментальном инфаркте миокарда / М.Г. Шурыгин, И.А. Шурыгина, Н.Н. Дремина // *Acta Biomedica Scientifica*. – 2007. – № 6. – Р. 169-174.
172. Щеплягина, Л.А. Несовершенный остеогенез у детей известные и неизвестные факты / Л.А. Щеплягина, Е.Ю. Полякова, Н.А. Белова // *Лечение и профилактика*. – 2017. – Т. 21, № 1. – С. 5-11.

173. Щербавская, Э.А. Состояние костной ткани в динамике неосложненной беременности / Э.А. Щербавская, Б.И. Гельцер // *Акушерство и гинекология*. – 2003. – № 4. – С.14–17.

174. Энциклопедический словарь медицинских терминов : [электр. ресурс]. – Москва: Сов. энциклопедия, 1982. – Т.3. – Режим доступа: medarticle.moslek.ru (дата обращения 17.12.2017).

175. Юренева, С.В. Биохимические маркеры костного ремоделирования у женщин с хирургической менопаузой / С.В. Юренева // *Проблемы репродукции*. – 2002. – Т. 8, № 1. – С. 62-66.

176. Юхимчук, О.А. Лечение факторами роста : [электр. ресурс] Режим доступа: <http://travmy.net/> (дата обращения 12.12.2017).

177. Ярилин, А.А. Иммунология / А.А. Ярилин. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 572 с.

178. Ярмолинская, М.И. Постменопаузальный остеопороз. Клиника, диагностика, профилактика, лечение: учеб. пособие. – Москва: Изд-во «Серебряные нити», 2014. – 60 с.

179. A des, L. Cardiovascular Genetics Working Group. Guide lines for the diagnosis and management of Marfan syndrome / L. A des, Z. Csan // *HeartLung Circ*. – 2007. – 16 (1). – 28-30.

180. A molecular view of liver regeneration / M.R. Tarlá, F.S. Ramalho, L.N. Ramalho, et al. // *Acta Cir. Bras*. – 2006. – Vol. 21, No 1. – P. 58-62.

181. A platelet derived growth factor delivery system for bone regeneration / J.J. Delgado, E. Sánchez, M. Baro, et al. // *J. Mater Sci. Mater Med*. – 2012. – Vol. 23, No 8. – P. 1903-1912.

182. A review of non-collagenous proteins; their role in bone / I. Aiman, I. Al-Qtaitat, M. Saed // *American Journal of Life Sciences*. – 2014. – Is.2. – P. 351-355.

183. Aaron, J.E. Histology and microanatomy of bone / J.E. Aaron, B.E.C. Nordin // *Calcium, phosphate and magnesium metabolism : clinical physiology*

and diagnostic procedures. – Edinburg; New York : Churchill Livingstone, 1976. – P. 298-356.

184. Aegerter, E.E. The possible relationship of neurofibromatosis, congenital pseudarthrosis, and fibrous dysplasia / E.E. Aegerter // *J. Bone Joint Surg. Am.* – 1950. – Vol. 32, No 3. – P. 618-626.

185. Angiogenesis in acute and chronic leukemias and myelodysplastic syndromes / A. Aguayo, H. Kantarjian, T. Manshouri, et al. // *Blood.* – 2000. – V.96. – P. 2240–5.

186. Andia, I. Basic science: molecular and biological aspects of platelet-rich plasma therapies / I. Andia, M. Sánchez, N. Maffulli // *Operative Techniques in Orthopaedics.* – 2012. – Vol. 22, No 1. – P. 3-9.

187. Annes, J.P. Making sense of latent TGF β activation / J.P. Annes, J.S. Munger, D.B. Rifkin // *Journal of cell science.* – 2003. – Is. 2. – P. 217-224.

188. Anti-vascular therapies in ovarian cancer: moving beyond anti-VEGF approaches / H.J. Choi, G.N. Armaiz Pena, S. Pradeep, et al. // *Cancer Metastasis Rev.* – 2015. – Vol. 34, No 1. – P. 19-40.

189. Arnold, F. Angiogenesis in wound healing / F. Arnold, D.C. West // *Pharmacol. Ther.* – 1991. – Vol. 52, No 3. – P. 407-422.

190. Ashpole, N.M. Growth hormone, insulin-like growth factor-1 and the aging brain / N.M. Ashpole, J.E. Sanders, E.L. Hodges // *Exp. Gerontol.* – 2015. – Vol.68. – P. 78–81.

191. Authorship trends in the Journal of Orthopaedic Research: A bibliometric analysis / A. Seetharam, M.T. Ali, C.Y. Wang, et alo. // *J. Orthop. Res.* – 2018. – Vol. 9, No 1. – P. 10-12.

192. Baeksgaard, L. Calcium and vitamin D supplementation increases spinal BMD in healthy, postmenopausal women / L. Baeksgaard, K.P. Andersen, L. Hyldstrup // *Osteoporos. Int.* – 1998. – Vol. 8, No 3. – P. 225-260.

193. Bala, Y. Bone mineralization: from tissue to crystal in normal and pathological contexts / Y. Bala, D. Farlay, G. Boivin // *Osteoporos. Int.* – 2013. – Vol. 24, No 8. – P. 2153-2166.

194. Bartke, A. The somatotropic axis and aging benefits of endocrine defects / A. Bartke, E.O. List, J.J. Kopchick // *Growth Horm. IGF Res.* – 2016. – Vol.27. – P. 41-45.
195. Baylink, D.J. Growth factors to stimulate bone formation / D.J. Baylink, R.D. Finkelstein, S. Mohan // *J. Bone Miner. Res.* – 1993. – Vol. 8, Suppl. 2. – P. S565-S572.
196. Bergersen, T.K. Perfusion of the human finger during cold-induced vasodilation / T.K. Bergersen, J. Hisdal, L. Walløe // *Am. J. Physiol.* – 1999. – Vol. 276, No 3, Pt 2. – P. R731-R737.
197. Biochemical markers of bone turnover during pregnancy: a longitudinal study / Hellmeyer L., [et al. // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* – 2006. – Vol.114, N9. – P.506-510.
198. Biological and molecular profile of fracture non - union tissue: current insights / M. Panteli, I.Pountos, E. Jones, et al. // *Journal of cellular and molecular medicine.* – 2015. – Vol. 19, Is. 4. – P. 685-713.
199. Biphasic effects of transforming growth factor β on bone morphogenetic protein-induced osteoblast differentiation / D.J. de Gorter, M. van Dinther, O. Korchynskiy, et al. // *J. Bone Miner. Res.* – 2011. – Vol. 26, No 6. – P. 1178-1187.
200. Role of transforming growth factor beta in human disease / G.C. Blobe, W.P. Schiemann, H.F. Lodish // *N. Engl. J. Med.* – 2000. – 342. – P. 1350-8.
201. Blockade of VEGFR-1 and VEGFR-2 enhances paclitaxel sensitivity in gastric cancer cells / J.E. Hwang, J.H. Lee, M.R. Park, et al. // *Yonsei Medical Journal.* – 2013. – Vol. 54, No 2. – P. 374-380.
202. Bollen, A.M. Bone resorption rates in children monitored by the urinary assay of collagen type I cross-linked peptides / A.M. Bollen, D.R. Eyre // *Bone.* – 1994. – 15(1). – P. 31-4.

203. Bone formation controlled by biologically relevant inorganic ions: role and controlled delivery from phosphate-based glasses / N.J. Lakhkar, I.H. Lee, H.W. Kim, et al. // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2013. – Vol. 65, No 4. – P. 405-406.
204. Bone physiology, disease and treatment: towards disease system analysis in osteoporosis / T.M. Post, S.C. Cremers, T. Kerbusch, et al. // *Clin. Pharmacokinetics.* – 2010. – Vol. 49, No. 2. – P. 89-118.
205. Bone tissue remodeling in imperfect osteogenesis: cleared up and not cleared up questions, outlooks of their solution / Yu.M. Guk, O.M. Magomedov, A.M. Zyma, et al. // *Trauma.* – 2013. – Vol. 14, No 6. – P. 32-38.
206. Borzini, P. Tissue regeneration and in loco administration of platelet derivatives: clinical outcomes, heterogeneous products, and heterogeneity of the effector mechanisms / P. Borzini, L. Mazzucco // *Transfusion.* – 2005. – Vol. 45, No 11. – P. 1759-1767.
207. Boyd, H.B. Pathology and natural history of congenital pseudarthrosis of the tibia / H.B. Boyd // *Clin. Orthop. Relat. Res.* – 1982. – Vol. 166. – P. 5-13.
208. Boyle, W.J. Osteoclast differentiation and activation / W.J. Boyle, W.S. Simonet, D.L. Lacey // *Nature.* – 2003. – Vol. 423, No 6937. – P. 337-342.
209. Burr, D.B. The complex relationship between bone remodeling and the physical and material properties of bone / D.B. Burr // *Osteoporos. Int.* – 2015. – Vol. 26, No 3. – P. 845-847.
210. Corson, G.M. Differential expression of fibrillin-3 adds to microfibril variety in human and avian, but not rodent, connective tissues / G.M. Corson, N.L. Charbonneau, D.R. Keene // *Genomics.* – 2004; 83 (3). – P. 461–72.
211. Cadigan, K.M. Wnt signaling: a common theme in animal development / K.M. Cadigan, R. Nusse // *Genes Dev.* – 1997. – Vol. 11, No 24. – P. 3286-3305.
212. Caetano-Lopes, J. Osteoblasts and bone formation / J. Caetano-Lopes, H. Canhão, J.E. Fonseca // *Acta Reumatol. Port.* – 2007. – Vol. 32, No 2. – P. 103-110.

213. Calcium incorporation in developing cartilaginous epiphysis / L.H. Mathews, J.H. Martin, J.A. Lynn, et al. // *Calcif. Tissue Res.* – 1968. – Vol. 1, No 4. – P. 330-336.

214. Cartilage repair by local delivery of transforming growth factor- β 1 or bone morphogenetic protein-2 from a novel, segmented polyurethane / polylactic-co-glycolic bilayered scaffold / R. Reyes, A. Delgado, R. Solis, et al. // *J. Biomed. Mater. Res. A.* – 2014. – Vol. 102, No 4. – P. 1110-1120.

215. Chen, G. TGF- β and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation / G. Chen, C. Deng, Y.P. Li // *Int. J. Biol. Sci.* - 2012. - Vol. 8, No 2. - P. 272-288.

216. Chen, D.I. Bone morphogenetic proteins / D.I. Chen, M. Zhao, G.R. Mundy // *Growth factors.* – 2004. – Vol. 22, Is. 4. – P. 233-241.

217. Cheng, A. TGF-beta-dependent pathogenesis of mitral valve prolapse in a mouse model of Marfan syndrome / A. Cheng, L.A. Myers, F. Martinez-Murillo, et al. // *J. Clin. Invest.* – 2004. – № 114 (11). – P. 1586-92.

218. Cho, J.W. Platelet-rich plasma induces increased expression of G1 cell cycle regulators, type I collagen, and matrix metalloproteinase-1 in human skin fibroblasts / J.W. Cho, S.A. Kim, K.S. Lee // *Int. J. Mol. Med.* – 2012. – Vol. 29, No 1. – P. 32-36.

219. Circulating levels of insulin-like growth factors and their binding proteins in patients with chronic liver disease: lack of correlation with bone mineral density / S. Ormarsdóttir, Ö. Ljunggren, H. Mallmin, et al. // *Liver.* – 2001. – Vol. 21, No 2. – P. 123-128.

220. Clinical implications of expression of ETS-1 related to angiogenesis in uterine endometrial cancers / J. Fujimoto, I. Aoki, H. Toyoki, S. Khatun, et al. // *Ann. Oncol.* – 2002. – Vol. 13, No 10. – P. 1605-1611.

221. Clinical predictive value of serum angiogenic factor in patients with osteosarcoma / Z. Chen, Q.X. Chen, Z.Y. Hou, et al. // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* – 2012. – Vol. 13, No 9. – P. 4823-4826.

222. Clinical use of biochemical markers of bone remodeling: current status and future directions / A.C. Looker, D.C. Bauer, C.H. Chesnut, et al. // *Osteoporosis Int.* – 2000. – Vol. 11, No 6. – P. 467-480.

223. Compton, J.T. A review of osteocyte function and the emerging importance of sclerostin / J.T. Compton, F.Y. Lee // *J. Bone Joint Surg. Am.* – 2014. – Vol. 96, No 19. – P.1659-1668.

224. Concentration des facteurs de croissance de l'endothélium vasculaire et réaction du réseau microcirculatoire au cours de la substitution des défauts congénitaux de la jambe par technique de Masquelet / E.P. Vykhovanez, T.I. Dolganova, S.N. Luneva, et al. // *Livre des résumés.* – 2018. – P. 71-72.

225. Conditional inactivation of VEGF-A in areas of collagen2a1 expression results in embryonic lethality in the heterozygous state / J.J. Haigh, H.P. Gerber, N. Ferrara, et al. // *Development.* – 2000. – Vol. 127, No 7. – P. 1445-1453.

226. Conese, M. Paracrine effects and heterogeneity of marrow-derived stem/progenitor cells: relevance for the treatment of respiratory diseases / M. Conese, A. Carbone, S. Castellani // *Cells Tissues Organs.* – 2013. – Vol. 197, No 6. – P. 445-473.

227. Congenital pseudarthrosis of the tibia: history, etiology, classification, and epidemiologic data / F. Hefti, G. Bollini, P. Dungal, et al. // *J. Pediatr. Orthop. B.* – 2000. – Vol. 9, No 1. – P. 11-15.

228. Connective tissue growth factor induces collagen I expression in human lung fibroblasts through the Rac1/MLK3/JNK/AP-1 pathway / C.H. Lin, M.C. Yu, W.H. Tung, et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2013. – Vol. 1833, No 12. – P. 2823-2833.

229. Correlation of the expression of vascular endothelial growth factor and its receptors with microvessel density in ovarian cancer / L. Wang, X. Liu, H. Wang, et al. // *Oncol. Lett.* – 2013. – Vol. 6, No 1. – P. 175-180.

230. Corson, G.M. Differential expression of fibrillin-3 adds to microfibril variety in human and avian, but not rodent, connective tissues / G.M. Corson, N.L. Charbonneau, D.R. Keene // *Genomics*. – 2004. – 83 (3). – P. 461–72.

231. Cortés Blanco, A. Reference values for IGF-I, IGFBP-1, IGFBP-3 and osteocalcin in healthy children in Zaragoza / A. Cortés Blanco, J.I. Labarta Aizpún, A. Ferrández Longás // *Anales españoles de pediatría*. – 1999. – V. 51. – P.167-74.

232. Crawford, A.H. Neurofibromatosis in children / A.H. Crawford // *Acta Orthop. Scand. Suppl.* – 1986. – Vol. 218. – P. 1-60.

233. De Paepe, A. Revised diagnostic criteria for the Marfan syndrome / A. De Paepe, R.B. Devereux, H.C. Dietz, et al. // *Am. J. Med. Genet.* – 1996. – 62 (4). – P. 417–26.

234. Dickkopf Wnt signaling pathway inhibitor 1 regulates the differentiation of mouse embryonic stem cells in vitro and in vivo / L. Ou, L. Fang, H. Tang, et al.// *Mol. Med. Rep.* – 2016. – Vol. 13, No 1. – P. 720-730.

235. Does VEGF facilitate local tumor growth and spread into the abdominal cavity by suppressing endothelial cell adhesion, thus increasing vascular peritoneal permeability followed by ascites production in ovarian cancer? / I. Bekes, T.W.P Friedl, T. Köhler, et al. // *Mol. Cancer*. – 2016. – Vol. 15, No 13. – P. 33-36.

236. Dominant-negative inhibition of Flk-1 suppresses the growth of many tumor types in vivo / B. Millauer, M.P. Longhi, K.H. Plate, et al. // *Cancer Res.* – 1996. – Vol. 56, No 7. – P.1615-1620.

237. Dominiczak, M.H. Water and electrolyte homeostasis / M.H. Dominiczak, M. Szczepańska-Konkel // *Medical biochemistry*. – 2014. – Chapter 24. – P. 320-331.

238. e Paepe, A. Revised diagnostic criteria for the Marfan syndrome / A. e Paepe, R.B. Devereux, H.C. Dietz, et al. // *Am. J. Med. Genet.* – 1996. – 62 (4). – P. 417–26.

239. Effect of calcium cation on lipid vesicle deposition on silicon dioxide surface under various thermal conditions / T. Zhu, F. Xu, B. Yuan, et al. // *Colloids Surf. B Biointerfaces*. – 2012. – Vol. 89. – P. 228-233.

240. Effect of concentration of platelet-derived growth factor on proliferative activity of human fibroblasts / M.S. Makarov, M.V. Storozheva, O.I. Konyushko, et al. // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2013. - Vol. 155, No 4. – P. 576-580.

241. Effects of transforming growth factor beta on cells derived from bone and callus of patients with osteogenesis imperfecta / M. Mörike, E. Windsheimer, R. Brenner, et al. // *J. Orthop. Res.* – 1993. – Vol. 11, No 4. - P. 564-572.

242. El-Rosasy, M.A. Congenital pseudarthrosis of the tibia / M.A. El-Rosasy, D. Paley, J.E. Herzenberg // *Limb lengthening and reconstruction surgery* / edited by S.R. Rozbruch, S. Ilizarov. – New York : Informa Healthcare, 2007. – P. 485-493.

243. El-Rosasy, M.A. Ilizarov techniques for the management of congenital pseudarthrosis of the tibia (PhD Thesis) / M.A. El-Rosasy, D. Paley, J.E. Herzenberg. – Tanta, Egypt : Tanta University Press. – 2001.

244. Escobar syndrome (multiple pterygium syndrome) associated with osteogenesis imperfecta: a case report / S.O. Khmyzov, Ye.P. Sharmazanova, N.S. Lysenko, et al. // *Orthop. Traumatol. Prosthet.* – 2017. – No 2. – P. 97-100.

245. Expression analysis of VEGF-A and VEGF-B: relationship with clinicopathological parameters in bladder cancer / S. Fauconnet, I. Lascombe, G. Boiteux, et al. // *Oncol. Rep.* – 2009. – Vol. 21, No 6. – P. 1495-1504.

246. Expression of cancer stem cell-associated DKK1 mRNA serves as prognostic marker for hepatocellular carcinoma / T. Sakabe, J. Azumi, Y. Umekita, et al. // *Anticancer Res.* – 2017. – Vol 39, No 3. – P. 4881-4888.

247. Expression of vascular endothelial growth factors and their receptors during osteoblast differentiation / M.M. Deckers, M. Karperien, T. Yamashita, et al. // *Endocrinology*. – 2000. – Vol. 141, No 5. – P.1667-1674.

248. Factor analysis of the metabolic syndrome: obesity vs insulin resistance as the central abnormality / P.J. Anderson, J.A. Crithley, J.C. Chan, et al. // *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* – 2001. – Vol. 25, No 12. – P. 1782-1788.

249. Falk, F. Vascular endothelial growth factor B(VEGF-B) is up-regulated and exogenous VEGF-B is neuroprotective in a culture model of Parkinson's disease / F. Falk, S. Zhang, S.J. Sherman // *Mol. Neurodegeneration.* – 2009. – Vol. 4. – P. 49-50.

250. FDA Regranex. FDA Professional Drug Information for Regranex. [электр. ресурс] – Режим доступа: <http://www.fda.gov/>

251. Felson, D.T. Blinding images to sequence in osteoarthritis: evidence from other diseases / D.T. Felson, M.C. Nevitt // *Osteoarthritis Cartilage.* – 2009. – Vol. 17, No 3. – P. 281-283.

252. Feng, X. Disorders of bone remodeling / X. Feng, J. M. McDonald // *Annual review of pathology.* – 2011. – Vol. 6. – P. 121-145.

253. Fibroblast growth factor 2 activation of stromal cell vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis / K.P. Claffey, K. Abrams, S.C. Shih, et al. // *Lab. Invest.* – 2001. – Vol. 81, No 1. – P. 61-75.

254. Fimmel, S. Trace elements and carrier proteins in the aged / S. Fimmel, H. Borchelt, A. Kade, E.Kottgen // *Arch. Gerontol. Geriatr.* – 1993. – Vol.19, Suppl 1. – P. 67-74.

255. Flater, J.L. Dysregulated angiogenesis in B-chronic lymphocytic leukemia: morphologic, immunohistochemical and cytometric evidence. / J.L. Flater, M.E. Kay, C.L. Goolsby, et al // *Diagn. Pathol.* – 2008. – N 3. – P.1-16.

256. Forlino, A. New perspectives on osteogenesis imperfecta / A. Forlino, W.A. Cabral, A.M. Barnes, et al. // *Nature Reviews Endocrinology.* – 2011. – Vol.7. – P. 540-557.

257. Free vascular fibular transfer in congenital pseudarthrosis of the tibia: results of EPOS multicenter study. European Paediatric Orthopaedic Society (EPOS) / B. Romanus; G. Bolinni, D. Pavel, et al. // *J. Pediatr. Orthop. B.* – 2000. – Vol. 9, No 2. – P. 90-93.

258. Friedman, M. S. Osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells is regulated by bone morphogenetic protein - 6 / M.S. Friedman, M.W. Long, K.D. Hankenson // *Journal of cellular biochemistry*. – 2006. – Vol. 98, Is. 3. – P. 538-554.

259. Growth factor interactions in bone regeneration / D.H. Kempen, L.B. Creemers, J. Alblas, et al. // *Tissue Eng. Part B Rev.* – 2010. – Vol. 16, No 6. – P. 551-566.

260. Hasler, C.C. Current concepts of leg lengthening / C.C. Hasler, A.H. Krieg // *J. Child Orthop.* – 2012. – Vol. 6, No 2. – P. 89-104.

261. Helical peptides from VEGF and Vammin hotspots for modulating the VEGF-VEGFR interaction / M.I. García-Aranda, S. González-López, M. Martín-Martínez, et al. // *Org. Biomol. Chem.* – 2013. – Vol. 11, No 11. – P. 1896-1905.

262. Hing, K.A. Bone repair in the twenty-first century: biology, chemistry or engineering? // *Phil.Trans. R. Soc. Lond. A.* – 2004. – Vol. 352. – P.2821-2850.

263. Hyperplastic callus formation in osteogenesis imperfecta / H.W. Lehmann, A. Nerlich, R.E. Brenner, et al. // *Eur. J. Pediatr. Surg.* – 1992. – Vol. 2, No 5. – P. 281-284.

264. Hypophosphatemic rickets with hypercalciuria due to mutation in SLC34A3/type IIc sodium-phosphate cotransporter: presentation as hypercalciuria and nephrolithiasis / A.L. Tencza, S. Ichikawa, A. Dang, et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2009. – Vol. 94, No 11. – P. 4433-4438.

265. IL-11 produced by breast cancer cells augments osteoclastogenesis by sustaining the pool of osteoclast progenitor cells / E.M. McCoy, H. Hong, H.C. Pruitt, et al. // *BMC cancer.* – 2013. – Vol. 13. – Is. 1. – P. 16.

266. Immediate and delayed VEGF-mediated NO synthesis in endothelial cells: role of PI3K, PKC and PLC pathways / D.S. Gelinas, P.N. Bernatchez, S. Rollin, et al. // *Br. J. Pharmacol.* – 2002. – Vol. 137, No 7. – P. 1021-1030.

267. In vitro determination of osteoreparative potential in patients with long bone fractures / Ye.A. Pobel, S.V. Malyskina, O.A. Nikolchenko, et al. // *Український морфологічний альманах.* – 2013. – Is. 2. – P. 80-86.

268. In vitro expression of osteoblastic markers in cells isolated from normal fetal and postnatal human bone and from bone of patients with osteogenesis imperfecta / M. Mörike, M. Schulz, R.E. Brenner, et al. // *J. Cell Physiol.* – 1993. – Vol. 157, No 3. – P. 439-444.

269. Increased skeletal VEGF enhances beta-catenin activity and results in excessively ossified bones / C. Maes, S. Goossens, S. Bartunkova, et al. // *EMBO J.* - 2010. – Vol. 29, No 2. – P. 424-441.

270. Infantile hypophosphatasia secondary to a novel compound heterozygous mutation presenting with pyridoxine-responsive seizures / D. Belachew, T. Kazmerski, I. Libman, et al. // *JIMD Rep.* – 2013. – Vol. 23, No 11. – P 17-24.

271. Inhibition of collagen synthesis by select calcium and sodium channel blockers can be mitigated by ascorbic acid and ascorbyl palmitate / V. Ivanov, S. Ivanova, T. Kalinovsky, et al. // *Am. J. Cardiovasc. Dis.* – 2016. – Vol. 6, No 2. – P. 26-35.

272. Insulin and insulin-like growth factor I support the proliferation of erythroid progenitor cells in bone marrow through the sharing of receptors / S. Miyagawa, M. Kobayashi, N. Konishi, et al. // *Br. J. Haematol.* – 2000. – Vol. 109, No 3. – P. 555-562.

273. Insulin-like growth factor (IGF) binding protein 2 functions coordinately with receptor protein tyrosine phosphatase β and the IGF-I receptor to regulate IGF-I-stimulated signaling / X. Shena, G. Xia, L.A. Mailea, et al. // *Mol. Cell. Biol.* – 2012. – Vol. 32, No 20. – P. 4116-4130.

274. Involvement of VEGFR-2 (KDR/FLK-1) but not VEGFR-1 (FLT-1) in VEGF-A and VEGF-C-induced tube formation by human microvascular endothelial cells in fibrin matrices in vitro / P. Koolwijk, E. Peters, B. van der Vecht, et al. // *Angiogenesis.* – 2001. – Vol. 4, No 1. – P. 53-60.

275. Iwamoto, J. Relationships among physical activity, metacarpal bone mass, and bone resorption marker in 70 healthy adult males / J. Iwamoto, T. Takeda, S. Ichimura // *J Orthop Sci.* – 2002. – 7(1). – P. 6-11.

276. Jackuliak, P. Osteoporosis, fractures, and diabetes / P. Jackuliak, J. Payer // *International journal of endocrinology*. – 2014. – Vol. 2014. – P. 1-10.
277. Jain, A.P. Bone morphogenetic proteins: the anomalous molecules / A.P. Jain, S. Pundir, A. Sharma // *J. Indian Soc. Periodontol.* – 2013. – Vol. 17, N 5. – P. 583-586.
278. Jawad, S.N. Proliferative, apoptotic and angiogenic potentials in jaws and long bones osteosarcomas: a comparative immunohistochemical study / S.N. Jawad, B.H. Abdullah // *J. Oral Pathol. Med.* – 2010. – Vol. 39, No 9. – P. 681-686.
279. Jeltsch, M.M. VEGFR-3 ligands and lymphangiogenesis / M.M. Jeltsch. – Helsinki : University of Helsinki, 2002. – 46 p.
280. Jemmerson, R. Phosphatidylinositol anchor of HeLa cell alkaline phosphatase / R. Jemmerson, M.G. Low // *Biochemistry*. – 1987. – Vol. 26, No 18. – P. 5703-5709.
281. Johnston, C.E. Congenital pseudarthrosis of the tibia: results of technical variations in the Charnley-Williams procedure / C.E. Johnston // *J. Bone Joint Surg. Am.* – 2002. – Vol. 84, No 10. – P. 1799-1810.
282. Joseph, B. Management of congenital pseudarthrosis of the tibia by excision of the pseudarthrosis, onlay grafting, and intramedullary nailing / B. Joseph, G. Mathew // *J. Pediatr. Orthop. B.* – 2000. – Vol. 9, No 1. – P. 16-23.
283. Kagey, M.H. Rationale for targeting the Wnt signalling modulator Dickkopf-1 for oncology / M.H. Kagey, X. He // *Br. J. Pharmacol.* – 2017. – Vol 174, No 24. – P. 4637-4650.
284. Kearns, A.E. Receptor activator of nuclear factor κ B ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease / A. E. Kearns, S. Khosla, P. J. Kostenuik // *Endocrine reviews*. – 2008. – Vol. 29, Is. 2. – P. 155-192.
285. Kerstin Landin-Wilhelmsen. Insulin-like growth factor I levels in healthy adults / Kerstin Landin-Wilhelmsen, Per-Arne Lundberg, G. Lappas, // *Hormone research*. – 2004. – Vol. 62, Suppl 1. – P. 8-16.

286. Khokhlova, O.I. Characteristics of bone tissue metabolism in adolescents with undifferentiated connective tissue dysplasia / O.I. Khokhlova, G.Y. Kalayeva, I.M. Ustiantseva // *Human Physiology*. – 2014. – Vol. 40, No 3. – P. 323-329.
287. Kini, U. Physiology of bone formation, remodeling, and metabolism / U.Kini, B.N. Nandeesh // *Radionuclide and Hybrid Bone Imaging*. – Springer Berlin Heidelberg. – 2012. – P. 29-57.
288. Kumar, D.A. The role of hip and chest radiographs in osteoporotic evaluation among south Indian women population: a comparative scenario with DXA / D.A. Kumar, M. Anburajan // *Journal of endocrinological investigation*. – 2014. – Vol. 37, Is. 5. – P. 429-440.
289. Lagos, P. Alkaline phosphatase levels in healthy Greek children and adolescents / P. Lagos, X. Krikos, C. Kattamis // *Helvetica paediatrica acta*. – 1980. – Vol.3. – P. 545-50.
290. Léger, C. Un nouveau rôle pour le VEGF / C. Léger // *Biofutur*. – 1999. – No 191. – 10 p.
291. Lerat, J.L. Le traitement chirurgical des pseudarthroses et courbures congénitales de jambe / J.L. Lerat, F. Lecuire, J. Berard, et al. // *Chir. Pediatr*. – 1980. – Vol. 21, No 1. – P. 77-88.
292. Li, X. Novel VEGF family members: VEGF-B, VEGF-C and VEGF-D / X. Li, U. Eriksson // *Int. J. Biochem. Cell Biol*. – 2001. – Vol. 33, No 4. – P. 421-426.
293. Liu, J.T. Serum Dickkopf-1 acts as a new biomarker in human breast cancer / J.T. Liu, W.B. Guo, J.Y. Sun // *Minerva Med*. – 2017. – Vol. 108, No 4. – P. 334-340.
294. Loeys, B.L. A syndrome of altered cardiovascular, craniofacial, neurocognitive and skeletal development caused by mutations in TGF- β R1 or TGF- β R2 / B.L. Loeys, J. Chen, E.R. Neptune, et al. // *Nat. Genet*. – 2005. – 37 (3). – P. 275-81.

295. Loffredo, F.S. Growth differentiation factor 11 is a circulating factor that reverses age-related cardiac hypertrophy / F.S. Loffredo, M.L. Steinhauser, S.M. Jay, et al. // *Cell*. – 2013. – Vol. 153, No 4. – P. 828-839.

296. Loss of Dickkopf-1 restores neurogenesis in old age counteracts cognitive decline / D.R. Seib, N.S. Corsini, K. Ellwanger, et al. // *Cell Stem Cell*. – 2013. – Vol. 12, No 2. – P. 204-214.

297. Marsell, R. The biology of fracture healing / R. Marsell, T.A. Einhorn // *Injury*. – 2011. – Vol. 42. – Is. 6. – P. 551-555.

298. Martin, T.J. Coupling of bone resorption and formation during bone remodeling / T.J. Martin, G.A. Rodan // *Osteoporosis*. – 2001. – Vol. 1. – P. 361-71.

299. Martin, T.J. Osteoclast-derived activity in the coupling of bone formation to resorption / T.J. Martin, N.A Sims // *Trends in molecular medicine*. – 2005. – Vol. 11, Is. 2. – P. 76-81.

300. Masquelet, C. Muscle reconstruction in reconstructive surgery: soft tissue repair and long bone reconstruction / C. Masquelet // *Langenbecks Arch. Surg.* – 2003. – Vol. 388, No 5. – P. 344-346.

301. Masquelet, C. The concept of induced membrane for reconstruction of long bone defects / C. Masquelet, T. Begue // *Orthop. Clin. North Am.* – 2010. – Vol. 41, No 1. – P. 27-37.

302. Matrix vesicles are carriers of bone morphogenetic proteins (BMPs), vascular endothelial growth factor (VEGF), noncollagenous matrix proteins / N.N. Nahar, L.R. Missana, R. Garimella, et al. // *J. Bone Miner. Metab.* – 2008. – Vol. 26, No 5. – P. 514-519.

303. McCullough, K.A. Immunohistochemical localization of bone morphogenetic proteins (BMPs) 2, 4, 6, and 7 during induced heterotopic bone formation / K.A. McCullough // *Journal of orthopaedic research*. – 2007. – Vol. 25, Is. 4. – P. 465-472.

304. Meduniver гистология/ Костные ткани // Остеогистогенез: [электр. ресурс]. – Режим доступа <http://meduniver.com/Medical>

305. Mizuguchi, T. Heterozygous TGF- β R2 mutations in Marfan syndrome / T. Mizuguchi, G. Collod-Beroud, T. Akiyama, et al. // Nat. Genet. – 2004. – N 36 (8). – P. 855–60.
306. Modern approach to treatment of patients with phosphate diabetes / A.P. Krys-Pugach, Yu.M. Guk, S.M. Martsynyak, et al. // Trauma. – 2012. – Vol. 13, No 2. – P. 144-147.
307. Modulation of proliferation and differentiation of human bone marrow stromal cells by fibroblast growth factor 2: potential implications for tissue engineering of tendons and ligaments / S. Hankemeier, M. Keus, J. Zeichen, et al. // Tissue Eng. – 2005. – Vol. 11, No 1-2. – P. 41-49.
308. Molecular Aspects of Bone Remodeling / A.Y. Parra-Torres, M. Valdés- Flores, L. Orozco, et al. // Topics in Osteoporosis. – 2013. – P. 127.
309. Molecular Biology of the Cell / B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, et al. – New York: Garland Science, 2002. – 1392 p.
310. Mora, S. Urinary markers of bone turnover in healthy children and adolescents: age-related changes and effect of puberty / S. Mora, C. Prinster, M.C. Proverbio, et al. // Calcif Tissue Int. – 1998. – 63(5). – P. 369-74.
311. Multiple molecular forms of pyridineline cross-links excreted in human evaluated by chromatographic and immunoassay methods / S. Kamel, M. Brazier, V. Neri, et al. // J. Bone Miner. Res. – 1995. – Vol. 10, No 9. – P. 1385-1392.
312. Mundy, G.R. Boning up on ephrin signaling / G.R. Mundy, F. Elefteriou // Cell. – 2006. – Vol. 126, Is. 3. – P. 441-443.
313. Mundy, G.R. Hormonal factors which regulate bone resorption / G.R. Mundy // Physiology and Pharmacology of Bone. – Springer Berlin Heidelberg, 1993. – P. 215-247.
314. Nielsen, H.K. Relations between diurnal variations in serum osteocalcin, cortisol, parathyroid hormone and ionized calcium in normal individuals / H.K. Nielsen, P. Laurberg, K. Brixen, et al. // Acta Endocrinol. – 1991. – 124(4). – P. 391-8.

315. Nordin, B.E. Calcium and osteoporosis / B.E. Nordin // Nutrition. – 1997. – Vol. 13, No 7-8. – P. 664-686.
316. Novel peptides suppress VEGFR-3 activity and antagonize VEGFR-3-mediated oncogenic effects / Y.W. Chang, Y.H. Su, H.H. Lai, et al. // Oncotarget. – 2014. – Vol. 5, No 11. – P. 3823-3835.
317. Osteocalcin and matrix-Gla-protein: vitamin K-dependent proteins in bone / P.V. Hauschka, J.B. Lian, D.E. Cole, et al. // Physiol. Rev. – 1989. – Vol. 69, No 3. – P. 990-1047.
318. Osteoprotegerin regulates bone formation through a coupling mechanism with bone resorption / M. Nakamura, N. Udagawa, S. Matsuura // Endocrinology. – 2003. – Vol. 144, No 12. – P. 5441-5449.
319. Paley, D. Congenital pseudarthrosis of the tibia: combined pharmacologic and surgical treatment using biphosphonate intravenous infusion and bone morphogenic protein with periosteal and cancellous autogenous bone grafting, tibio-fibular cross union, intramedullary rodding and external fixation / D. Paley // Bone Grafting. – 2012. – Chapter 6. – P. 91-106.
320. Pannier, S. Congenital pseudarthrosis of the tibia / S. Pannier // Orthop. Traumatol. Surg. Res. – 2011. – Vol. 97, No 7. – P. 750-761.
321. Parfitt, A.M. The coupling of bone formation to bone resorption: a critical analysis of the concept and of its relevance to the pathogenesis of osteoporosis / A.M. Parfitt // Metabolic Bone Disease and Related Research. – 1982. – Vol. 4. Is. 1. – P. 1-6.
322. Parfitt, A.M. What is the normal rate of bone remodeling? / A.M. Parfitt // Bone. – 2004. – Vol. 35, Is. 1. – P. 1-3.
323. Pers, Y.M. Adipose derived stem cells for regenerative therapy in osteoarticular diseases / Y.M. Pers, C. Jorgensen // Horm. Mol. Biol. Clin. Invest. – 2016. – Vol. 28, No 3. – P. 113-120.
324. Perspektivy ispol'zovanija preparatov na osnove organicheskikh solej kal'cija. Molekuljarnye mehanizmy kal'cija / O.A. Gromova, I. Ju. Torshin, T.R. Grishina, et al. // Lechashhij vrach. – 2013. – No 4. – P. 42-44.

325. Peterson, P.K. Levels of tumor necrosis factor α , interleukin 6, interleukin 10, and transforming growth factor β are normal in the serum of the healthy elderly / P.K. Peterson, C.C. Chao, P. Carson // *Clinical Infectious Diseases*. – 1994. – 19(6). – P. 1158-1159.

326. Phase I study of safety and tolerability of sunitinib in combination with sirolimus in patients with refractory solid malignancies and determination of VEGF (VEGF-A) and soluble VEGF-R2 (sVEGFR2) in plasma / J. Li, H. Kluger, L. Devine, et al. // *Cancer Chemother. Pharmacol.* – 2016. – Vol. 77, No 6. – P. 1193-1200.

327. Pivonka, P.A Systems approach to understanding bone cell interactions in health and disease / P. Pivonka, P.R. Buenzli, C.R. Dunstan // *Cell interaction*. – 2012. – Chapter 7. – P. 169-204.

328. Povoroznyuk, V. Osteoporoz i biohimicheskie marker metabolizma kostnoj tkani [Osteoporosis and biochemical markers of bone metabolism] / V. Povoroznyuk // *Laboratornaya diagnostika*. – 2002. – No 1. – P. 53-61.

329. Predictors of bone mineral density in aging healthy men varies by skeletal site / B.L. Clarke, P.R. Ebeling, J.D. Jones, et al. // *Calcif. Tissue Int.* – 2002. – Vol. 70, No 3. – P. 137-145.

330. Promising direction of surgical treatment of patients with osteogenesis imperfecta / A.P. Krys-Pugach, Yu.M. Gouk, A.M. Zyma, et al. // *Trauma*. – 2012. – Vol. 13, No 3. – P. 97-100.

331. Pyeritz, R.E. Small molecule for a large disease / R.E. Pyeritz // *N. Engl. J. Med.* – 2008. – 358 (26). – P. 2829–31.

332. Putnam, E.A. Fibrillin-2 (FBN2) mutations result in the Marfan-like disorder, congenital contractural arachnodactyly / E.A. Putnam, H. Zhang, F. Ramirez, et al. // *Genet.* – 1995. – 11 (4). – P. 456-8.

333. Reconstruction of the long bones by the induced membrane and spongy autograft / C. Masquelet, F. Fitoussi, T. Begue, et al. // *Ann. Chir. Plast. Esthet.* – 2000. – Vol. 45, No 3. – P. 346-353.

334. Reith, E.J. The binding of calcium within the Golgi saccules of the rat odontoblast / E. J. Reith // *Am. J. Anat.* – 2005. – Vol. 147, No 3. – P. 267-271.

335. Relationships between serum biomarker levels and clinical presentation of human osteosarcomas / S. Limmahakhum, P. Pothacharoen, N. Theera-Umpon, et al. // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* – 2011. – Vol. 12, No 7. – P. 1717-1722.

336. Requirement for sialic acid on the endothelial ligand of a lymphocyte homing receptor / D.D. True, M.S. Singer, L.A. Lasky, et al. // *J. Cell Biol.* – 1990. – Vol. 111, No 6, Pt. 1. – P. 2757-2764.

337. Rifkin, D.B. Latent transforming growth factor- β (TGF- β) binding proteins: orchestrators of TGF- β availability / D.B. Rifkin // *J. Biol. Chem.* – 2005. – 280 (9). – P. 7409-12.

338. Risedronate decreases biochemical markers of cartilage degradation but does not decrease symptoms or slow radiographic progression in patients with medial compartment osteoarthritis of the knee: results of the two-year multinational knee osteoarthritis structural arthritis study / C.O. Bingham 3rd, J.C. Buckland-Wright, P. Garnero, et al. // *Arthritis Rheum.* – 2006. – Vol 54, No 11. – P. 3494-3507.

339. Role of vascular endothelial growth factor in bone marrow stromal cell modulation of endothelial cells / D. Kaigler, P.H. Krebsbach, P.J. Polverini, et al. // *Tissue Eng.* – 2003. – Vol. 9, No 1. – P. 95-106.

340. Rolighed, L. Bone involvement in primary hyperparathyroidism and changes after parathyroidectomy / L. Rolighed, L. Rejnmark, P. Christiansen // *US Endocrinology.* – 2013. – Vol. 9, Is. 2. – P. 181-184.

341. Roughley, P.J. Osteogenesis imperfecta – clinical and molecular diversity / P.J. Roughley, F. Rauch, F.H. Glorieux // *Eur. Cell Mater.* – 2003. – No 5. – P. 41-47.

342. Rude, R.K. Magnesium deficiency: a possible risk factors for osteoporosis / R.K. Rude // *Nutritional aspects of osteoporosis.* – San Diego: Academic Press, 2001. – Chapter 23. – P. 263-271.

343. Sagalovsky, S. Osteoporosis and role RANKL-RANK-OPG system and notch signaling pathway in bone development and remodeling / S. Sagalovsky, M. Schönert // Український ревматологічний журнал. – 2014. – Vol. 3, Is. 57. – P. 29-37.

344. Sagalovsky, S. Physiological role of growth factors and bone morphogenetic proteins in osteogenesis and bone fracture healing: a review / S. Sagalovsky // Al'manah Kliničeskoj Mediciny. – 2015. – No 38. – P. 113-126.

345. Saotome, K. Bone resorption under the influence of parathyroid in vitro / K. Saotome, T. Hoshino, T. Harada // Nihon Seikeigeka Gakkai Zasshi. – 1982. – Vol.56, No 8. – P. 777-789.

346. Sas, A.A. The age-dependency of genetic and environmental influences on serum cytokine levels: A twin study / A.A. Sas, Y. Jamshidi, D. Zheng, et al. // Cytokine. – 2012. – Vol. 60. – P. 108-113.

347. Seibel, M.J. Biochemical markers of bone turnover: Part I: biochemistry and variability / M.J. Seibel // Clin. Biochem. Rev. – 2005. – Vol. 26, No 4. – P. 97-122.

348. Seibel, M.J. Biochemical markers of bone turnover: Part II: clinical applications in the management of osteoporosis / M.J. Seibel // Clin. Biochem. Rev. – 2006. – Vol. 27, No 3. – P. 123-138.

349. Sharma, P.S. VEGF/VEGFR pathway inhibitors as anti-angiogenic agents: Present and Future / P.S. Sharma, R. Sharma, T. Tyagi // Curr. Cancer Drug Targets. – 2011. – 11(5). – P. 624–33.

350. Shibuya, M. Differential roles of vascular endothelial growth factor receptor-1 and receptor-2 in angiogenesis / M. Shibuya // J. Biochem. Mol. Biol. – 2006. – N 39. – P. 469–78.

351. Shibuya, M. Structure and function of VEGF/VEGF-receptor system involved in angiogenesis / M. Shibuya // Cell Struct. Funct. – 2001. – Vol. 26, No 1. – P. 25-35.

352. Shimer, A.L. Spinal reconstruction and bone morphogenetic proteins: open questions / A.L. Shimer, F.C. Oner, A.R. Vaccaro // *Injury*. – 2009. – Vol. 40, Suppl. 3. – P. 32-38.
353. Signaling networks that control the lineage commitment and differentiation of bone cells / C. S. Soltanoff, W. Chen, S. Yang, et al. // *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*. – 2009. – Is. 1. – P. 1-46.
354. Simpson, A.H. The role of growth factors and related agents in accelerating fracture healing / A.H. Simpson, L. Mills, B. Noble // *J. Bone Joint Surg. Br.* – 2006. – Vol. 88, No 6. – P. 701-705.
355. Slugina, A.S. Optimization of reparative osteogenesis jaws on aging / A.S. Slugina, A.K. Iordanishvili, A.A. Serikov, et al. // *Adv Gerontol.* – 2016. – 29(1). – P. 128-133.
356. Smith N. Key products: [электр. ресурс]. – Режим доступа: <http://www.smith-nephew.com/>.
357. Stogov, M.V. Growth factors in human serum during operative tibial lengthening with the Ilizarov method / M.V. Stogov, S.N. Luneva, K.I. Novikov // *J. Orthop. Res.* 2013. – Vol. 31, No 12. – P. 1966-1970.
358. Szulc, P. Biochemical measurements of bone turnover in children and adolescents / P. Szulc, E. Seeman, P.D. Delmas // *Osteoporos Int.* – 2000. – 11(4). – P. 281-94.
359. Tang, S.Y. Regulation of postnatal bone homeostasis by TGF [beta] / S.Y. Tang, T. Alliston // *BoneKEy reports*. – 2013. – Vol. 2. – P. 255-260.
360. Thays, M.V. Physical exercise and vascular endothelial growth factor (VEGF) in elderly: A systematic review / M.V. Thays, A.M. Stein, F.G. de Melo Coelho, et al. // *Archives of gerontology and geriatrics*. – 2014. – P. 1872-6976.
361. The associations between serum VEGF, bFGF and endoglin levels with microvessel density and expression of proangiogenic factors in malignant and benign ovarian tumors / S. Szubert, R. Moszynski, S. Michalak, et al. // *Microvasc. Res.* – 2016. – Vol. 107. – P. 91-96.

362. The brain modulates insulin sensitivity in multiple tissues / E.T. Parlevliet, C.P. Coomans, P.C.N. Rensen, et al. // *How gut and brain control metabolism* / edited by P.J.D. Delhanty, A.J. van der Lely. – Basel: Karger, 2014. – Vol. 42. – P. 50-58.

363. The characteristic features of bone regeneration and reorganization after deformity corrections in patients in with vitamin D-deficient rickets and vitamin D-resistant one / G.V. Diachkova, E.A. Riazanova, K.A. Diachkov, et al. // *Genij Ortopedii*. – 2010. – No 1. – P. 130-134.

364. The downregulating effect of protamine sulfate on VEGF expression and VEGF-VEGF receptor binding in vitro / C. Qu, P. Ma, Y. Yu, et al. // *Chin. Ophthalm. Res.* – 2009. – Vol. 27, No 3. – P. 170-173.

365. The positive effects of different platelet-rich plasma methods on human muscle, bone, and tendon cells / A. Mazzocca, M.B. McCarthy, D.M. Chowaniec, et al. // *Am. J. Sports Med.* – 2012. – Vol. 40, No 8. – P.1742-1749.

366. The role of osteocalcin in human glucose metabolism: marker or mediator? / S.L. Booth, A. Centi, S.R. Smith, et al. // *Nat. Rev. Endocrinol.* – 2013. – Vol 9, No 1. – P. 43-55.

367. The role vascular endothelial growth factor in ossification. *International* / Y.Q. Yang, Y.Y. Tan, R. Wong, et al. // *J. Oral Sci.* – 2012. – Vol. 4, No 2. – P. 64-68.

368. The somatomedin hypothesis: 2001 / D. LeRoith, C. Bondy, S. Yakar, et al. // *Endocr. Rev.* – 2001. – Vol. 22, No 1. – P. 53-74.

369. The stemcell times. Факторы роста. [электр. ресурс]. – Режим доступа: <http://www.stemcellrussia.com/>

370. The use of growth factors and other humoral agents to accelerate and enhance burn wound healing / Y.H. Ching, T.L. Sutton, Y.N. Pierpont, et al. // *Eplasty*. – 2011. – Vol. 11. – P. e41.

371. Transforming growth factor-beta 1 to the bone / K. Janssens, P. ten Dijke, S. Janssens, et al. // *Endocr. Rev.* – 2005. – Vol. 26, No 6. – P. 743-774.

372. Transforming growth factor- β 1 treatment of oral cancer induces epithelial-mesenchymal transition and promotes bone invasion via enhanced activity of osteoclasts / J. Quan, M. Elhousiny, N.W. Johnson, et al. // *Clin. Exp. Metastasis*. – 2013. – Vol. 30, No 5. – P. 659-670.

373. Treatment of tibial shaft non-unions: bone morphogenetic proteins versus autologous bone graft / G. Zimmermann, C. Wagner, K. Scheckenbecher, et al. // *Injury*. – 2009. – Vol. 40, Suppl. 3. – P. S50-S53.

374. Underwood, L.E. Normal and aberrant growth / L.E. Underwood, J.J. VanWyk // *Williams Textbook of Endocrinology*. – 1991. – P. 1079-1104.

375. Use of an intramedullary rod for the treatment of congenital pseudarthrosis of the tibia. Surgical technique / M.B. Dobbs, M.M. Rich, J.E. Gordon, et al. // *J. Bone Joint Surg. Am.* – 2005. – Vol. 87, Suppl. 1(Pt 1). – P. 33-40.

376. Use of autologous platelet-rich plasma to treat muscle strain injuries / J.W. Hammond, R.Y. Hinton, L.A. Curl, J et al. // *Am. J. Sports Med.* – 2009. – Vol. 37, No 6. – P. 1135-1142.

377. Utility of biochemical markers in osteoporosis / P.D. Delmas, P. Garnero, R. Marcus, et al. // *Osteoporosis*. – San Diego : Academic Press, 1996. – P. 1075-1088.

378. Vascular endothelial growth factor – a positive and negative regulator of tumor growth / L.M. Vecchiarelli-Federico, D. Cervi, M. Haeri // *Cancer Res.* – 2010. – Vol. 70, No 3. – P. 863-867.

379. Vascular endothelial growth factor C promotes ovarian carcinoma progression through paracrine and autocrine mechanisms / G. Decio, V. Taraboletti, R. Patton, et al. // *Am. J. Pathol.* – 2014. – Vol. 184, No 4. – P. 1050-1061.

380. Vascular endothelial growth factor induces bone marrow-derived mesenchymal stem cells differentiation into endothelial cells / N. Wang, R. Zhang, S. Wang, // *Proceedings of the 2012 international conference on applied biotechnology*. – Berlin : Springer. – 2014. – Vol. 3. – P. 1567-1574.

381. Vascular endothelial growth factor induces EDRF-dependent relaxation in coronary arteries / D.D. Ku, J.K. Zaleski, S. Liu, et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 1993. – Vol. 265. – P. 586-592.

382. Vascular endothelial growth factor mediates intracrine survival in human breast carcinoma cells though internally expressed VEGFR1/FLT / T. Lee, S. Seng, M. Sekine, et al. // *PLOS Med.* – 2007. – Vol. 4, No 6. – P. 1001-1016.

383. Vascular endothelial growth factor stimulates prostacyclin production and activation of cytosolic phospholipase A2 in endothelial cells via p42/p44 mitogen-activated protein kinase / C. Wheeler-Jones, R. Abu-Ghazaleh, R. Cospedal, et al. // *FEBS Lett.* – 1997. – Vol. 420, No 1. – P. 28-32.

384. VEGF upregulates ecNOS message, protein, and NO production in human endothelial cells / J.D. Hood, C.J. Meininger, M. Ziche, et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 1998. – Vol. 274. – P. 1054-1058.

385. VEGF, TNF-alpha and 8-isoprostane levels in exhaled breath condensate and serum of patients with lung cancer / E. Dalaveris, T. Kerenidi, A. Katsabeki-Katsafli, et al. // *Lung Cancer.* – 2009. – Vol. 64, No 2. – P. 219-225.

386. VEGF-A, VEGF-C, AND VEGF-D in colorectal cancer progression / M.L. George, M.G. Tutton, A.M. Abulafi, et al. // *Neoplasia.* – 2001. – Vol. 3, No 5. – P. 420-427.

387. VEGF-C signaling pathways through VEGFR-2 and VEGFR-3 in vasculoangiogenesis and hematopoiesis / K. Hamada, Y. Oike, N. Takakura // *Blood.* – 2000. – Vol. 96, No 12. – P. 3793-3800.

388. Viskochil, D. Genetics oh neurofibromatosis 1 and the NF1 gene / D. Viskochil // *J. Child. Neurol.* – 2002. – Vol. 17, No 8. – P. 562-570.

389. Wang, G. Salf, chloride, bleach, and innate host defense / G. Wang, W.M. Nauseef // *J. Leukoc. Biol.* – 2015. – Vol. 98, No 2. – P. 163-172.

390. Wang, X. Genetic Studies of Bone Diseases: Evidence for Involvement of DNA Damage Response Proteins in Bone Remodeling / X. Wang, B. Li // *International journal of biomedical science: IJBS.* – 2007. – Vol. 3, Is. 4. – P. 217-228.

391. Welsh, L. Hip bone mineral density is improved by high-impact aerobic exercise in postmenopausal women and men over 50 years / L. Welsh, O.M. Rutherford // *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* – 1996. – 74(6). – P. 511-7.
392. Whyte, M.P. Hypophosphatasia / M.P. Whyte // *Genetics of bone biology and skeletal disease.* – Amsterdam : Elsevier/Academic Press, 2013. – Chapter 22. – P. 337-360.
393. Witsch, E. Roles for growth factors in cancer progression / E. Witsch, M. Sela, Y. Yarden // *Physiology.* – 2010. – Vol. 25, No 2. – P. 85-101.
394. Yamashita, T. New roles of osteoblasts involved in osteoclast differentiation / T. Yamashita, N. Takahashi, N. Udagawa // *World. J. Orthop.* – 2012. – Vol. 3, No 11. – P. 175-181.
395. Yamazaki, S. Effect of walking exercise on bone metabolism in postmenopausal women with osteopenia/osteoporosis / S. Yamazaki, S. Ichimura, J. Iwamoto // *J Bone Miner Metab.* – 2004. – 22(5). – P. 500-8.
396. Yetgin, S. Clinical importance of serum vascular endothelial and basic fibroblast growth factors in children with acute lymphoblastic leukemia / S. Yetgin, I. Yenicesu, M. Cetin, et al. // *Leuk. Lymphoma.* – 2001. – 42 (1-2). – P. 83–8.
397. Yüksel, B. Serum IGF-1 and IGFBP-3 levels in healthy children between 0 and 6 years of age / B. Yüksel, M.N. Özbek, N.Ö. Mungan // *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* – 2011. – (2). – P. 84-8.
398. Zoidis, E. Phex cDNA cloning from rat bone and studies on phex mRNA expression: tissue-specificity, age-dependency, and regulation by insulin-like growth factor (IGF) I in vivo / E. Zoidis, J. Zapf, C. Schmid // *Mol. Cell Endocrinol.* – 2000. – Vol. 168, No 1-2. – P.41-51.
399. Zupan, J. Osteoimmunology and the influence of pro-inflammatory cytokines on osteoclasts / J. Zupan, M. Jeras, J. Marc // *Biochemia medica.* – 2013. – Vol. 23, Is. 1. – P. 43-63.