

© Коллектив авторов

## СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ ОСТЕОТРОПНЫХ ФАКТОРОВ РОСТА, МАРКЕРОВ ОСТЕОГЕНЕЗА И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ МОЛЕКУЛ В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ВРОЖДЁННЫМ ЛОЖНЫМ СУСТАВОМ ГОЛЕНИ ПРИ ОРТОПЕДИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМБИНИРОВАННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

*Е.П. Выхованец<sup>1\*</sup>, С.Н. Лунева<sup>1</sup>, Н.В. Накоскина<sup>1</sup>, Д.Ю. Борзунов<sup>1,2</sup>, Д.С. Моховиков<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Российский научный центр “Восстановительная травматология и ортопедия” имени акад. Г.А. Илизарова, 640000, Курган, ул. М. Ульяновой, д. 6, кор. 3; \*эл. почта vykhovanets.eva@mail.ru

<sup>2</sup>Тюменский государственный медицинский университет, Тюмень

Врождённый ложный сустав является наследственной, системной патологией, характеризующейся нарушениями процессов костного ремоделирования, патогенетические механизмы которого до сих пор не выявлены. Ортопедическое лечение в ряде случаев оказывается малоэффективным. Поскольку процесс костного ремоделирования проходит под контролем местных и системных факторов роста, в данной работе исследовали содержание некоторых остеотропных факторов роста, маркеров остеогенеза и биологически активных молекул в крови пациентов с врождённым ложным суставом голени. Объектом наблюдения были 12 пациентов с врождённым ложным суставом голени с анатомическим укорочением  $2,5 \pm 1,1$  см в возрасте от 7 лет до 18 лет. Материалом для иммуноферментного исследования была сыворотка крови. В качестве референсных значений использовали собственные данные, полученные при исследовании сыворотки крови 103 условно здоровых лиц среднего возраста  $13,0 \pm 0,27$  лет. Наибольшими изменениям в концентрации были подвержены представители семейств васкулярноэндотелиальных и трансформирующих факторов роста. Обнаружено, что у пациентов наблюдается дисбаланс сывороточного содержания факторов роста семейства TGF и снижен репаративный потенциал костной ткани за счёт преобладания процессов активации остеокластов над дифференцировкой остеобластов, хондроцитов, клеток предшественников и мезенхимальных клеток. 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.

**Ключевые слова:** факторы роста; маркеры остеогенеза; врождённый ложный сустав; сыворотка крови; метод индуцирующей мембраны; метод Г.А. Илизарова

**DOI:** 10.18097/PBMC20186406525

### ВВЕДЕНИЕ

Врождённый ложный сустав (врождённый псевдоартроз, ВЛС) – патологическое состояние костной ткани, которое проявляется нарушением непрерывности трубчатой кости и неравности длины конечностей. Заболевание достаточно редкое, встречается 1 на 150000–200000 новорождённых [1]. К признакам, характеризующим ВЛС, относятся: гипотрофия и фиброзное перерождение мышц, нестабильность коленного сустава и ограничение объёма движений голеностопного, порочные контрактуры, деформации стоп и укорочение поражённого сегмента и стопы, отсутствие нормальных пропорций поражённых частей тела. Ряд исследователей выделили три основные причины возникновения ВЛС: нейрофиброматоз I типа; миелодисплазию; фиброзную дисплазию [2-6]. В литературе преобладает мнение, что в 50-60% случаев ВЛС связан с нейрофиброматозом I типа [7-9]. По данным мультиспиральной компьютерной томографии и гистологических исследований, в зоне псевдоартроза снижается костная плотность и изменяется архитектура кости [10]. Таким образом, врождённый ложный сустав является наследственной, системной патологией,

характеризующейся нарушениями процессов костного ремоделирования, патогенетические механизмы которого до сих пор не выявлены. Ортопедическое лечение в ряде случаев оказывается малоэффективным, и заболевание рецидивирует в отдалённых периодах наблюдения в 65% клинических наблюдений при использовании монотехнологичных решений [11]. В настоящее время известно, что процесс костного ремоделирования проходит под контролем местных и системных факторов роста. Сведений о содержании остеотропных факторов роста в крови больных с врождёнными наследственными заболеваниями костной ткани, в том числе и на этапах хирургического лечения данных пациентов в настоящее время очень мало. В связи с этим мы сочли актуальным и перспективным исследование некоторых остеотропных факторов роста, маркеров остеогенеза и биологически активных молекул в крови пациентов с врождённым ложным суставом голени.

Целью нашего исследования было определение сывороточных концентраций основных остеотропных факторов роста и биологически активных молекул у пациентов с врождённым ложным суставом голени, находящихся на лечении по методу Г.А. Илизарова и остеоиндуцирующей мембраны по Masquelet.

\* - адресат для переписки

## МЕТОДИКА

Объектом наблюдения были 12 пациентов с врождённым ложным суставом голени с анатомическим укорочением  $2,5 \pm 1,1$  см в возрасте от 7 до 18 лет (средний возраст больных  $13,1 \pm 0,59$  г.). Поскольку во время ортопедической реабилитации пациентов в условиях операционной нарушали целостность кости выполнением остеотомии (кортикотомии), тем самым, нанося скелетную травму, обследования осуществляли в соответствии с основными этапами травматической болезни: до операции, 3-5, 7-10, 12-14 и 30-е сутки после операции [12, 13]. Для пациентов с ВЛС были выбраны данные этапы забора крови, так как они являются наиболее оптимальными, а также в связи с малым нахождением на лечении в Центре Илизарова [10, 11]. В других наших статьях [14], мы сравнивали пациентов не только с врождённым ложным суставом, но и с несовершенным остеогенезом и фосфат-диабетом, где ключевыми этапами являлись 30-е сутки. По мнению многих травматологов-ортопедов, именно 30-е сутки являются ключевыми для анализа течения репаративного остеогенеза [1, 10, 11, 14].

По этиопатогенезу врождённые дефекты были представлены нейрофиброматозом I типа. Хирургическое вмешательство осуществляли по методике Masquelet, основанной на концепции “биологической” остеоиндуцирующей мембраны. Дополнительно были использованы внешние фиксаторы и принципы несвободной костной пластики по Г.А. Илизарову [1, 11, 15-17]. Материалом для иммуноферментного исследования была сыворотка крови. В качестве референсных значений использовали собственные данные, полученные при исследовании сыворотки крови 103 условно здоровых лиц (УЗЛ) среднего возраста  $13,0 \pm 0,27$  лет [18].

На проведение исследований было получено разрешение комитета по этике при “РНЦ “ВТО” им. акад. Г.А. Илизарова”. Исследования проводили в соответствии с этическими стандартами Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации “Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека” с поправками 2000 года, “Правилами клинической практики в Российской Федерации”, утверждённой Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 года №266.

Для измерения концентрации факторов роста в сыворотке крови использовали наборы для иммуноферментного анализа (ИФА). Определение ростовых факторов проводили с использованием комплекса оборудования фирмы “ThermoFisher” (США): детектор Multiscan FC, встряхиватель Shaker-401, автоматический промыватель, планшет WellWash. Активность щелочной (ЩФ) и кислой (КФ) фосфатазы, концентрацию кальция, магния в сыворотке крови определяли на автоматическом биохимическом анализаторе Hitachi/ВМ 902 (Япония), используя наборы реагентов фирмы “Витал Девелопмент Корпорэйшн” (Россия). Концентрацию неорганического фосфора в сыворотке

крови определяли на автоматическом анализаторе Hitachi/ВМ 902, используя наборы реагентов фирмы “Витал Диагностика СПб” (Россия). С целью повышения информативности показателей электролитного обмена рассчитывали системный индекс электролитов (СИЭ):  $СИЭ = C_{Ca^{2+}} \cdot C_{Mg^{2+}} \cdot C_{Cl^{-}} / C_{PO_4^{3-}}$ , где: СИЭ – системный индекс электролитов;  $C_{Ca^{2+}}$  – концентрация ионов кальция, ммоль/л;  $C_{Mg^{2+}}$  – концентрация ионов магния, ммоль/л;  $C_{Cl^{-}}$  – концентрация хлорид-ионов, ммоль/л;  $C_{PO_4^{3-}}$  – концентрация фосфат-ионов, ммоль/л, а также рассчитывали индекс фосфатаз: ИФ = ЩФ/КФ [19].

Статистическая обработка данных производилась с помощью пакета анализа данных Microsoft Excel-2000, дополненного разработанными И.П. Гайдышевым [20] программами непараметрической статистики и оценками нормальности распределения выборок AtteStat 1.0. Статистическую значимость различий определяли с использованием критерия Вилкоксона, критерия Манна-Уитни, критерия Данна.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Сывороточные концентрации факторов роста IGF-1 и IGF-2 у больных с ВЛС до оперативного вмешательства не отличалась от таковых у УЗЛ (табл. 1).

Применение цементного спейсера на первом этапе и введение невазкуляризированных трансплантатов во вторую операционную сессию не вызывало достоверных изменений концентраций IGF-1. Начиная с 12 суток после оперативного вмешательства, концентрация IGF-1 снижалась достоверно ( $p=0,000778$ ) и оставалась таковой вплоть до снятия аппарата Илизарова и окончания лечения.

Значение концентрации фактора роста IGF-2 в крови больных врождённым псевдоартрозом на 7-10-е сутки и на 30-е сутки после оперативного вмешательства превышало значение контрольной группы ( $p=0,009023$  и  $p=0,003948$  соответственно) (табл. 1). Максимум концентрации приходился на 30-е сутки и составил 226% от контрольных значений. Исследования содержания IGF-1 и IGF-2, проведённые ранее у пациентов с несовершенным остеогенезом, проходивших лечение аппаратом Илизарова, показали, что концентрация данных факторов роста отличается от таковых у пациентов с ВЛС голени, как до лечения, так и на этапах хирургического лечения [21].

Концентрация фактора роста VEGF в крови пациентов с ВЛС до оперативного вмешательства соответствовала значениям контрольной группы. И только на 30 сутки после оперативного вмешательства концентрация фактора роста VEGF отличалась от контрольных значений и составляла 143% от референсной ( $p=0,009023$ ) (табл. 1).

Проведённый нами литературный поиск данных о концентрации в крови sVEGF-R1 у детей и взрослых не обнаружил публикаций по этому вопросу. В инструкции к набору для определения сывороточных концентраций sVEGF-R1 отсутствуют сведения о нормальном содержании данного рецептора в крови. Всё перечисленное позволяет сделать нам вывод только о том, что содержание данного рецептора в крови людей менее чем 0,42 нг/мл.

Таблица 1. Значение концентрации факторов роста и регуляторных полипептидов в сыворотке крови пациентов с врождённым ложным суставом голени

Период	Значение факторов роста и полипептидов до хирургического вмешательства	Значение факторов роста и полипептидов на 3-5-е сутки после операции	Значение факторов роста и полипептидов на 7-10-е сутки после операции	Значение факторов роста и полипептидов на 12-14-е сутки после операции	Значение факторов роста и полипептидов на 30-е сутки после операции	Значение факторов роста и полипептидов условно здоровых лиц
IGF-1, мг/л						
ДШ	2,92	3,74	3,98	2,16*	2,04*	3,74 2,89-5,42
	4,22	5,87	5,33	2,76*	2,37*	
	2,68	2,76	5,36	2,43*	2,33*	
	4,23	3,10	2,49	2,67*	2,16*	
	2,08	2,17	2,47	2,88*	2,24*	
	3,44	5,85	3,98	2,55*	2,34*	
	2,58	3,08	5,33	2,61*	2,22*	
	4,19	4,99	5,36	2,09*	2,09*	
МШ	3,68	3,42	2,17	2,39*	2,11*	6,42 5,44-11,39
	3,65	3,39	3,42	2,82*	2,31*	
СШ	7,38	5,27	4,48	6,11*	6,38*	9,01 7,28-9,96
	5,91	4,72	6,11	7,02*	6,33*	
	6,83	4,97	12,22	7,04*	6,35*	
IGF-2, нг/мл						
ДШ	0,76	0,76	1,44*	0,67	1,66*	0,73 0,64-0,81
	0,80	0,67	1,40*	0,73	1,65*	
	0,68	0,66	1,02*	0,74	1,62*	
МШ	0,83	0,76	1,50*	1,51*	1,51*	0,75 0,66-0,97
VEGF, пг/мл						
ДШ	155,44	212,56	74,47	73,22*	73,54*	185,71
МШ	327,44	329,11	328,37	328,59*	328,97*	207,05
СШ	202,48	Nd	202,56	202,66*	199,00*	139,23
VEGF-R2, нг/мл						
ДШ	52,048*	26,41*	26,28*	48,34*	54,50*	12,80 9,12-15,46
	19,70*	57,77*	28,24*	34,46*	54,45	
	49,06*	22,88*	46,77	58,12*	54,43*	
	31,80*	33,41*	33,962*	Nd	54,52*	
	19,11*	28,91*	32,56*	39,43*	54,33*	
	35,03*	43,29*	36,72*	Nd	54,54*	
МШ	36,28*	76,68*	76,68*	56,90*	Nd	10,82 8,17-13,72
СШ	38,06*	94,09*	80,74*	44,83*	39,96*	13,25 7,68-15,82
	38,01*	93,93*	53,04*	68,43*	39,81*	
VEGF-A, пг/мл						
ДШ	616,59*	615,12*	613,01*	525,96*	1382,13*	116,90 106,72-128,36
VEGF-R3, нг/мл						
ДШ	39,63*	32,42*	22,24*	47,60*	39,57*	72,30 47,56-133,06
	46,06*	Nd	29,15*	47,54*	39,55*	
	62,25*	56,16*	24,51*	47,62*	39,58*	
	39,90*	17,21*	23,54*	47,55*	39,44*	
	50,81*	23,41*	22,48*	47,61*	39,56*	
МШ	45,58*	21,16*	33,98	44,85	56,32	126,33 117,27-137,03
СШ	24,92*	22,32*	38,16*	25,87*	15,34*	102,37 85,82-133,97
	20,93*	27,87*	32,53*	25,88*	15,29*	
FGF-basic, пг/мл						
ДШ	70,44	2,38*	0,20*	3,44*	3,45*	10,40 9,58-13,73
	87,87	2,03*	0,92*	3,40*	3,40*	
	56,13	2,12*	0,44*	3,45*	3,42*	
	42,36	2,40*	0,25*	3,40*	3,46*	
МШ	0,28	2,26*	0,33*	Nd	Nd	8,94 6,32-11,18
СШ	Nd	2,15*	0,56*	3,44*	18,56*	9,01 4,40-18,13

## ФАКТОРЫ РОСТА И БАМ В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ВРОЖДЁННЫМ ЛОЖНЫМ СУСТАВОМ

Таблица 1. Значение концентрации факторов роста и регуляторных полипептидов в сыворотке крови пациентов с врождённым ложным суставом голени (продолжение)

Период	Значение факторов роста и полипептидов до хирургического вмешательства	Значение факторов роста и полипептидов на 3-5-е сутки после операции	Значение факторов роста и полипептидов на 7-10-е сутки после операции	Значение факторов роста и полипептидов на 12-14-е сутки после операции	Значение факторов роста и полипептидов на 30-е сутки после операции	Значение факторов роста и полипептидов условно здоровых лиц
<b>TGF-β1, нг/мл</b>						
ДШ	17,71	24,60	22,80	12,54*	10,38*	21,42 17,56-25,27
	18,93	223,65	21,76	12,34*	11,22*	
	26,92	23,34	23,94	13,22*	12,24*	
	19,07	23,56	25,16	11,31*	10,44*	
	24,20	25,83	23,06	10,48*	12,01*	
МШ	24,13	26,66	26,66	18,19*	18,14*	23,98 18,87-30,30
СШ	35,29	30,56	27,03	13,44*	38,45*	27,39
	29,85	31,62	35,48	13,40*	39,28*	22,26-35,99
<b>TGF-β2, нг/мл</b>						
ДШ	8,96*	4,24*	7,09*	9,11*	9,76*	7,98 7,59-8,81
	4,28*	3,25*	7,14*	9,04*	9,44*	
	1,73*	3,56*	7,05*	9,15*	9,45*	
	1,76*	4,01*	7,10*	9,07*	9,72*	
МШ	2,95*	3,04*	3,04*	9,35*	9,65*	5,51 4,67-7,03
	2,53*	1,56*	3,01*	4,56*	9,80*	6,85
	2,05*	1,58*	2,99*	4,75*	9,76*	5,81-7,68
<b>TGF-α, пг/мл</b>						
ДШ	17,66	27,70*	17,72	28,54*	29,48*	21,69 17,09-26,20
	16,94	27,22*	17,84	28,38*	29,93*	
	17,23	28,98*	17,25	28,87*	29,35*	
МШ	16,48	21,36*	12,21	22,49*	22,14*	15,11 12,57-16,91
СШ, девочки	18,15	19,99*	19,96	18,79*	24,36*	9,10
	18,18	20,39*	19,24	21,22*	24,22*	9,33-18,52
<b>SCF, пг/мл</b>						
ДШ, мальчики	769,06	769,45	784,33	Nd	623,18*	841,71 765,38-841,71
ДШ, девочки	847,56	665,18	755,00		615,87*	731,13
	962,36	961,33	962,12			652,45-936,98
СШ	809,12	619,14	786,58	749,87	547,11*	826,27
	805,52	642,79	888,14	748,32	547,60*	746,40-887,97
<b>SCF sR, пг/мл</b>						
ДШ	10,33	10,25	10,34	10,09	10,03	10,19
	10,38	10,23	10,20	10,06	10,06	10,05-10,44
МШ	11,71	12,92	13,22	12,82	12,13	12,84 11,69-13,25
СШ	10,78	10,55	10,41	10,06	10,13	10,15
	11,10	10,42	11,08	10,01	10,05	9,48-11,11

Примечание: \* - различия достоверны с нормативными значениями при  $p \leq 0,05$  по критериям Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна. Значения факторов роста и регуляторных полипептидов на этапах ортопедического лечения представлены для каждого пациента. Результаты значений условно здоровых лиц представлены в виде медиан (25 и 75 квартилей). Условно здоровых лиц (референсная группа) разделили на возрастные группы согласно "Возрастной периодизации" Всемирной Организации Здравоохранения. ДШ - дошкольный период, возраст 7 лет; МШ - младший школьный период 8-12 лет, СШ - старший школьный возраст 13-18 лет. Nd - недетектируемые значения.

Кроме фактора роста VEGF нами была исследована концентрация фактора VEGF-A. Нами было установлено, что ещё 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 значения концентрации данного фактора роста также были выше значений таковых у УЗЛ. Максимум концентрации приходился на 30-е сутки после оперативного вмешательства и составил 1182% ( $p=0,003948$ ).

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, чем у контроля.

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-е сутки ( $p=0,006167$ ,  $p=0,005411$ ) после оперативного вмешательства (367%), а минимум – на дооперационном этапе (287%).

У больных с врожденным псевдоартрозом на дооперационном этапе в сыворотке крови концентрации основного фактора роста фибробластов (FGF-basic) находились в пределах контрольных значений. Необходимо отметить, что значения данного показателя у пациентов с ВЛС имели значительный разброс, высокую дисперсию и вариацию, обладая при этом левосторонним сдвигом. Это приводило к тому, что при значении медианы 229% от контрольной повышении концентрации фактора роста FGF-basic в крови больных ВЛС не достигало уровня статистической значимости ( $p=0,05611$ ). 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 (табл. 1).

Концентрация фактора TGF- $\beta$ 1 в сыворотке крови больных ВЛС в дооперационный период, а также через 3-10 дней после операции, не отличалась от значений контрольной группы. К 12-14 дню после операции концентрация TGF- $\beta$ 1 резко возросла по сравнению с предыдущим этапом и достигала 192% от значений, полученных у УЗЛ ( $p=0,047202$ ).

Сывороточная концентрация фактора роста TGF- $\beta$ 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 оперативного вмешательства и составлял 122% от контроля ( $p=0,009023$ ). Подобная динамика концентрации факторов роста семейства TGF в крови нами обнаружена у больных с несовершенным остеогенезом при лечении методом чрескостного остеосинтеза по Илизарову [21].

На дооперационном этапе у пациентов с ВЛС значение концентрации фактора роста TGF- $\alpha$  составило 105% и не отличалось от значений УЗЛ. Однако, на 3-5-е сутки после оперативного вмешательства его концентрация резко возросла и составила 227% от контроля ( $p=0,003947$ ). К 7-10 суткам после оперативного вмешательства концентрация снизилась, к 12-14-м суткам составляла 128%, но тем не менее, отличаясь от значений контроля. Максимум концентрации приходился на 30-е сутки после оперативного вмешательства (268%). Динамика его концентрации в сыворотке крови напоминала динамику TGF- $\beta$ 2 (табл. 1).

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 ( $p=0,009023$ ). Значение концентрации рецептора SCF sR в сыворотке крови пациентов с ВЛС на дооперационном этапе и на этапах ортопедического лечения не отличались от значений, полученных у УЗЛ.

Значение концентрации белка CrossLaps – маркера костной резорбции – в сыворотке крови пациентов с ВЛС до лечения, и на всех этапах ортопедического лечения достоверно отличалось от значений, полученных у референсной группы (табл. 2). До оперативного вмешательства, через 3 и до 10 дней концентрация этого белка была снижена. На 12-14-е сутки после оперативного вмешательства происходило более чем 2-х кратное увеличение содержания как по сравнению с контролем, так и дооперационным уровнем ( $p=0,011646$ ;  $p=0,009023$ ). К моменту завершения лечения был отмечен минимум значений концентрации CrossLaps, который составил 69% от контрольного уровня (табл. 2).

Выполненные нами ранее исследования показали, что при другой наследственной костной патологии – фосфат-диабет, концентрация CrossLaps находится в пределах референсных значений до лечения, а на 5-7-е сутки после оперативного вмешательства достоверно возрастает [22].

Концентрации остеокальцина на дооперационном этапе не отличалась от значений контроля. С 3 и до 10 суток после оперативного вмешательства значение концентрации в сыворотке крови пациентов с ВЛС достоверно снижалось (табл. 2).

Значение концентрации пиридинолина (PYD) как на дооперационном, так и на этапах ортопедического лечения, не отличалось от значений контрольной группы (табл. 2). В то время как у пациентов с несовершенным остеогенезом и фосфат-диабетом ортопедическое лечение приводило к значительному изменению данного маркера. Так, у пациентов с несовершенным остеогенезом концентрация маркера резорбции – пиридинолина, на дооперационном этапе имела предельно низкие значения – 7% ( $p=0,003$ ), которые после операции возрастали до 122% [23].

Содержание кальция в сыворотке крови у пациентов с ВЛС соответствовали референсным значениям. Значение концентрации кальция было снижено лишь в конце ортопедического лечения, после снятия аппарата Илизарова, при этом концентрация неорганического фосфата была достоверно выше контроля, как до лечения, так и на протяжении всего периода лечения (табл. 2).

Концентрация магния в крови пациентов с ВЛС соответствовала нормативным значениям, некоторое снижение концентрации наблюдалось на 3-5-е ( $p=0,029842064$ ) и 30-е сутки ( $p=0,003947752$ ) после оперативного вмешательства.

## ФАКТОРЫ РОСТА И БАМ В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ВРОЖДЁННЫМ ЛОЖНЫМ СУСТАВОМ

*Таблица 2.* Биохимические показатели сыворотки крови пациентов с врождённым ложным суставом голени на этапах ортопедического лечения

Биохимический показатель, единицы измерения	Нормативные значения	Референсные значения	До операции	3-5-е сутки после операции	7-10-е сутки после операции	12-14-е сутки после операции	30-е сутки после операции
Кальций, ммоль/л	2,02–2,60	2,43 2,37–2,45	2,43 2,40–2,48	2,40 2,24–2,49	2,43 2,27–2,51	2,48 2,37–2,49	2,34 <sup>#</sup> 2,31–2,37
Фосфор неорганический, ммоль/л	0,87–1,45	1,24 1,15–1,34	1,57* 1,38–1,63	1,41* 1,26–1,63	1,64* 1,36–1,74	1,79* 1,42–2,02	1,47* 1,44–1,68
Магний, ммоль/л	0,8–1,0	0,78 0,73–0,98	0,84 0,78–0,89	0,79* 0,73–0,82	0,88 0,81–0,89	0,80 0,72–0,85	0,71* <sup>#</sup> 0,69–0,73
Хлор, ммоль/л	97–108	104 100–105	106 104–108	104 102–107	108 106–109	103 102–104	107 106–108
Системный индекс электролитов (СИЭ)	Нет данных	156,98 146,9–188,8	130,69 <sup>#</sup> 115,9–140,7	117,93 <sup>#</sup> 116,8–126,4	115,63 <sup>#</sup> 106,5–123,1	103,60 <sup>#</sup> 90,17–117,42	163,52 158,8–167,5
Активность фосфомоноэстераз							
Щелочная фосфатаза (ЩФ), ед./л	В зависимости от возраста	91,15 68,95–168,35	189,10 119,5–210,5	128,45 79,68–167,75	185,75 97,90–204,20	184,90 121,73–201,8	105,20 78,95–152,8
Кислая фосфатаза (КФ), ед./л	До 4,0	5,4 4,1–7,05	6,0* 5,25–7,30	6,4* 4,90–7,45	6,05* 5,45–8,30	5,40* 4,05–8,85	3,60 <sup>#</sup> 0,98–3,90
Индекс фосфатаз	Нет данных	20,03 15,2–26,9	25,39 21,1–30,8	21,59 17,9–24,7	25,18 19,02–37,1	23,74 19,6–27,7	30,84* 25,2–36,5
Маркеры остеогенеза							
CrossLaps	Нет данных	100%	77%*	86%*	74%*	206%*	69%*
PYD			108%	114%	112%	110%	118%
Остеокальцин			133%	66%*	70%*	72%*	73%*

Примечание: \* – различия достоверны с нормативными значениями при  $p \leq 0,05$  по критериям Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна; # – различия достоверны с постоперационными значениями при  $p \leq 0,05$  по критериям Манна-Уитни, Вилкоксона и Данна. Данные в таблице представлены в виде медианы, 25 и 75 квартилей. Значения PYD, остеокальцина и CrossLaps представлены в процентном отношении от референсной группы.

Содержание хлоридов в сыворотке крови больных на протяжении лечения соответствовало нормальным значениям. С целью повышения информативности показателей электролитов, как маркеров процессов минерального обмена в костной ткани в сыворотке крови, был рассчитан СИЭ. Значение СИЭ у пациентов с ВЛС до оперативного вмешательства и на протяжении 2-х недель после неё были достоверно ниже референсных значений. К моменту окончания лечения показатель СИЭ приходил в норму и указывал на баланс обмена минералов в костной ткани пациентов (табл. 2).

Для изучения баланса процессов костного ремоделирования, в крови пациентов были изучены активности ЩФ и КФ.

Проведенное нами исследование выявило, что при нормальной активности ЩФ наблюдалось увеличение активности КФ. К завершению ортопедического лечения данный показатель приходил к нормальным значениям. Значения индекса фосфатаз указывали на достоверное преобладание

остеосинтетических процессов в костной ткани, что подтверждалось нормализацией значений СИЭ в сыворотке крови пациентов ВЛС (табл. 2).

### ОБСУЖДЕНИЕ

Наибольшим изменениям среди изученных факторов роста и их рецепторов в крови больных с ВЛС были подвержены представители сосудистых факторов роста, такие как VEGF-A, и его рецептор VEGF-R2, FGF-basic. Очевидно, что у данной группы пациентов до операции был нарушен процесс ангиогенеза. Кроме того, нами было обнаружено, что наименьшая сывороточная концентрация до оперативного вмешательства наблюдается для рецептора VEGF-R3 и фактора роста TGF- $\beta$ 2. Поскольку обнаружено низкое содержание рецептора VEGF-R3, мы предполагаем, что это может быть связано с нарушением образования лимфоцитов. Концентрация фактора роста TGF- $\beta$ 2 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 ВЛС голени содержание IGF-1, IGF-2, VEGF, TGF- $\alpha$ , SCF и его рецептора SCF Sr, остеокальцина, пиридинолина и щелочной фосфатазы не отличалось от значений группы контроля.

Таким образом, можно заключить, что у пациентов с ВЛС голени до какого-либо хирургического лечения нарушены процессы остео-, ангио- и возможно лимфогенеза. Последнее может быть объяснено сопутствующей соматической патологией

Во время ортопедического лечения по методу Masquelet у пациентов с ВЛС голени на начальных этапах (3-5; 7-10 сутки) происходило увеличение содержания факторов роста VEGF, IGF-2, TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, а также рецептора VEGF-R2; уменьшение содержания рецептора VEGF-R3 и фактора FGF-basic, что сопровождалось приспособительной перестройкой метаболизма в костной ткани и выражалось в увеличении содержания 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-е сутки) на фоне уменьшения сывороточных концентраций (по сравнению с дооперационными значениями) факторов роста IGF-1 (на 15%), SCF (32%) и увеличения в крови содержания факторов роста TGF- $\beta$ 2 (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.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на успехи, достигнутые травматологией и ортопедией на пути коррекции длины и формы трубчатых костей, остаются нерешёнными проблемы, связанные с системными нарушениями остеогенеза при врождённой наследственной патологии, а также с воздействием скелетной травмы (оперативного вмешательства на скелете) на организм, направление и выраженность которого значительно отличаются в зависимости от той или иной врождённой патологии скелета.

К настоящему времени известны не менее трёх десятков факторов роста, обнаруживаемых в костной ткани, синтезируемых остеогенными клетками или поступающими в кость посредством диффузии [21]. Ещё более велико количество факторов роста, на которые способны отвечать остеогенные клетки, при этом известно, что один

фактор роста может иметь несколько различных биологических активностей, то есть может ингибировать пролиферацию одних клеток, и стимулировать – других, а различные факторы роста имеют отчасти сходные функциональные свойства; характер биологической активности фактора зависит от клеток-мишеней, на которые он действует, его концентрации, особенностей среды, в которой действует. При этом кооперативное действие нескольких факторов роста не является суммой эффектов отдельных факторов, а для максимального функционального ответа клетки требуется композиция нескольких факторов роста при оптимальной концентрации каждого из компонентов. Известно также, что системные гормоны могут модифицировать характер биологической активности факторов роста и величину клеточного ответа на них, но и цитокины способны модулировать синтез и освобождение системных гормонов. После хирургического вмешательства на скелете, на этапах костного ремоделирования факторы роста могут накапливаться в минерализованном внеклеточном матриксе в латентной форме, высвобождаясь в фазе резорбции и инициировать фазу новообразования костной ткани, выполняя функцию факторов сопряжения резорбции и новообразования, поддерживая скелетный гомеостаз. При ремоделировании костной ткани факторы роста поступают в циркуляторное русло и могут реализовать свои физиологические свойства как дальнедистантные регуляторы клеточных функций. Клетками-мишенями физиологической активности факторов роста являются не только остеогенные клетки, но и клетки кроветворной и иммунной систем.

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 [24].

По результатам нашего исследования было обнаружено, что у пациентов с ВЛС голени чередование стадий репаративного остеогенеза не нарушено, однако течение фаз репаративной регенерации замедлено, восстановление костной ткани происходит отсроченно более чем на 2 недели. Высвобождение IGF-2 и TGF- $\alpha$  в сыворотку крови на 3-7-е сутки может свидетельствовать о начале острофазовой реакции и начале формирования костной мозоли [25]. На 12-14-е сутки после ортопедического вмешательства увеличение содержания TGF- $\beta$ 1 способствует формированию клеточного пула остеобластов [26]. Затем происходит уменьшение их митотической и пролиферативной активности, о чем свидетельствует уменьшение сывороточной концентрации IGF-1. 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- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 2 и маркеров перестройки костной ткани. В условиях нарушения микроархитектоники костной ткани 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 [27].

Результаты нашего исследования показали, что у пациентов с ВЛС голени течение стадий репаративной регенерации было замедлено, восстановление костной ткани происходило отсроченно (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- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 2 и маркеров перестройки костной ткани. 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.

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 расчёте сроков фиксации в аппарате Илизарова.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Кутиков С.А., Lettreuch A.R., Saighi-Bouaounina A., Борзунов Д.Ю., Дьячкова Г.В. (2014) *Гений ортопедии*, №3, 24-30.
2. Pannier S. (2011) *Orthop. Traumatol. Surg. Res.*, **97**, 750-761. DOI: 10.1016/j.otsr.2011.09.001.
3. Viskochil D. (2002) *J. Child. Neurol.*, **17**, 562-557.
4. Ткаченко С.С. (2010) Врождённые ложные суставы. Портал о хирургии костной ткани. Электронный ресурс [код доступа] URL: [http://bone-surgery.ru/view/vrozhdennyye\\_lozhnye\\_sustavy/](http://bone-surgery.ru/view/vrozhdennyye_lozhnye_sustavy/) (дата обращения 14.02.2016).
5. Hefti F., Bollini G., Dungal P., Fixsen J., Grill F., Ippolito E., Romanus B., Tudisco C., Wientroub S. (2000) *J. Pediatr. Orthop.*, **9**, 11-15.
6. Nakamura M., Udagawa N., Matsuura S., Mogi M., Nakamura H., Horiuchi H., Saito N., Hiraoka B.Y., Kobayashi Y., Takaoka K., Ozawa H., Miyazawa H., Takahashi N. (2003) *Endocrinology*, **144**, 5441-5449.
7. Paley D. (2012) *Bone Grafting* (Zorzi A., Mirando J.B., eds.), **6**, pp. 91-106.
8. Aegerter E.E. (1950) *J. Bone Joint Surg. Am.*, **32**, 618-626.
9. Crawford A.H. (1986) *Acta Orthop. Scand. Suppl.*, **218**, 1-6.
10. Кутиков С.А., Дьячкова Г.В., Борзунов Д.Ю., Дьячков К.А. (2013) *Гений ортопедии*, №1, 61-65.
11. Борзунов Д.Ю., Чевардин А.Ю., Кутиков С.А. (2014) *Гений ортопедии*, №2, 74-76.
12. Гельфанд Б.Р., Салтанова А.И. (ред.) (2011) *Интенсивная терапия: национальное руководство*, том 1, ГЭОТАР-Медиа, 860 с.
13. Гуманенко Е.К., Самохвалова И.М. (2011) *Военно-полевая хирургия локальных войн и вооружённых конфликтов: Руководство для врачей*, ГЭОТАР-Медиа, М., 672 с.
14. Выхованец Е.П., Лулева С.Н., Накоскина Н.В., Мингазов Э.Р., Попков А.В. (2018) *Сибирский научно-медицинский журнал*, **38**(3), 59-65.
15. Masquelet C. (2003) *Langenbeck's Archives Surgery*, **388**, 344-346.
16. Masquelet C., Begue T. (2010) *Orthopedic Clinics North America*, **41**(1), 27-37.
17. Masquelet C., Fitoussi F., Begue T., Muller G.P. (2000) *Annales Chirurgie Plastique Esthetique*, **45**, 346-353.
18. Выхованец Е.П., Лулева С.Н., Накоскина Н.В. (2018) *Физиология человека*, **44**(6), 1-7.
19. Десятниченко К.С., Скляр Л.В., Гайдышев И.П., Кузнецова Л.С. (2000) В кн. *Актуальные вопросы детской травматологии и ортопедии*, сс. 129-132.
20. Гайдышев И.П. (2004) *Решение научных и инженерных задач средствами Excel, VBA и C/C++, ВХВ-Петербург*, СПб., 512 с.
21. Выхованец Е.П., Рахматулина А.А., Лулева С.Н. (2016) в кн. *Современные технологии в науке и образовании: проблемы, достижения, перспективы*, сс. 64-69.
22. Выхованец Е.П., Сакулин Н.В., Лулева С.Н., Климов О.В. (2017) *Вестник новых медицинских технологий*, **24**(1), 187-190.
23. Выхованец Е.П., Лулева С.Н. (2018) *Здоровье человека в XXI веке – X Юбилейная научно-практическая конференция с международным участием*, сс. 389-395. ISBN 978-5-905861-19-2.
24. Довгалевиц И.И. (2017) *Медицинский журнал*, №2, 76-81.
25. Казакова В.С., Чуев В.П., Новиков О.О. и др. (2011) *Научн. ведомости Белгородского гос. ун-та*, **3**(4-2), 5-12.
26. Ou L., Fang L., Tang H. et al. (2016) *Mol. Med. Rep.*, **13**(1), 720-730.
27. Hwang J.E., Lee J.H., Park M.R. et al. (2013) *Yonsei Med. J.*, **54**(2), 374-380.

Поступила: 03. 05. 2018.  
Принята к печати: 14. 12. 2018.



**CONCENTRATION OF SEVERAL OSTEOTROPIC GROWTH FACTORS,  
MARKERS OF OSTEOGENESIS AND BIOLOGICALLY ACTIVE MOLECULES  
IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH CONGENITAL PSEUDARTHROSIS OF TIBIA  
DURING ORTHOPAEDIC TREATMENT WITH COMBINED TECHNOLOGIES**

*E.P. Vykhoanets<sup>1\*</sup>, S.N. Luneva<sup>1</sup>, N.V. Nakoskina<sup>1</sup>, D.Yu. Borzunov<sup>1,2</sup>, D.S. Mokhovikov<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Russian Ilizarov Scientific Center for Restorative Traumatology and Orthopaedics,  
6, bld. 3, M. Ulianovoy str., Kurgan, 640000 Russia; \*e-mail: vykhovanets.eva@mail.ru

<sup>2</sup>Tyumen State Medical University, Tyumen, Russia

Congenital pseudarthrosis of tibia is a genetic, systemic pathology with impaired bone remodeling and unknown pathogenetic mechanisms. Orthopaedic treatment of the disease can fail in some cases. The process of bone remodeling is known to occur under control of local and systemic growth factors, and we sought to explore several osteotropic growth factors, markers of osteogenesis and biologically active molecules in the blood serum of patients with congenital pseudarthrosis of tibia. The study included 12 patients with congenital pseudarthrosis of tibia and anatomical shortening of  $2.5 \pm 1.1$  cm. The age of patients ranged from 7 years to 18 years. Blood serum was used for enzyme immunoassay analysis. The own blood serum levels of 103 conditionally healthy individuals (of mean age of  $13.0 \pm 0.27$  years) were considered as the norm. Greater changes in the concentration were detected among vascular endothelial and transforming growth factors. The patients showed imbalance in serum TGF, low reparative potential of bone tissue due to osteoclast activation prevailing over differentiation of osteoblasts, progenitor and mesenchymal cells. Dynamics in serum concentration of IGF at the time of frame removal indicated to terminating osteoblast activation and collagen synthesis and concomitant active bone restructuring.

**Key words:** growth factor; markers of osteogenesis; congenital pseudarthrosis of tibia; blood serum; induced membrane technique; Ilizarov method