

Высокие концентрации некоторых метаболитов и факторов роста у пациентов с замедленно срастающимися переломами костей нижних конечностей

М.В. Стогов, А.Г. Карасев, Е.А. Киреева, Н.В. Тушина

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. академика Г.А. Илизарова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Курган, Россия

High concentrations of several metabolites and growth factors in patients with delayed lower limb fracture healing

M.V. Stogov, A.G. Karasev, E.A. Kireeva, N.V. Tushina

Russian Ilizarov Scientific Center for Restorative Traumatology and Orthopaedics, Kurgan, Russian Federation

Цель. Изучить концентрацию метаболитов, факторов роста и гематологических показателей у людей с замедленно срастающимися переломами костей нижней конечности. **Материалы и методы.** Изучена концентрация метаболитов, факторов роста и гематологических показателей у 13-и пациентов с замедленно срастающимися переломами бедра и голени (основная группа) на сроках после перелома 7–11 месяцев. Группу сравнения составили 7 пациентов со сросшимися переломами бедра и голени на сроках после перелома 10–12 месяцев. В референсную группу были включены 10 практически здоровых людей, в анамнезе которых переломов не было. **Результаты.** У пациентов основной группы, в отличие от людей референсной группы и пациентов группы сравнения, в сыворотке крови была обнаружена достоверно высокая концентрация лактата, триглицеридов, трансформирующих факторов роста TGF- α и TGF- β 2, снижено содержание инсулиноподобного фактора роста 1. Гематологические показатели у людей всех групп при обследовании находились в пределах границ нормы. **Заключение.** Локальная гипоксия, ацидоз и выработка ростовых факторов, поддерживающих остеолиз, являются основными патофизиологическими процессами, приводящими к замедлению сращения переломов костей конечностей.

Ключевые слова: бедро, голень, перелом, замедленная консолидация, факторы роста, гематологические показатели

Purpose To study concentrations of metabolites and growth factors as well as hematological parameters in patients with delayed lower limb fracture healing. **Material and methods** Concentrations of several metabolites and growth factors as well as hematological parameters were studied in 13 patients with a delay in healing of femoral and tibial fractures after 7 to 11 months following injury. Seven patients with consolidated diaphyseal femoral and tibial fractures examined 10 to 12 months after the injury were a control group. Ten healthy subjects that did not have any history of fractures were a reference group. **Results** Unlike individuals of control and reference groups, patients with delayed fracture healing showed significantly higher concentrations of lactate, triglycerides, TGF- α and TGF- β 2 in their serum while IGF-1 levels were significantly lower. Hematology tests did not show differences between the groups. **Conclusion** Local hypoxia, acidosis and expression of GFs that support osteolysis were the main pathophysiological processes that could cause the delay in long-bone fracture healing.

Keywords: femur, tibia, fracture, delayed union, growth factors, hematological parameters

ВВЕДЕНИЕ

Замедленное сращение кости (delayed bone healing) после ее перелома представляет сложную ортопедическую проблему. К факторам риска, определяющим развитие данной патологии, относят характер травмы, исходное состояния пациента до травмы, течение послеоперационного периода, сопутствующая фармакотерапия, местная реакция на травму и др. [1–3].

Несомненно, каждый из указанных выше факторов может провоцировать замедление остеогенеза, однако нам представляется, что вне зависимости от причин, приводящих к замедлению сращения перелома, молекулярные механизмы патогенеза замедления сращения переломов одинаковы. При этом очевидно, что первые признаки патологических изменений, приводящих к замедлению остеогенеза, выражаются в изменении концентрации метаболитов и биологически активных веществ в сыворотке крови пациентов [4–6].

Действительно, в настоящее время показано, что при замедленном сращении переломов костей конечностей (в

отсутствии врожденной и эндокринной патологии) в сыворотке крови людей происходят характерные изменения концентрации отдельных регуляторных полипептидов (факторы роста, цитокины) [7–12], изменяется экспрессия некоторых генов [13]. Метаболиты и факторы роста, достоверно изменяющиеся у пациентов с замедленным сращением переломов, по мнению ряда авторов, могут применяться в клинической практике для прогнозирования замедления сращения переломов [14–17]. Эти работы указывают на актуальность и перспективность исследований молекулярных механизмов патогенеза изучаемой патологии, которые могут быть полезны для понимания как фундаментальных процессов остеогенеза, так и для разработок прикладных аспектов лечения пациентов с замедленно срастающимися переломами костей конечностей.

Цель исследования – изучить концентрацию метаболитов, факторов роста и гематологических показателей у людей с замедленно срастающимися переломами костей нижней конечности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 13 пациентов (основная группа) с медленно срастающимися закрытыми диафизарными переломами бедра и голени (тип А по классификации АО/ASIF) на сроках после перелома от 7 до 11 месяцев (сроки сращения превышали ожидаемые в 1,5–2,0 раза). Возраст больных – от 23 до 59 лет (средний возраст $42,0 \pm 7,6$ года, 8 мужчин и 5 женщин), сопутствующие заболевания отсутствовали. Поврежденные сегменты: 9 пациентов – голень, 4 – бедро. Все пациенты поступали в Центр из других учреждений после лечения указанных переломов с применением аппарата внешней фиксации (аппарат Илизарова). Анализ анамнеза позволил определить, что основной, по мнению клиницистов, причиной замедленной консолидации являлось отсутствие полной репозиции отломков. У обследованных больных отмечался отек, подвижность в зоне перелома в пределах 30–45 градусов (сопровождалась болезненностью), крепитация при этом не определялась. Конечность неопороспособная, больной передвигался при помощи костылей, пульсация на дистальных артериях конечности сохранена. Рентгенологически отмечался остеопороз концов отломков, костная мозоль выражена слабо, четко прослеживалась линия излома, имелась небольшая периостальная реакция с ее «разрывом».

Группу сравнения составили 7 пациентов со сросшимися закрытыми диафизарными переломами бедра и голени (тип А по классификации АО/ASIF). Возраст 24 года – 59 лет; средний возраст – $37,2 \pm 5,1$ года; 4 пациента – сросшийся перелом костей голени, 3 – бедра; 4 мужчины, 3 женщины, сроки сращения переломов 2–4 месяца. Сроки после перелома составляли от 10 до 12 месяцев, сопутствующие заболевания отсутствовали.

В референсную группу были включены 10 практически здоровых людей (5 мужчин, 5 женщин) в возрасте от 26 до 50 лет, в анамнезе у которых переломов не было.

Людям всех обследованных групп был однократно проведен комплекс лабораторных исследований крови.

Биохимия крови. В сыворотке крови определяли следующие биохимические показатели: общий белок, альбумин, мочевины, С-реактивный белок, общий холестерин, триглицериды, глюкоза, молочная кислота, общий кальций, неорганический фосфат, магний, калий, натрий, хлориды, щелочная фосфатаза, костный (тартратрезистентный) изофермент кислой фосфатазы, креатинфосфокиназа, аспаратаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза и лактатдегидрогеназа. Концентрацию субстратов и активность ферментов определяли на автоматическом биохимическом анализаторе Hitachi/BM 902 (F. Hoffmann-La Roche Ltd/ Roche Diagnostics GmbH), используя наборы реагентов фирмы Vital Diagnostics (Россия).

Гематология. У людей всех обследованных групп определяли количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гемоглобина, гематокрит, лейкоцитарную формулу. Общий анализ крови выполнен на гематологическом анализаторе ABX Pentra60 (Horiba, Япония).

Факторы роста. В сыворотке крови обследованных пациентов и людей референсной группы определяли концентрацию следующих факторов роста: фактор стволовых клеток (SCF), эпидермальный фактор роста (EGF), васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF), трансформирующие факторы роста (TGF- α , TGF- β 1, TGF- β 2), инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1). Концентрацию факторов роста определяли иммуноферментным методом на фотометре ELX808 (BIO-TEK Inc, США), используя наборы реактивов фирмы R&D Systems (США).

Достоверность отличий между группами обследованных людей определяли с помощью непараметрического критерия Крускала-Уоллиса с последующим множественным сравнением с использованием критерия Данна.

На проведение клинического исследования получено разрешение комитета по этике при ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Большинство биохимических показателей сыворотки крови у пациентов основной группы не имели статистически значимых отличий от значений показателей людей референсной группы и группы сравнения (данные не представлены). Достоверные отличия наблюдались только для трех показателей (табл. 1). В частности, в сыворотке крови пациентов основной группы, в отличие от людей референсной группы и пациентов группы сравнения, был повышен уровень лактата и триглицеридов, достоверно снижена активность щелочной фосфатазы, но только относительно пациентов группы сравнения.

В ходе проведенного обследования также обнаружено, что гематологические показатели у людей всех

обследованных групп находились в пределах значений нормы и не имели статистически значимых межгрупповых отличий (табл. 2).

У пациентов основной группы, относительно людей референсной группы и пациентов группы сравнения, в сыворотке крови была достоверно повышена концентрация трансформирующих факторов роста TGF- α и TGF- β 2, на фоне вдвое сниженного уровня IGF-1 (рис. 1, 2). Кроме того, у пациентов основной группы, относительно людей референсной группы (но не пациентов группы сравнения), в сыворотке крови была достоверно повышена концентрация EGF (рис. 1). Достоверных отличий концентраций SCF и VEGF между группами не обнаружено.

Таблица 1

Некоторые биохимические показатели сыворотки крови людей обследованных групп (медиана, 0,25÷0,75 процентиль)

Показатель	Референсная группа	Основная группа	Группа сравнения
Щелочная фосфатаза, Е/л	80 (54÷103)	73# (58÷92)	115 (89÷149)
Лактат, ммоль/л	1.80 (1,41÷2,02)	2,21*# (2,00÷2,39)	1,88 (1,70÷2,01)
Триглицериды, ммоль/л	0.81 (0,44÷0,96)	1,27*# (0,93÷1,48)	0,70 (0,51÷0,84)

Примечание: * – достоверные отличия с референсной группой при уровне значимости $p < 0,05$; # – достоверные отличия с группой сравнения при уровне значимости $p < 0,05$.

Данные общего анализа крови людей обследованных групп (min÷max)

Показатель	Референсная группа	Основная группа	Группа сравнения
RBC, 10 ⁹ /л	3,90÷5,70	3,90÷4,65	3,97÷4,60
Hb, г/л	120÷157	121÷134	125÷139
HCT, %	38,0÷51,0	38,0÷48,0	40,0÷47,0
PLT, 10 ⁹ /л	210÷390	215÷370	231÷380
WBC, 10 ⁹ /л	4,8÷8,1	5,5÷8,4	4,9÷7,5
LYM, %	28,0÷40,0	26,0÷38,0	27,0÷37,0
MONO, %	4,10÷10,00	7,00÷10,00	6,50÷10,00
EOS, %	0,30÷3,50	1,50÷4,00	2,00÷4,50
BASO, %	0,00÷1,00	0,00÷1,00	0,00÷1,00
СОЭ, мм/час	2,0÷17,0	1,0÷15,0	0,0÷11,0

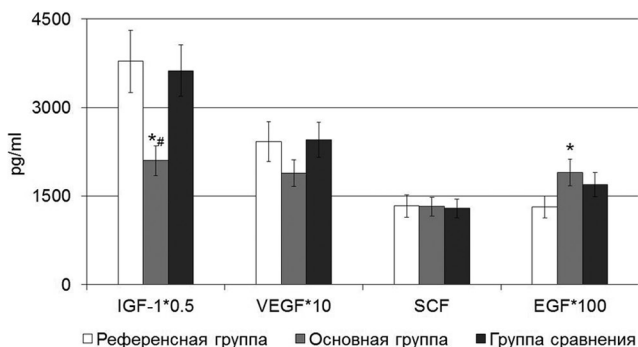


Рис. 1. Концентрация некоторых факторов роста (пг/мл) в сыворотке крови обследованных пациентов
Примечание: * – достоверные различия с референсной группой при уровне значимости $p < 0,05$; # – достоверные различия с группой сравнения при $p < 0,05$

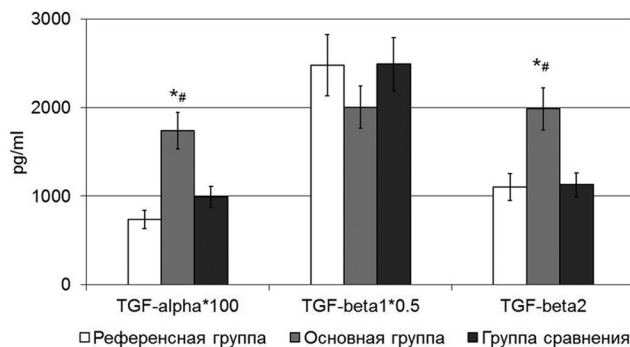


Рис. 2. Концентрация факторов роста семейства TGF (пг/мл) в сыворотке крови обследованных пациентов
Примечание: * – достоверные различия с референсной группой при уровне значимости $p < 0,05$; # – достоверные различия с группой сравнения при $p < 0,05$

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, результаты исследования показали, что через 7–11 месяцев после травмы у пациентов с замедленно срастающимися переломами костей нижней конечности в сыворотке крови отмечался повышенный уровень отдельных метаболитов и ростовых факторов. Такие изменения могли быть связаны с замедлением сращения перелома по нескольким молекулярным механизмам.

В частности, высокие концентрации факторов роста семейства TGF у обследованных пациентов с замедленно срастающимися переломами могли приводить к модуляции у них иммунной системы (ингибирующей влияние) и подавлению гемопоэза [18]. При этом, вызываемая нарушениями гемопоэза анемия, по мнению некоторых авторов, и является основным фактором риска замедления сращения перелома [19]. Однако данный механизм у обследованных нами пациентов, скорее всего, не реализовывался, т.к. гематологические показатели у них были в норме.

Тем не менее, TGF- α и TGF- β 2 в высоких концентрациях, обнаруженных нами в крови пациентов основной группы, могли оказывать прямое ингибирующее влияние на репарацию костной ткани, т.к. известно, что оба эти трансформирующие факторы значительно активируют остеокласты, усиливая резорбцию кости [20]. Поддержанию высокой резорбтивной активности у обследованных нами пациентов с замедленно срастающимися переломами могло способствовать высокое содержание эпидермального фактора роста в сыворотке крови, т.к. показано, что EGF стимулирует, через взаимодействие с остеокластами, увеличение

высвобождения кальция из костной ткани, также способствуя её остеолиту [21].

Усугублял резорбцию кости у пациентов основной группы и развивавшийся метаболический ацидоз, вызываемый, по-видимому, нарушением кислородной обеспеченности тканей травмированных органов. В пользу этого говорило не только повышение уровня лактата в крови у пациентов основной группы, но и рост концентрации триглицеридов, т.к. известно, что нарушения кислородного обеспечения организма у пациентов со скелетными травмами в посттравматическом периоде могут сопровождаться мобилизацией отдельных субстратов липидного обмена [22]. Такие нарушения метаболизма у пациентов после переломов также могут быть предикторами нарушений остеогенеза, что и было показано нами ранее [23].

В свою очередь, возможной причиной наблюдаемого у пациентов основной группы ацидоза являлись нарушения кровоснабжения поврежденной кости в результате нарушения стабильности костных отломков. Действительно, нарушение стабильности костных отломков с последующими нарушениями ангиогенеза, приводящими к ацидозу и гипоксии, по мнению ряда исследователей, являются одной из главных причин замедления костеобразования в посттравматическом периоде [24].

Нарушению остеорепарации у обследованных пациентов с замедленно срастающимися переломами способствовало снижение в сыворотке крови концентрации IGF-1. Действительно, показано, что репаративные возможности костной ткани при низком уровне

в сыворотке крови данного фактора значительно снижены [25, 26]. При этом снижение уровня IGF-1, проводящее к замедлению остеогенеза, может быть вызвано пищевой белковой недостаточностью [27].

Обнаруженное у пациентов с замедленным сращением перелома снижение активности ЩФ в сыворотке крови со значительными ограничениями (в связи с низкой специфичностью данного маркера по отношению к костной ткани) также свидетельствовало о снижении активности процессов остеогенеза у данных больных. Такое предположение согласуется с экспериментальным исследованием, в котором обнаружена корреляция активности ЩФ с замедлением костеобразования [28].

Совокупность наблюдаемых у пациентов основной группы биохимических изменений в сочетании с имеющимися литературными данными позволяет полагать, что нарушение ангиогенеза костной мозоли (по причинам неправильной репозиции, системных нарушений кровотока и т.д.), последующая гипоксия, аци-

доз и преимущественная экспрессия ростовых факторов, поддерживающих остеолит, являются основными патофизиологическими процессами, приводящими к замедлению сращения переломов костей конечностей.

Ключевой проблемой в обсуждении полученных результатов является определение того, являются ли обнаруженные нами изменения вторичными, вследствие биомеханических нарушений репозиции (как полагают клиницисты), приводивших к замедлению сращения, или первичными, т.е. непосредственно предопределяющими замедление остеогенеза. Мы считаем, что, в данном случае, к замедлению сращения перелома приводило сочетание двух факторов – нарушение репозиции и определенная предрасположенность пациентов к замедлению сращения. Под последней мы понимаем комплекс врожденных (или приобретенных) особенностей обменных процессов и гуморальной регуляции, которые и формируют условия для снижения остеорепаративной активности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у пациентов с замедленно срастающимися переломами костей нижних конечностей на сроках более семи месяцев после перелома присутствовали молекулярные изменения, обеспечивающие (возможно и обуславливающие) поддержание резорбтивной активности кости. К ним относятся: 1) высокий уровень факторов роста, вызывающих и поддерживающих остеолит; 2) снижение уровня IGF-1 как стимулятора регенерации кости; 3) локальный метаболический ацидоз.

К маркерам прогноза замедленно срастающихся переломов можно отнести те показатели, которые у пациентов основной группы имели достоверные отличия относительно людей референсной группы и пациентов группы сравнения. Поэтому предикторами замедления сращения кости после переломов являются следующие признаки: повышенный уровень лактата, EGF, TGF- α и TGF- β 2, а также сниженная концентрация IGF-1 в сыворотке крови.

ЛИТЕРАТУРА

- Hayda R.A., Brighton C.T., Esterhai J.L.Jr. Pathophysiology of delayed healing // Clin. Orthop. Relat. Res. 1998. No 355 Suppl. P. S31-S40.
- Rodriguez-Merchan E.C., Forriol F. Nonunion: general principles and experimental data // Clin. Orthop. Relat. Res. 2004. No 419. P. 4-12.
- Risk factors contributing to fracture non-unions / G.M. Calori, W. Albisetti, A. Agus, S. Iori, L. Tagliabue // Injury. 2007. Vol. 38, No Suppl. 2. P. S11-S18.
- Fracture vascularity and bone healing: a systematic review of the role of VEGF / N.C. Keramaris, G.M. Calori, V.S. Nikolaou, E.H. Schemitsch, P.V. Giannoudis // Injury. 2008. Vol. 39, No Suppl. 2. P. S45-S57. DOI: 10.1016/S0020-1383(08)70015-9.
- Growth factor regulation of fracture repair / G.L. Barnes, P.J. Kostenuik, L.C. Gerstenfeld, T.A. Einhorn // J. Bone Miner. Res. 1999. Vol. 14, No 11. P. 1805-1815. DOI: 10.1359/jbmr.1999.14.11.1805.
- Marsell R., Einhorn T.A. The biology of fracture healing // Injury. 2011. Vol. 42, No 6. P. 551-555. DOI: 10.1016/j.injury.2011.05.031.
- Vascular endothelial growth factor stimulates bone repair by promoting angiogenesis and bone turnover / J. Street, M. Bao, L. deGuzman, S. Bunting, F.V. Peale Jr., N. Ferrara, H. Steinmetz, J. Hoeffel, J.L. Cleland, A. Daugherty, N. van Bruggen, H.P. Redmond, R.A. Carano, E.H. Filvaroff // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002. Vol. 99, No 15. P. 9656-9661. DOI: 10.1073/pnas.152324099.
- Elevated levels of macrophage colony-stimulating factor in human fracture healing / K. Sarahrudi, M. Mousavi, A. Thomas, S. Eipeldauer, V. Vécsei, P. Pietschmann, S. Aharinejad // J. Orthop. Res. 2010. Vol. 28, No 5. P. 671-676. DOI: 10.1002/jor.21048.
- Elevated transforming growth factor-beta 1 (TGF- β 1) levels in human fracture healing / K. Sarahrudi, A. Thomas, M. Mousavi, G. Kaiser, J. Köttstorfer, M. Kecht, S. Hajdu, S. Aharinejad // Injury. 2011. Vol. 42, No 8. P. 833-837. DOI: 10.1016/j.injury.2011.03.055.
- Hankenson K.D., Zimmerman G., Marcucio R. Biological perspectives of delayed fracture healing // Injury. 2014. Vol. 45, No Suppl. 2. P. S8-S15. DOI: 10.1016/j.injury.2014.04.003.
- Patterns of cytokine release and evolution of remote organ dysfunction after bilateral femur fracture / P. Kobbe, Y. Vodovotz, D.J. Kaczorowski, K.P. Mollen, T.R. Billiar, H.C. Pape // Shock. 2008. Vol. 30, No 1. P. 43-47. DOI: 10.1097/SHK.0b013e31815d190b.
- The effect of antibiotics on bone healing: current evidence / I. Pountos, T. Georgouli, H. Bird, G. Kontakis, P.V. Giannoudis // Expert. Opin. Drug Saf. 2011. Vol. 10, No 6. P. 935-945. DOI: 10.1517/14740338.2011.589833.
- Genetic predisposition to non-union: evidence today / R. Dimitriou, N. Kanakaris, P.N. Soucacos, P.V. Giannoudis // Injury. 2013. Vol. 44, No Suppl. 1. P. S50-S53. DOI: 10.1016/S0020-1383(13)70012-3.
- Fracture non-union: Can biomarkers predict outcome? / I. Pountos, T. Georgouli, S. Pneumaticos, P.V. Giannoudis // Injury. 2013. Vol. 44, No 12. P. 1725-1732. DOI: 10.1016/j.injury.2013.09.009.
- Zimmermann G., Müller U., Wentzensen A. The value of laboratory and imaging studies in the evaluation of long-bone non-unions // Injury. 2007. Vol. 38, No Suppl. 2. P. S33-S37.
- TGF-beta1 as a marker of delayed fracture healing / G. Zimmermann, P. Henle, M. Küswetter, A. Moghaddam, A. Wentzensen, W. Richter, S. Weiss // Bone. 2005. Vol. 36, No 5. P. 779-785. DOI: 10.1016/j.bone.2005.02.011.
- FGF23 is a putative marker for bone healing and regeneration / S. Goebel, J. Lienau, U. Rammoser, L. Seefried, K.F. Wintgens, J. Seufert, G. Duda, F. Jakob, R. Ebert // J. Orthop. Res. 2009. Vol. 27, No 9. P. 1141-1146. DOI: 10.1002/jor.20857.
- Heldin C.H., Miyazono K., ten Dijke P. TGF-beta signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins // Nature. 1997. Vol. 390, No 6659. P. 465-471. DOI: 10.1038/37284.
- Heppenstall R.B., Brighton C.T. Fracture healing in the presence of anemia // Clin. Orthop. Relat. Res. 1977. No 123. P. 253-258.
- Human recombinant transforming growth factor alpha stimulates bone resorption and inhibits formation in vitro / K.J. Ibbotson, J. Harrod, M. Gowen, S. D'Souza, D.D. Smith, M.E. Winkler, R. Derynck, G.R. Mundy // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1986. Vol. 83, No 7. P. 2228-2232.
- Carpenter G., Cohen S. Epidermal growth factor // J. Biol. Chem. 1990. Vol. 265, No 14. P. 7709-7712.
- Lepistö P.V. Post-traumatic blood lipid changes and fat embolism. Relation of post-traumatic blood lipid changes and fat embolism syndrome // J. Trauma. 1976. Vol. 16, No 1. P. 52-57.
- Stogov M.V., Luneva S.N., Tkachuk E.A. Biochemical parameters in the prediction of the course of osteoreparative processes in skeletal injury // Klin. Lab. Diagn. 2010. No 12. P. 5-7.

24. Mechanical stability affects angiogenesis during early fracture healing / C. Lu, N. Saless, D. Hu, X. Wang, Z. Xing, H. Hou, B. Williams, H.M. Swartz, C. Colnot, T. Miclau, R.S. Marcucio // *J. Orthop. Trauma*. 2011. Vol. 25, No 8. P. 494-499. DOI: 10.1097/BOT.0b013e31822511e0.
25. Bernstein A., Mayr H.O., Hube R. Can bone healing in distraction osteogenesis be accelerated by local application of IGF-1 and TGF-beta1? // *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.* 2010. Vol. 92, No 1. P. 215-225. DOI: 10.1002/jbm.b.31508.
26. Effects of systemic and local administration of recombinant human IGF-1 (rhIGF-I) on de novo bone formation in an aged mouse model / J.L. Fowlkes, K.M. Thraillkill, L. Liu, E.C. Wahl, R.C. Bunn, G.E. Cockrell, D.S. Perrien, J. Aronson, C.K. Lumpkin Jr. // *J. Bone Miner. Res.* 2006. Vol. 21, No 9. P. 1359-1366. DOI: 10.1359/jbmr.060618.
27. Day S.M., DeHeer D.H. Reversal of the detrimental effects of chronic protein malnutrition on long bone fracture healing // *J. Orthop. Trauma*. 2001. Vol. 15, No 1. P. 47-53.
28. Correlation of serum alkaline phosphatase activity with the healing process of long bone fractures in dogs / A. Komnenou, M. Karayannopoulou, Z.S. Polizopoulou, T.C. Constantinidis, A. Dessiris // *Vet. Clin. Pathol.* 2005. Vol. 34, No 1. P. 35-38.

REFERENCES

1. Hayda R.A., Brighton C.T., Esterhai J.L.Jr. Pathophysiology of delayed healing. *Clin. Orthop. Relat. Res.*, 1998, no. 355 Suppl., pp. S31-S40.
2. Rodriguez-Merchan E.C., Forriol F. Nonunion: general principles and experimental data. *Clin. Orthop. Relat. Res.*, 2004, no. 419, pp. 4-12.
3. Calori G.M., Albisetti W., Agus A., Iori S., Tagliabue L. Risk factors contributing to fracture non-unions. *Injury*, 2007, vol. 38, no. Suppl. 2, pp. S11-S18.
4. Keramaris N.C., Calori G.M., Nikolaou V.S., Schemitsch E.H., Giannoudis P.V. Fracture vascularity and bone healing: a systematic review of the role of VEGF. *Injury*, 2008, vol. 39, no. Suppl. 2, pp. S45-S57. DOI: 10.1016/S0020-1383(08)70015-9.
5. Barnes G.L., Kostenuik P.J., Gerstenfeld L.C., Einhorn T.A. Growth factor regulation of fracture repair. *J. Bone Miner. Res.*, 1999, vol. 14, no. 11, pp. 1805-1815. DOI: 10.1359/jbmr.1999.14.11.1805.
6. Marsell R., Einhorn T.A. The biology of fracture healing. *Injury*, 2011, vol. 42, no. 6, pp. 551-555. DOI: 10.1016/j.injury.2011.03.031.
7. Street J., Bao M., deGuzman L., Bunting S., Peale F.V. Jr., Ferrara N., Steinmetz H., Hoefel J., Cleland J.L., Daugherty A., Van Bruggen N., Redmond H.P., Carano R.A., Filvaroff E.H. Vascular endothelial growth factor stimulates bone repair by promoting angiogenesis and bone turnover. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, vol. 99, no. 15, pp. 9656-9661. DOI: 10.1073/pnas.152324099.
8. Sarahrudi K., Mousavi M., Thomas A., Eipeldauer S., Vécsei V., Pietschmann P., Aharinejad S. Elevated levels of macrophage colony-stimulating factor in human fracture healing. *J. Orthop. Res.*, 2010, vol. 28, no. 5, pp. 671-676. DOI: 10.1002/jor.21048.
9. Sarahrudi K., Thomas A., Mousavi M., Kaiser G., Köttstorfer J., Kecht M., Hajdu S., Aharinejad S. Elevated transforming growth factor-beta 1 (TGF-β1) levels in human fracture healing. *Injury*, 2011, vol. 42, no. 8, pp. 833-837. DOI: 10.1016/j.injury.2011.03.055.
10. Hankenson K.D., Zimmerman G., Marcucio R. Biological perspectives of delayed fracture healing. *Injury*, 2014, vol. 45, no. Suppl. 2, pp. S8-S15. DOI: 10.1016/j.injury.2014.04.003.
11. Kobbe P., Vodovotz Y., Kaczorowski D.J., Mollen K.P., Billiar T.R., Pape H.C. Patterns of cytokine release and evolution of remote organ dysfunction after bilateral femur fracture. *Shock*, 2008, vol. 30, no. 1, pp. 43-47. DOI: 10.1097/SHK.0b013e31815d190b.
12. Pountos I., Georgouli T., Bird H., Kontakis G., Giannoudis P.V. The effect of antibiotics on bone healing: current evidence. *Expert. Opin. Drug Saf.*, 2011, vol. 10, no. 6, pp. 935-945. DOI: 10.1517/14740338.2011.589833.
13. Dimitriou R., Kanakaris N., Soucacos P.N., Giannoudis P.V. Genetic predisposition to non-union: evidence today. *Injury*, 2013, vol. 44, no. Suppl. 1, pp. S50-S55. DOI: 10.1016/S0020-1383(13)70012-3.
14. Pountos I., Georgouli T., Pneumaticos S., Giannoudis P.V. Fracture non-union: Can biomarkers predict outcome? *Injury*, 2013, vol. 44, no. 12, pp. 1725-1732. DOI: 10.1016/j.injury.2013.09.009.
15. Zimmermann G., Müller U., Wentzensen A. The value of laboratory and imaging studies in the evaluation of long-bone non-unions. *Injury*, 2007, vol. 38, no. Suppl. 2, pp. S33-S37.
16. Zimmermann G., Henle P., Küsswetter M., Moghaddam A., Wentzensen A., Richter W., Weiss S. TGF-beta1 as a marker of delayed fracture healing. *Bone*, 2005, vol. 36, no. 5, pp. 779-785. DOI: 10.1016/j.bone.2005.02.011.
17. Goebel S., Lienau J., Rammoser U., Seefried L., Wintgens K.F., Seufert J., Duda G., Jakob F., Ebert R. FGF23 is a putative marker for bone healing and regeneration. *J. Orthop. Res.*, 2009, vol. 27, no. 9, pp. 1141-1146. DOI: 10.1002/jor.20857.
18. Heldin C.H., Miyazono K., ten Dijke P. TGF-beta signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. *Nature*, 1997, vol. 390, no. 6659, pp. 465-471. DOI: 10.1038/37284.
19. Heppenstall R.B., Brighton C.T. Fracture healing in the presence of anemia. *Clin. Orthop. Relat. Res.*, 1977, no. 123, pp. 253-258.
20. Ibbotson K.J., Harrod J., Gowen M., D'Souza S., Smith D.D., Winkler M.E., Derynck R., Mundy G.R. Human recombinant transforming growth factor alpha stimulates bone resorption and inhibits formation in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986, vol. 83, no. 7, pp. 2228-2232.
21. Carpenter G., Cohen S. Epidermal growth factor. *J. Biol. Chem.*, 1990, vol. 265, no. 14, pp. 7709-7712.
22. Lepistö P.V. Post-traumatic blood lipid changes and fat embolism. Relation of post-traumatic blood lipid changes and fat embolism syndrome. *J. Trauma*, 1976, vol. 16, no. 1, pp. 52-57.
23. Stogov M.V., Luneva S.N., Tkachuk E.A. Biochemical parameters in the prediction of the course of osteoreparative processes in skeletal injury. *Klin. Lab. Diagn.*, 2010, no. 12, pp. 5-7.
24. Lu C., Saless N., Hu D., Wang X., Xing Z., Hou H., Williams B., Swartz H.M., Colnot C., Miclau T., Marcucio R.S. Mechanical stability affects angiogenesis during early fracture healing. *J. Orthop. Trauma*, 2011, vol. 25, no. 8, pp. 494-499. DOI: 10.1097/BOT.0b013e31822511e0.
25. Bernstein A., Mayr H.O., Hube R. Can bone healing in distraction osteogenesis be accelerated by local application of IGF-1 and TGF-beta1? // *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.*, 2010, vol. 92, no. 1, pp. 215-225. DOI: 10.1002/jbm.b.31508.
26. Fowlkes J.L., Thraillkill K.M., Liu L., Wahl E.C., Bunn R.C., Cockrell G.E., Perrien D.S., Aronson J., Lumpkin C.K. Jr. Effects of systemic and local administration of recombinant human IGF-1 (rhIGF-I) on de novo bone formation in an aged mouse model. *J. Bone Miner. Res.*, 2006, vol. 21, no. 9, pp. 1359-1366. DOI: 10.1359/jbmr.060618.
27. Day S.M., DeHeer D.H. Reversal of the detrimental effects of chronic protein malnutrition on long bone fracture healing. *J. Orthop. Trauma*, 2001, vol. 15, no. 1, pp. 47-53.
28. Komnenou A., Karayannopoulou M., Polizopoulou Z.S., Constantinidis T.C., Dessiris A. Correlation of serum alkaline phosphatase activity with the healing process of long bone fractures in dogs. *Vet. Clin. Pathol.*, 2005, vol. 34, no. 1, pp. 35-38.

Рукопись поступила 19.02.2018

Сведения об авторах:

1. Стогов Максим Валерьевич, д. б. н., ФГБУ «РНИЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган, Россия, Email: stogo_off@list.ru
2. Карасев Анатолий Григорьевич, д. м. н., ФГБУ «РНИЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган, Россия
3. Киреева Елена Анатольевна, к. б. н., ФГБУ «РНИЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган, Россия
4. Тушина Наталья Владимировна, к. б. н., ФГБУ «РНИЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган, Россия

Information about the authors:

1. Maksim V. Stogov, Ph.D. of Biological Sciences, Russian Ilizarov Scientific Center for Restorative Traumatology and Orthopaedics, Kurgan, Russian Federation, Email: stogo_off@list.ru
2. Anatolii G. Karasev, M.D., Ph.D., Russian Ilizarov Scientific Center for Restorative Traumatology and Orthopaedics, Kurgan, Russian Federation
3. Elena A. Kireeva, Ph.D. of Biological Sciences, Russian Ilizarov Scientific Center for Restorative Traumatology and Orthopaedics, Kurgan, Russian Federation
4. Natalia V. Tushina, Ph.D. of Biological Sciences, Russian Ilizarov Scientific Center for Restorative Traumatology and Orthopaedics, Kurgan, Russian Federation