

Вазодилаторный эффект сосудистых факторов роста (VEGF) в условиях формирования костной ткани методом дискретной тракции при врожденной сегментарной патологии

Е.П. Выхованец¹, Т.И. Долганова¹, С.Н. Лунева¹, Д.Ю. Борзунов^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Курган, Россия

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Тюмень, Россия

Vasodilator effect of vascular endothelial growth factors (VEGF) in the conditions of bone tissue formation by the method of discrete traction in congenital segmental pathology

E.P. Vykhovanets¹, T.I. Dolganova¹, S.N. Luneva¹, D.Yu. Borzunov^{1,2}

¹Russian Ilizarov Scientific Center for Restorative Traumatology and Orthopaedics, Kurgan, Russian Federation

²Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

У больных с врожденными сегментарными дефектами развитие конечностей сочетается с пороками сосудистой системы того же сегмента. При этом васкулярно-эндотелиальные факторы роста, принимающие участие в физиологическом ангиогенезе, влияют на формирование костной ткани в онтогенезе и участвуют в эндохондриальной оссификации. В связи с этим, **целью** исследования явилось сравнение количественных изменений факторов роста (VEGF) и контрактильных свойств артериол в условиях дискретной тракции при врожденной патологии костей голени. **Материалы и методы.** Объектом исследования были 12 пациентов с врожденным псевдоартрозом голени (МКБ-10 Q 74.0). Исследование сыворотки крови осуществляли с использованием иммуноферментного анализа. Микроциркуляцию в сосудах кожи голени у больных исследовали с помощью лазерной флоуметрии (установка BLF21, фирмы Transonic Systems Inc., США). В качестве нормы использовали собственные данные, полученные при исследовании сыворотки крови 103 соматически здоровых людей. **Результаты.** При врожденной патологии выявлен значительный дисбаланс сывороточных концентраций эндотелиальных факторов и их рецепторов. В результате хирургического лечения усиливался дисбаланс секреции сосудистых факторов роста и их рецепторов. При оперативном вмешательстве у пациентов с врожденной патологией не выявили вазодилаторный эффект в сосудах прекапиллярного звена в зоне оперированного сегмента.

Ключевые слова: эндотелиальные факторы роста, костная ткань, врожденная сегментарная патология, иммуноферментный анализ, лазерная доплеровская флоуметрия

The development of the limbs in patients with congenital segmental defects is associated with defects in the vascular system of the same segment. In this case, vascular endothelial growth factors that participate in physiological angiogenesis may have effect on bone tissue formation in ontogenesis and participate in endochondral ossification. In this regard, the **aim** of the study was to compare the quantitative changes in growth factors (VEGF) and the contractile properties of arterioles under conditions of discrete distraction for congenital pathology of the lower leg bones. **Materials and methods** Subjects of the study were 12 patients with congenital pseudarthrosis of the lower leg (ICD-10 Q 74.0). Their serum was analyzed using an enzyme immunoassay. Microcirculation in the calf skin was examined by laser flowmetry (BLF21, Transonic Systems Inc., USA). We used the findings obtained from the study of blood serum in 103 somatically healthy people for control. **Results** Significant imbalance in serum concentrations of endothelial factors and their receptors was detected in the subjects with congenital pathology. As a result of surgical treatment, the imbalance of secretion of vascular growth factors and their receptors increased. Vasodilator effect in the precapillary vessels in the zone of the operated segment in patients with congenital pathology was not revealed by surgical intervention.

Keywords: endothelial growth factors, bone tissue, congenital segmental pathology, enzyme immunoassay, laser Doppler flowmetry

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что у всех больных имеющиеся врожденные сегментарные дефекты развития конечностей сочетаются с пороками сосудистой системы того же сегмента [1, 2]. При этом считается, что первичные нарушения васкуляризации вызывают аномалии развития костной системы [3]. Сопутствующая гипоплазия артерий обусловлена дисплазией сосудистой стенки при нарушении её базального (симпатического) тонуса [4].

Сосудистые факторы роста (VEGF) принимают основное участие в эмбриональном васкуло- и ангиогенезе [5], физиологическом ангиогенезе [6, 7, 8, 9, 10],

влияют на формирование костной ткани в онтогенезе [11] и участвуют в трансформации хряща в кость (эндохондриальная оссификация) [12] при формировании distractionного регенерата [13].

Показано, что повышение ростового фактора VEGF в крови свидетельствует о его повышенной секреции [14, 15], и его активность регулируется определяемым в крови антиангиогенным фактором – растворимым рецептором 1 васкулоэндотелиального фактора роста (sVEGF-R1) [16, 17]. В ряде исследований указывается, что VEGF может влиять на контрактильность

Выхованец Е.П., Долганова Т.И., Лунева С.Н., Борзунов Д.Ю. Вазодилаторный эффект сосудистых факторов роста (VEGF) в условиях формирования костной ткани методом дискретной тракции при врожденной сегментарной патологии // Гений ортопедии. 2018. Т. 24. № 2. С. 209-215. DOI 10.18019/1028-4427-2018-24-2-209-215

сосудистой стенки [18]: вызывая NO-зависимую релаксацию в артериях [19, 20, 21] или взаимодействуя VEGF с flk-1/KDR (VEGF-R2) активирует продукцию простаглицина, одного из самых мощных вазодилатационных агентов [22]. Вазодилатация резистивных сосудов с увеличением артериовенозного шунтирования является одним из механизмов, запускающих гипер-

мию тканей и, как следствие, повышение давления в венах со стимуляцией ангиогенеза [23, 24].

Цель исследования – провести сравнительный анализ количественных изменений сосудистых факторов роста (VEGF) и контрактильных свойств артериол в условиях дискретной дистракции при врожденной патологии костей голени.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом наблюдения были 12 пациентов с врожденным псевдоартрозом голени с анатомическим укорочением $2,5 \pm 1,1$ см в возрасте от 7 лет до 18 лет (Средний возраст больных $13,1 \pm 0,59$ г.). Поскольку во время ортопедической реабилитации пациентов в условиях операционной нарушали целостность костных отломков выполнением остеотомии (кортикотомии), тем самым нанося скелетную травму, обследования осуществляли в соответствии с основными этапами травматической болезни: до операции, на 3–5, 7–10, 12–14 и 30-е сутки после операции [25, 26].

По этиопатогенезу врожденные дефекты были представлены нейрофибраматозом I типа. Хирургическое вмешательство осуществляли по методике Masquelet, основанной на концепции «биологической» остеиндуцирующей мембраны, возникающей после применения цементного спейсера на первом этапе и действующей как «камера» для введения невааскуляризованных трансплантатов во вторую операционную сессию. Дополнительно были использованы внешние фиксаторы и принципы несвободной костной пластики по Г.А. Илизарову [27, 28, 29].

Материалом для иммуноферментного исследования была сыворотка крови.

В качестве нормы использовали собственные данные, полученные при исследовании сыворотки крови 103 практически здоровых людей среднего возраста.

На проведение исследований было получено разрешение комитета по этике при ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова». Исследования проводились 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», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 года № 266.

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 сыворотке крови использовали наборы для иммуноферментного анализа (ИФА). Краткая характеристика наборов приведена в таблице 1.

Используемые наборы относятся к неконкурентному формату ИФА, разновидностью которого является «сэндвич»-метод. К носителю с иммобилизованными антителами добавляли раствор, содержащий анализируемый антиген. В процессе инкубации на первой стадии на твердой фазе образовался комплекс антиген-антитело. Затем носитель отмывали от несвязавшихся компонентов и добавляли меченные ферментом специфические антитела. Ферментативная реакция (цветная реакция) проходила 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 оценивается спектрофотометрически при длине волны 450 нм.

Оценка контрактильных свойств артериол проводилась при использовании лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) на установке BLF21 фирмы Transonic Systems Inc. (США). Для изучения механизмов, участвующих в регуляции тканевого кровотока, выявления скрытых нарушений микроциркуляции и адаптационных резервов системы микроциркуляции использовали местную ишемическую пробу с установкой датчика на голени, а окклюзионной манжеты на бедре [30]. После регистрации данных в покое (ККпок, пф. ед.) и после 3-х минутной ишемии (ККпик, пф. ед.) производился расчет индекса пикового кровотока (ИПК, % = $\text{ККпик} / \text{ККпок} \times 100\%$) – прирост капиллярного кровотока после прекращения 3-х минутной окклюзии; Δt , сек. – интервал времени от снятия окклюзии до появления максимального прироста капиллярного кровотока; периода полувосстановления капиллярного кровотока ($T_{1/2}$, сек.) и длительности реактивной гиперемии (Т, сек.) – интервал времени от появления максимального прироста капиллярного кровотока до его восстановления к исходным значениям.

Таблица 1

Краткая характеристика наборов

Название фактора	Фирма	Диапазон измерений	Разведение сыворотки крови	Общее время анализа
VEGF	Invitrogen Corporation (США)	Нет данных, нг/мл	1:2	4 ч. 00 мин.
VEGF-R2/KDR	eBioscience Platinum	7,104 – 30,861 нг/мл	1:50	3 ч. 30 мин.
VEGF-A	eBioscience Platinum	нд – 0,0426 нг/мл	1:2	4 ч. 30 мин.
VEGF-C	eBioscience Platinum	нд – 5,35 нг/мл	1:5	4 ч. 30 мин.
sVEGF-R1	eBioscience Platinum	нд – 0,42 нг/мл	1:2	3 ч. 10 мин.
VEGF-R3/FLT-4	eBioscience Platinum	33 – 167 нг/мл	1:20	3 ч. 30 мин.

Примечание здесь и далее: нд – недектируемые значения

Статистическая обработка данных производилась с помощью пакета анализа данных Microsoft EXCEL-2000 и AtteStat. Проверка распределения профилей асимметрии расчетных показателей составила $n = 12$ по модифицированным критериям Колмогорова, Смирнова, критериям асимметрии и эксцесса показала, что гипотеза нормальности отклоняется,

т.е. исследуемые показатели не подчиняются «закону нормального распределения». Результаты исследований обработаны методом вариационной статистики, применяемым для малых выборок с принятием уровня значимости $p \leq 0,05$. Статистическую значимость различий определяли с использованием критерия Вилкоксона.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У пациентов с врожденной сегментарной патологией голени наблюдался значительный дисбаланс сывороточных васкулоэндотелиальных факторов роста и их рецепторов (табл. 2). Концентрация факторов роста VEGF, VEGF-A и рецептора VEGF-R2 на дооперационном этапе была значительно выше значений референтной группы, в то же время, концентрация рецептора VEGF-R3 была более чем в 2 раза ниже нормативных значений.

Концентрация фактора роста VEGF-C в крови как субъективно здоровых детей, так и детей с врожденной патологией была ниже предела обнаружения (54 пг/мл). Сывороточные концентрации растворимого рецептора sVEGF-R1 у соматически здоровых и детей с врожденной патологией также были ниже интервала обнаружения, составляющего 0,42 нг/мл.

При врожденной патологии голени относительно значений нормы до лечения снижены все показатели капиллярного кровотока: капиллярный кровоток (КК) покоя на 17 %, пиковый КК и индекс пикового капиллярного кровотока – в 2 раза, время полувосстановления после ишемической пробы и длительность реактивной гиперемии в 5–6 раз (табл. 3, рис. 1 и 2). Это указывает на значительное снижение резервных

возможностей капиллярного русла, дисфункцию эндотелия сосудов прекапиллярного звена. [32]. Резервные возможности капиллярного русла пораженной конечности зависят от степени сохранения ее опороспособности. При отсутствии опороспособности конечности индекс прироста кровотока не превышал 130 %, при возможности осуществлять статическую нагрузку на конечность был более 230 %. Но расчетные показатели длительности времени гиперемии и периода полувосстановления КК ($T_{1/2}$) одинаково резко снижены, т.е. реактивность сосудов прекапиллярного звена определялась этиологией (врожденные) поражения тканей голени.

Высокая концентрация факторов роста VEGF, VEGF-A и рецептора VEGF-R2 у пациентов с врожденной этиологией заболевания не сопровождалась снижением контрактильных свойств сосудистой стенки, отсутствовал эффект вазодилатации капиллярного русла. Полученные результаты не согласуются с данными литературы, где описано, что факторы роста VEGF, VEGF-A и рецептора VEGF-R2 влияют на контрактильность сосудистой стенки, вызывая вазодилаторный эффект у пациентов с приобретенной патологией сердечнососудистой системы [18, 19].

Таблица 2

Концентрация васкулоэндотелиальных факторов роста на этапах ортопедического лечения больных с врожденным дефектом костей голени ($M \pm m$, n – число наблюдений)

Название фактора	Контрольная группа ($n = 103$)	До операции ($n = 12$)	После операции ($n = 12$)			
			3–5 сутки	7–10 сутки	12–14 сутки	30 сутки
VEGF, нг/мл	$0,165 \pm 0,03$	$0,178 \pm 0,04^*$	$0,212 \pm 0,03^{*\#}$	$0,201 \pm 0,03^{*\#}$	$0,183 \pm 0,02^*$	$0,199 \pm 0,01^*$
VEGF-R2/KDR, нг/мл	$11,3 \pm 0,75$	$35,7 \pm 1,30^*$	$47,6 \pm 0,26^{*\#}$	$46,8 \pm 1,4^{*\#}$	$68,1 \pm 1,4^{*\#}$	$54,5 \pm 1,4^{*\#}$
VEGF-A, нг/мл	$0,12 \pm 0,03$	$0,62 \pm 0,05^*$	$0,60 \pm 0,04^*$	$0,59 \pm 0,02^*$	$0,53 \pm 1,0^*$	$1,38 \pm 0,01^{*\#}$
VEGF-R3/FLT-4, нг/мл	$102,01 \pm 11$	$42,75 \pm 4,7^*$	$22,33 \pm 0,04^{*\#}$	$26,83 \pm 0,02^{*\#}$	$25,87 \pm 0,02^{*\#}$	$15,34 \pm 0,39^{*\#}$

Примечание: * – различия достоверны при $p \leq 0,05$ между контрольными значениями и значениями, полученными на этапах ортопедического лечения; # – различия достоверны при $p \leq 0,05$ между дооперационными значениями и значениями, полученными на этапах ортопедического лечения.

Таблица 3

Показатели лазерной доплеровской флоуметрии кожи голени у пациентов с врожденным дефектом костей голени ($M \pm m$, n – число наблюдений)

Показатели	Норма ($n = 30$)	Больная конечность			
		до лечения ($n = 12$)	после операции ($n = 12$)		
			7-10 сутки	12-14 сутки	30 сутки
КК пок., п.е.	$1,67 \pm 0,14$	$1,4 \pm 0,15$	$1,5 \pm 0,15$	$1,55 \pm 0,16$	$1,46 \pm 0,17$
КК пик., п.е.	$4,11 \pm 0,27$	$2,8 \pm 0,19^*$	$2,7 \pm 0,59^*$	$2,8 \pm 0,38^*$	$2,65 \pm 0,96^*$
ИПК, %	$298,0 \pm 17,89$	$192,5 \pm 34,2^*$	$176,0 \pm 46,5^*$	$183 \pm 52,1^*$	$188,6 \pm 40,0^*$
Δt , сек.	$30,0 \pm 1,27$	$25,0 \pm 2,66^*$	$10,0 \pm 2,33^*$	$10,0 \pm 2,89^*$	$10,0 \pm 2,31^*$
$T_{1/2}$, сек.	$97,1 \pm 5,52$	$35,1 \pm 4,12^*$	$15,4 \pm 5,17^*$	$15,0 \pm 3,19^*$	$15,0 \pm 3,12^*$
T, сек.	$330,0 \pm 50,4$	$60,0 \pm 8,11^*$	$35,0 \pm 7,11^*$	$30,0 \pm 5,16^*$	$30,0 \pm 4,11^*$

Примечание: КК пок., перф. ед. – капиллярный кровоток в покое; КК пик., перф. ед. – максимальная перфузия гиперемии (максимальные значения кровотока после прекращения 3-х минутной окклюзии); ИПК – прирост капиллярного кровотока после прекращения 3-х минутной окклюзии; Δt – интервал времени от снятия окклюзии до появления максимального прироста капиллярного кровотока; $T_{1/2}$ – время полувосстановления КК пок.; T, сек. – длительность реактивной гиперемии. Показано: различие параметров относительно значений нормы, $P \leq 0,05$.

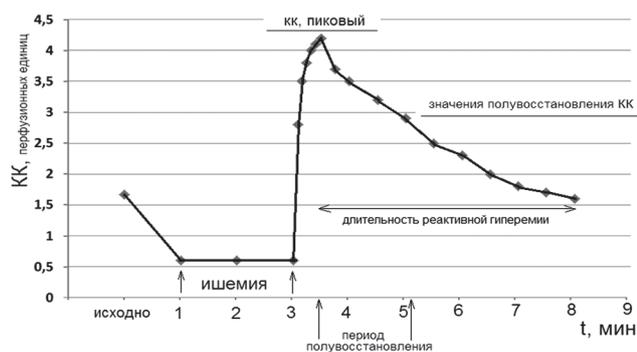


Рис. 1. Динамика капиллярного кровотока кожи голени после 3-х минутной ишемической пробы у здоровых обследованных

У пациентов с врожденной патологией опорно-двигательного аппарата, сочетающейся с пороками прилегающей сосудистой системы, нарушения реактивности сосудов прекапиллярного звена сочетаются с низкой концентрацией рецептора VEGF-R3.

На 3–5 сутки после оперативного вмешательства по методике индуцирующей мембраны и чрескостного остеосинтеза в сыворотке крови пациентов происходило дальнейшее увеличение концентрации фактора роста VEGF и рецептора VEGF-R2. Через 7–10 суток после операции наблюдалось увеличение значений VEGF-R2 на 48 %. Концентрация фактора роста VEGF-A не изменялась на протяжении первых 2-х недель после лечения, но к 30-м суткам после операции увеличивалась

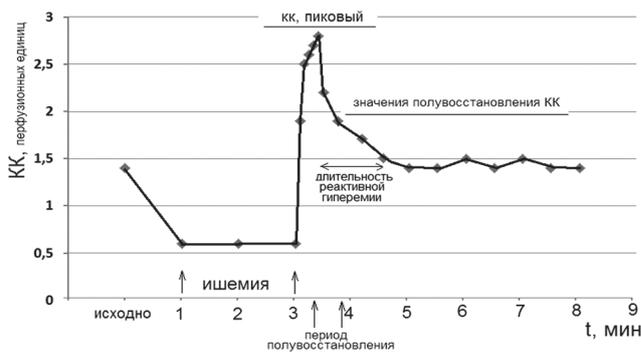


Рис. 2. Динамика капиллярного кровотока кожи пораженной голени после 3-х минутной ишемической пробы у пациента с врожденным дефектом костей голени (до операции)

более чем в два раза, достигая десятикратного превышения значений референтной группы. Но оперативное вмешательство приводило также и к тому, что исходно сниженные более чем в 2 раза сывороточные концентрации рецептора VEGF-R3 еще более снижались, и на 30-й день после операции его уровень составил лишь 15 % от значений возрастной нормы.

Как видно из таблицы 3, капиллярный кровоток покоя и пиковый кровоток кожи в зоне оперированного сегмента в процессе наблюдения оставались стабильными, отсутствовал прирост резервных возможностей сосудистого русла. Ишемическая проба выявила уменьшение в 2 раза периода полувосстановления и длительности реактивной гиперемии (табл. 3, рис. 3).

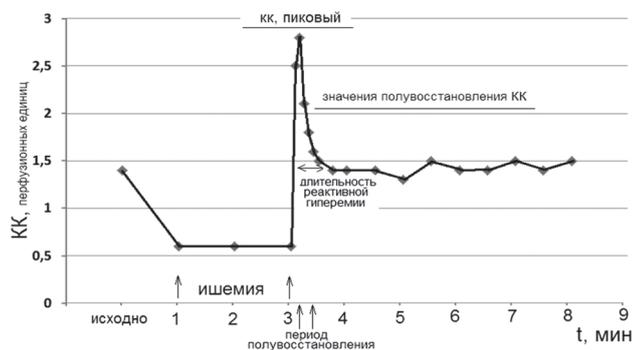


Рис. 3. Динамика капиллярного кровотока кожи оперированной голени после 3-х минутной ишемической пробы у пациента с врожденным дефектом костей голени (14 сутки после операции)

ДИСКУССИЯ

Сосудистые факторы роста имеют важнейшее значение в формировании коллатеральной сосудистой сети в очаге хронической ишемии, каковой является врожденный ложный сустав, оказывая влияние на все этапы неангиогенеза. При этом эффективность действия факторов роста семейства VEGF на постишемический ангиогенез напрямую зависит от факторов, влияющих на их активность, и, прежде всего, от количества и доступности VEGF-рецепторов. Среди изученных факторов роста семейства VEGF и их рецепторов наибольшее значение имела сывороточная концентрация VEGF-R3, так как оперативное вмешательство у пациентов с врожденной патологией не сопровождалось вазодилатацией сосудов прекапиллярного звена в зоне оперированного сегмента. Концентрации рецептора VEGF-R3 и нарушения реактивности сосудов прекапиллярного звена имели однонаправленную динамику: уменьшение концентрации рецептора VEGF-R3 сопровождалось уменьшением периода полувосстановления

и длительности реактивной гиперемии капиллярного русла после ишемической 3-х минутной пробы.

При врожденной этиологии дефекта костей голени увеличение кровенаполнения тканей в процессе лечения аппаратом Илизарова по магистральному руслу было слабо выражено и не приводило к росту резервных возможностей капиллярного кровотока, который, напротив, у пациентов с приобретенной патологией зависит от объема магистрального артериального притока [33].

По данным литературы, выраженный положительный эффект физиотерапевтических факторов воздействия на ангиогенез (магнитолазеротерапия) отмечается у пациентов с приобретенной этиологией заболевания и проявляется вазодилатацией артериол за счет усиления парасимпатической активности. У пациентов с врожденной ортопедической патологией регистрируется нарушение базального (симпатического) тонуса артерий [4], и эффект влияния магнитолазеротерапии на вазодилатацию сосудов не выражен [34].

ВЫВОДЫ

При врожденной патологии опорно-двигательной системы выявлен значительный дисбаланс сывороточных васкулоэндотелиальных факторов роста и их рецепторов. Относительно возрастной нормы, в среднем, концентрация VEGF превышает на 10 %, VEGF-A – в 5 раз, рецептора VEGF-R2 – в 3 раза, а концентрация рецептора VEGF-R3 в 2,4 раза ниже нормативных значений.

В результате хирургического лечения усиливается дисбаланс секреции сосудистых факторов роста и их рецепторов за счет дальнейшего увеличения концентрации VEGF на 15 %, VEGF-R2 – в 1,5 раза и сниже-

ния концентрации рецептора VEGF-R3 в 2,5 раза.

Высокая концентрация факторов роста VEGF, VEGF-A и рецептора VEGF-R2 у пациентов с врожденной этиологией заболевания не вызывает эффекта вазодилатации капиллярного русла после 3-х минутной ишемической пробы и снижения контрактильных свойств сосудистой стенки.

При оперативном вмешательстве у пациентов с врожденной патологией уменьшение концентрации рецептора VEGF-R3 сопровождается уменьшением периода полувосстановления и длительности реактивной гиперемии капиллярного русла.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Материалы статьи ранее не публиковались.

ЛИТЕРАТУРА

1. Limb defects associated with major congenital anomalies: clinical and epidemiological study from the International Clearinghouse for Birth Defects Monitoring Systems / A. Rosano, L.D. Botto, R.S. Olney, M.J. Khoury, A. Ritvanen, J. Goujard, C. Stoll, G. Cocchi, P. Merlob, O. Mutchinick, M.C. Cornel, E.E. Castilla, M.L. Martínez-Frias, G. Zampino, J.D. Erickson, P. Mastroiacovo // *Am. J. Med. Genet.* 2000. Vol. 93, No 2. P. 110-116.
2. Алиев А.Б. Врожденные пороки длинных костей нижних конечностей. Баку: Шапр-Бапр, 1993. 104 с.
3. Fawcett L.B., Buck S.J., Brent R.L. Limb reduction defects in the A/J mouse strain associated with maternal blood loss // *Teratology.* 1998. Vol. 58, No 5. P. 183-189. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9926(199811)58:5<183::AID-TERA4>3.0.CO;2-L.
4. Буклаев Д.С., Янакова О.М. Ультразвуковая доплерография сосудов нижней конечности у детей с пороком развития малоберцовой кости // *Травматология и ортопедия России.* 2002. №3. С. 37-39.
5. Ульянина Е.В., Фаткуллин И.Ф., Хайруллина Г.Р. Маркеры ангиогенеза и ультразвукового исследования в оценке степени тяжести синдрома задержки развития плода // *Вестник современной клинической медицины.* 2016. Т.9, № 5. С. 79-82.
6. Ингибиторы опухолевого ангиогенеза (обзор) / С.М. Киселев, С.В. Луценко, С.Е. Северин, Е.С. Северин // *Биохимия.* 2003. Т. 68, № 5. С. 611-631.
7. Clinical implications of expression of ETS-1 related to angiogenesis in uterine endometrial cancers / J. Fujimoto, I. Aoki, H. Toyoki, S. Khatun, T. Tamaya // *Ann. Oncol.* 2002. Vol. 13, No 10. P. 1605-1611.
8. Vascular endothelial growth factor – a positive and negative regulator of tumor growth / L.M. Vecchiarelli-Federico, D. Cervi, M. Haeri, Y. Li, A. Nagy, Y. Ben-David // *Cancer Res.* 2010. Vol. 70, No 3. P. 863-867. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3592.
9. 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, T. Kiroopoulos, K. Tanou, K.I. Gourgoulis, K. Kostikas // *Lung Cancer.* 2009. Vol. 64, No 2. P. 219-225. DOI: 10.1016/j.lungcan.2008.08.015.
10. Witsch E., Sela M., Yarden Y. Roles for growth factors in cancer progression // *Physiology (Bethesda).* 2010. Vol. 25, No 2. P.85-101. DOI: 10.1152/physiol.00045.2009.
11. 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, E.F. Wagner // *Development.* 2000. Vol 127, No 7. P. 1445-53.
12. Léger C. Un nouveau rôle pour le VEGF // *Biofutur.* 1999. No 191. P. 10. Available at: <http://www.dissercat.com/content/fiziologicheskii-analiz-kompensatomo-prisposobitelnykh-protsesov-v-organizme-pri-lechenii-#ixzz5CznVEHlw>
13. Stogov M.V., Luneva S.N., Novikov K.I. Growth factors in human serum during operative tibial lengthening with the Ilizarov method // *J. Orthop. Res.* 2013. Vol. 31, No 12. P. 1966-1970. DOI: 10.1002/jor.22454.
14. Шурыгин М.Г., Шурыгина И.А., Дремина Н.Н. Динамика факторов роста эндотелия сосудов и фибробластического фактора роста при экспериментальном инфаркте миокарда // *Acta Biomedica Scientifica.* 2007. No 6. P. 169-174.
15. Изменения функционального состояния сосудистого эндотелия у юных спортсменов различной квалификации / Т.В. Бершова, М.И. Баканов, И.Е. Смирнов, В.М. Санфирова, И.Т. Корнеева, С.Д. Поляков, Ю.В. Соловьева // *Российский педиатрический журнал.* 2016. Т. 19, №1. С. 14-19.
16. Соотношение ангиогенных и антиангиогенных факторов при преэклампсии / Н.Ю. Яковлева, Е.И. Хазова, Е.Ю. Васильева, И.Е. Зазерская // *Артериальная гипертензия.* 2016. Т. 22, № 5. С. 488-494.
17. Фактор роста эндотелия сосудов как предиктор возникновения тромботических осложнений у больных деформирующим коксартрозом / И.С. Воробьева, В.В. Никитина, Г.П. Гладилин, С.Г. Шахмартова, Д.М. Пучиньян // *Тромбоз, гемостаз и реология.* 2017. Т. 69, № 1. С. 50-54.
18. Коваль С.Н., Снегурская И.А., Мысниченко О.В. Семейство васкулоэндотелиального фактора роста и его возможная роль в патогенезе артериальных гипертензий // *Артериальная гипертензия.* 2012. № 4 (24). С. 85-93.
19. Vascular endothelial growth factor induces EDRF-dependent relaxation in coronary arteries / D.D. Ku, J.K. Zaleski, S. Liu, T.A. Brock // *Am. J. Physiol.* 1993. Vol. 265, No 2 Pt. 2. P. H586-H592.
20. Immediate and delayed VEGF-mediated NO synthesis in endothelial cells: role of PI3K, PKC and PLC pathways / D.S. Gélinas, P.N. Bernatchez, S. Rollin, N.G. Bazan, M.G. Sirois // *Br. J. Pharmacol.* 2002. Vol. 137, No 7. P. 1021-1030. DOI: 10.1038/sj.bjp.0704956.
21. VEGF upregulates eNOS message, protein, and NO production in human endothelial cells / J.D. Hood, C.J. Meininger, M. Ziche, H.J. Granger // *Am. J. Physiol.* 1998. Vol. 274, No 3 Pt. 2. P. H1054-H1058.
22. 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, R.A. Houliston, J. Martin, I. Zachary // *FEBS Lett.* 1997. Vol. 420, No 1. P. 28-32.
23. Bergersen T.K., Hisdal J., Walløe L. Perfusion of the human finger during cold-induced vasodilatation // *Am. J. Physiol.* 1999. Vol. 276, No 3 Pt. 2. P. R731-R737.
24. Шевцов В.И., Гордиевских Н.И., Ерофеев С.А. Состояние кровообращения конечности в условиях автоматической дистракции // *Гений ортопедии.* 2000. №1. С. 11-15.
25. Интенсивная терапия: национальное руководство: в 2 т. / под ред. Б.П. Гельфанда, А.И. Салтанова. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2011. Т. 1. 960 с.
26. Военно-полевая хирургия локальных войн и вооруженных конфликтов: руководство для врачей / под ред. Е.К. Гуманенко, И.М. Самохвалова. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2011. 672 с.
27. Masquelet A.C. Muscle reconstruction in reconstructive surgery: soft tissue repair and long bone reconstruction // *Langenbecks Arch. Surg.* 2003. Vol. 388, No. 5. P. 344-346. DOI: 10.1007/s00423-003-0379-1.
28. Masquelet A.C., Begue T. The concept of induced membrane for reconstruction of long bone defects // *Orthop. Clin. North Am.* 2010. Vol. 41, No. 1. P. 27-37. DOI: 10.1016/j.ocl.2009.07.011.

29. Reconstruction of the long bones by the induced membrane and spongy autograft / A.C. Masquelet, F. Fitoussi, T. Begue, G.P. Muller // *Ann. Chir. Plast. Esthet.* 2000. Vol. 45, No 3. P. 346-353.
30. Методы диагностики эндотелиальной дисфункции / А.Н. Иванов, А.А. Гречихин, И.А. Норкин, Д.М. Пучиньян // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2014. Т. 13, №4(52). С. 4-11.
31. Гайдышев И.П. Решение научных и инженерных задач средствами Excel, VBA и C/C++. СПб.: ВХВ-Петербург, 2004. 512 с.
32. Федорович А.А. Неинвазивная оценка вазомоторной и метаболической функции микрососудистого эндотелия в коже человека // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2013. Т. 12, №2 (46). С. 15-25.
33. Долганова Т.И. Функциональные процессы в организме при лечении аппаратом Илизарова. Saarbrücktn: LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG, 2011. 376 с.
34. Долганова Т.И., Чевадин А.Ю., Долганов Д.В. Магнитолазеротерапия при дистракционном остеосинтезе аппаратом Илизарова // Лазерная медицина. 2015. Т.19, №4. С. 27-31.

REFERENCES

1. Rosano A., Botto L.D., Olney R.S., Houry M.J., Ritvanen A., Goujard J., Stoll C., Cocchi G., Merlob P., Mutchinick O., Cornel M.C., Castilla E.E., Martínez-Frías M.L., Zampino G., Erickson J.D., Mastroiacovo P. Limb defects associated with major congenital anomalies: clinical and epidemiological study from the International Clearinghouse for Birth Defects Monitoring Systems. *Am. J. Med. Genet.*, 2000, Vol. 93, no. 2, pp. 110-116.
2. Aliev A.B. *Vrozhdennye poroki dlinnykh kostei nizhnikh konechnostei* [Congenital defects of the lower limb long bones]. Baku, Sharg-Barg, 1993, 104 p. (In Russian)
3. Fawcett L.B., Buck S.J., Brent R.L. Limb reduction defects in the A/J mouse strain associated with maternal blood loss. *Teratology*, 1998, vol. 58, no. 5, pp. 183-189. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9926(199811)58:5<183::AID-TERA4>3.0.CO;2-L.
4. Buklaev D.S., Ianakova O.M. Ul'trazvukovaya dopplerografiya sudov nizhnei konechnosti u detei s porokom razvitiia malobertsovoi kosti [Ultrasound Dopplerography of the lower limb vessels in children with fibular developmental defect]. *Travmatologiya i Ortopediia Rossii*, 2002, no. 3, pp. 37-39. (In Russian)
5. Ul'ianina E.V., Fatkullin I.F., Khairullina G.R. Markery angiogeneza i ul'trazvukovogo issledovaniia v otsenke stepeni tiazhesti sindroma zaderzhki razvitiia ploda [Markers of angiogenesis and ultrasound investigation in the evaluation of severity degree of the fetal development delay syndrome]. *Vestnik Sovremennoi Klinicheskoi Meditsiny*, 2016, vol. 9, no. 5, pp. 79-82. (In Russian)
6. Kiselev S.M., Lutsenko S.V., Severin S.E., Severin E.S. Inhibitory opukhovelego angiogeneza (obzor) [Inhibitors of tumoral angiogenesis (A review)]. *Biokhimiia*, 2003, vol. 68, no. 5, pp. 611-631. (In Russian)
7. Fujimoto J., Aoki I., Toyoki H., Khatun S., Tamaya T. Clinical implications of expression of ETS-1 related to angiogenesis in uterine endometrial cancers. *Ann. Oncol.*, 2002, vol. 13, no. 10, pp. 1605-1611.
8. Vecchiarelli-Federico L.M., Cervi D., Haeri M., Li Y., Nagy A., Ben-David Y. Vascular endothelial growth factor – a positive and negative regulator of tumor growth. *Cancer Res.*, 2010, vol. 70, no. 3, pp. 863-867. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3592.
9. Dalaveris E., Keremidi T., Katsabeki-Katsafli A., Kiropoulos T., Tanou K., Gourgoulialis K.I., Kostikas K. VEGF, TNF-alpha and 8-isoprostane levels in exhaled breath condensate and serum of patients with lung cancer. *Lung Cancer*, 2009, vol. 64, no. 2, pp. 219-225. DOI: 10.1016/j.lungcan.2008.08.015.
10. Witsch E., Sela M., Yarden Y. Roles for growth factors in cancer progression. *Physiology* (Bethesda), 2010, vol. 25, no. 2, pp.85-101. DOI: 10.1152/physiol.00045.2009.
11. Haigh J.J., Gerber H.P., Ferrara N., Wagner E.F. Conditional inactivation of VEGF-A in areas of collagen2a1 expression results in embryonic lethality in the heterozygous state. *Development*, 2000, vol 127, no. 7, pp. 1445-53.
12. Léger C. Un nouveau rôle pour le VEGF. *Biofutur.*, 1999, no. 191, pp. 10. Available at: <http://www.dissercat.com/content/fiziologicheskii-analiz-kompensatormo-prisposobitelnykh-protsesov-v-organizme-pri-lechenii-#ixzz5CznVEHlw>
13. Stogov M.V., Luneva S.N., Novikov K.I. Growth factors in human serum during operative tibial lengthening with the Ilizarov method. *J. Orthop. Res.*, 2013, vol. 31, no. 12, pp. 1966-1970. DOI: 10.1002/jor.22454.
14. Shurygin M.G., Shurygina I.A., Dremina N.N. Dinamika faktorov rosta endotelii sudov i fibroblasticheskogo faktora rosta pri eksperimental'nom infarkte miokarda [Dynamics of vascular endothelium growth factors and fibroblast growth factor in experimental myocardial infarction]. *Acta Biomedica Scientifica*, 2007, no. 6, pp. 169-174. (In Russian)
15. Bershova T.V., Bakanov M.I., Smirnov I.E., Sanfirova V.M., Korneeva I.T., Poliakov S.D., Solov'eva Iu.V. Izmeneniia funktsional'nogo sostoianiia sududistogo endotelii u iunykh sportsmenov razlichnoi kvalifikatsii [Changes in vascular endothelium functional condition in young sportsmen of various qualification]. *Rossiiskii Pediatricheskii Zhurnal*, 2016, vol. 19, no.1, pp. 14-19. (In Russian)
16. Iakovleva N.Iu., Khazova E.L., Vasil'eva E.Iu., Zazerskaia I.E. Sootnoshenie angiogennykh i antiangiogennoy faktorov pri preeklampsii [The ratio of angiogenic and antiangiogenic factors in pre-eclampsia]. *Arterial'naiia Gipertenziia*, 2016, vol. 22, no. 5, pp. 488-494. (In Russian)
17. Vorob'eva I.S., Nikitina V.V., Gladilin G.P., Shakhmartova S.G., Puchin'ian D.M. Faktor rosta endotelii sudov kak prediktor vozniknoveniia tromboticheskikh oslozhnenii u bol'nykh deformiruiushchimi koksartrozom [Growth factor of vascular endothelium as predictor of developing thrombotic complications in patients with deforming coxarthrosis]. *Tromboz, Gemostaz i Reologiya*, 2017, vol. 69, no. 1, pp. 50-54. (In Russian)
18. Koval' S.N., Snegurskaia I.A., Mynichenko O.V. Semeistvo vaskuloendotelial'nogo faktora rosta i ego vozmozhnaia rol' v patogeneze arterial'nykh hipertenzii [The family of vasculoendothelial growth factor and its possible role in arterial hypertension pathogenesis]. *Arterial'naiia Gipertenziia*, 2012, no. 4 (24), pp. 85-93. (In Russian)
19. Ku D.D., Zaleski J.K., Liu S., Brock T.A. Vascular endothelial growth factor induces EDRF-dependent relaxation in coronary arteries. *Am. J. Physiol.*, 1993, vol. 265, no. 2 Pt. 2, pp. H586-H592.
20. Gélinas D.S., Bernatchez P.N., Rollin S., Bazan N.G., Sirois M.G. Immediate and delayed VEGF-mediated NO synthesis in endothelial cells: role of PI3K, PKC and PLC pathways. *Br. J. Pharmacol.*, 2002, vol. 137, no. 7, pp. 1021-1030. DOI: 10.1038/sj.bjp.0704956.
21. Hood J.D., Meininger C.J., Ziche M., Granger H.J. VEGF upregulates eNOS message, protein, and NO production in human endothelial cells. *Am. J. Physiol.*, 1998, vol. 274, no. 3 Pt. 2, pp. H1054-H1058.
22. Wheeler-Jones C., Abu-Ghazaleh R., Cospedal R., Houliston R.A., Martin J., Zachary I. Vascular endothelial growth factor stimulates prostacyclin production and activation of cytosolic phospholipase A2 in endothelial cells via p42/p44 mitogen-activated protein kinase. *FEBS Lett.*, 1997, vol. 420, no. 1, pp. 28-32.
23. Bergersen T.K., Hisdal J., Wallöe L. Perfusion of the human finger during cold-induced vasodilatation. *Am. J. Physiol.*, 1999, vol. 276, no. 3 Pt. 2, pp. R731-R737.
24. Shevtsov V.I., Gordievskikh N.I., Erofeev S.A. Sostoianie krovoobrashcheniia konechnosti v usloviakh avtomaticheskoi distratsii [Limb circulation status in the conditions of automatic distraction]. *Genij Ortopedii*, 2000, no. 1, pp. 11-15. (In Russian)
25. Gelfand B.R., Saltanov A.I., eds. *Intensivnaia terapiia: natsional'noe rukovodstvo: v 2 t.* [Intensive therapy: national guide. In 2 vol.]. M., GEOTAR-Media, 2011, vol. 1, 960 p. (In Russian)
26. Gumanenko E.K., Samokhvalov I.M., eds. *Voenna-polevaia khirurgiia lokal'nykh voin i vooruzhennykh konfliktov: rukovodstvo dlia vrachei* [Military field surgery of local wars and armed conflicts: guide for physicians]. M., GEOTAR-Media, 2011, 672 p. (In Russian)
27. Masquelet A.C. Muscle reconstruction in reconstructive surgery: soft tissue repair and long bone reconstruction. *Langenbecks Arch. Surg.*, 2003, vol. 388, no. 5, pp. 344-346. DOI: 10.1007/s00423-003-0379-1.
28. Masquelet A.C., Begue T. The concept of induced membrane for reconstruction of long bone defects. *Orthop. Clin. North Am.*, 2010, vol. 41, no. 1, pp. 27-37. DOI: 10.1016/j.ocl.2009.07.011.
29. Masquelet A.C., Fitoussi F., Begue T., Muller G.P. Reconstruction of the long bones by the induced membrane and spongy autograft. *Ann. Chir. Plast. Esthet.*, 2000, vol. 45, no. 3, pp. 346-353.

30. Ivanov A.N., Grechikhin A.A., Norkin I.A., Puchin'ian D.M. Metody diagnostiki endotelial'noi disfunktsii [Methods of diagnosing the endothelial dysfunction]. *Regionarnoe Krovoobrashchenie i Mikrotsirkulatsiia*, 2014, vol. 13, no. 4(52), pp. 4-11. (In Russian)
31. Gaidyshev I.P. *Reshenie nauchnykh i inzhenernykh zadach sredstvami Excel, VBA i S/S+++* [Solution of scientific and engineering tasks by means of Excel, VBA and S/S+++]. SPb., VKhV-Peterburg, 2004, 512 p. (In Russian)
32. Fedorovich A.A. Neinvazivnaia otsenka vazomotornoi i metabolicheskoi funktsii mikrososudistogo endoteliia v kozhe cheloveka [Non-invasive evaluation of vasomotor and metabolic function of the microvascular endothelium in human skin]. *Regionarnoe Krovoobrashchenie i Mikrotsirkulatsiia*, 2013, vol. 12, no. 2 (46), pp. 15-25. (In Russian)
33. Dolganova T.I. *Funktional'nye protsessy v organizme pri lechenii apparatom Ilizarova* [Functional processes in the organism when treatment using the Ilizarov fixator]. Saarbrücktn, LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG, 2011, 376 p. (In Russian)
34. Dolganova T.I., Chevardin A.Iu., Dolganov D.V. Magnitolazeroterapiia pri distraktsionnom osteosinteze apparatom Ilizarova [Magnetic-laser therapy under distraction osteosynthesis with the Ilizarov fixator]. *Lazernaia Meditsina*, 2015, vol. 19, no. 4, pp. 27-31. (In Russian)

Рукопись поступила 23.01.2018

Сведения об авторах:

1. Выхованец Евгения Петровна,
ФГБУ «РНИЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава
России, г. Курган, Россия,
Email: vykhovanets.eva@mail.ru
2. Долганова Тамара Игоревна, д. м. н.,
ФГБУ «РНИЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава
России, г. Курган, Россия,
Email: rjik532007@rambler.ru
3. Лунева Светлана Николаевна, д. б. н., профессор,
ФГБУ «РНИЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава
России, г. Курган, Россия,
Email: luneva_s@mail.ru
4. Борзунов Дмитрий Юрьевич, д. м. н.,
¹ ФГБУ «РНИЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава
России, г. Курган, Россия,
² ФГБОУ ВО «Тюменский ГМУ» Минздрава России, г. Тюмень, Россия,
Email: borzunov@bk.ru

Information about the authors:

1. Evgeniia P. Vykhovanets,
Russian Ilizarov Scientific Center for Restorative Traumatology and
Orthopaedics, Kurgan, Russian Federation,
Email: vykhovanets.eva@mail.ru
2. Tamara I. Dolganova, M.D., Ph.D.,
Russian Ilizarov Scientific Center for Restorative Traumatology and
Orthopaedics, Kurgan, Russian Federation,
Email: rjik532007@rambler.ru
3. Svetlana N. Luneva, Ph.D. of Biological Sciences, Professor,
Russian Ilizarov Scientific Center for Restorative Traumatology and
Orthopaedics, Kurgan, Russian Federation,
Email: luneva_s@mail.ru
4. Dmitry Yu. Borzunov, M.D., Ph.D.,
¹ Russian Ilizarov Scientific Center for Restorative Traumatology and
Orthopaedics, Kurgan, Russian Federation,
² Tumen State Medical University, Tumen, Russian Federation,
Email: borzunov@bk.ru