

**Маркеры костного ремоделирования при замещении дефекта
трабекулярной костной ткани резорбируемыми и нерезорбируемыми
остеопластическими материалами в эксперименте**

М.В. Гилев^{1,2,3}, Е.А. Волокитина^{1,3}, И.П. Антропова^{1,2}, В.В. Базарный¹, С.М. Кутепов¹

¹Федеральное государственное медицинское учреждение высшего образования

«Уральский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г. Екатеринбург, Россия

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высокотемпературной электрохимии

Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

³Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования

«Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

**Bone remodeling markers after experimental augmentation of trabecular bone defects
with resorbable and non-resorbable osteoplastic materials in rabbits**

M.V. Gilev^{1,2,3}, E.A. Volokitina^{1,3}, I.P. Antropova^{1,2}, V.V. Bazarny¹, S.M. Kutepov¹

¹Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation

²Institute of High Temperature Electrochemistry of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation

³Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, Ekaterinburg, Russian Federation

Цель. Изучить влияние различных резорбируемых и нерезорбируемых остеозамещающих материалов на динамику маркеров костного ремоделирования при замещении дефекта трабекулярной костной ткани в эксперименте. **Материалы и методы.** Определялись маркеры остеогенеза (остеокальцин (ОК) и костный изофермент щелочной фосфатазы (КЩФ)), остеорезорбции (С-концевые телопептиды коллагена I типа (СКТ)), воспаления (С-реактивный белок (СРБ)) после замещения (аугментации) дефекта костной ткани резорбируемым ксенопластическим материалом (РКМ), синтетическим бета-трикальцийфосфатом (б-ТКФ), пористым титановым аугментом (ПТА) и углеродным наноструктурным имплантатом (УНИ) в условиях моделирования импрессионного перелома проксимального отдела большеберцовой кости кроликов. Животные были разделены на 5 групп (n = 6 в каждой): опытные группы согласно типу материала, группа контроля (К) без аугментации. Периферическую венозную кровь забирали на 1, 3, 7, 14, 45, 90, 180 сутки после операции. **Результаты.** В группах К, б-ТКФ, ПТА, РКМ к 90 суткам С-КТ не обнаруживался, но в группе УНИ сохранялся повышенный до конца исследования. Уровень ОК в группах К, б-ТКФ, ПТА достигал максимума в 14-45 сутки, в группе УНИ значимого повышения ОК не обнаружено. Концентрация КЩФ в группе К достигала максимума к 90 суткам. В группах б-ТКФ и ПТА нарастание концентрации КЩФ происходило более быстро. Динамика СРБ в группах РКМ, б-ТКФ и ПТА соответствовала динамике в группе К, в группе УНИ повышенный уровень СРБ сохранялся до конца исследования. **Заключение.** При замещении костного дефекта как резорбируемым б-ТКФ, так и нерезорбируемым ПТА сочетание высокого уровня маркеров остеогенеза и низкой концентрации маркера остеокластической резорбции свидетельствует о наиболее эффективной интеграции остеопластического материала в область импрессионного костного дефекта. Использование ксенопластического материала не выявило преимуществ в сравнении с хирургическим вмешательством, проведенным без замещения. При использовании УНИ обнаружено усиление процессов резорбции на фоне низкого уровня остеогенеза.

Ключевые слова: маркеры костного ремоделирования, остеопластический материал, аугментация, костный дефект, эксперимент

Objective To study the effect of bone defect augmentation on the dynamics of bone remodeling markers. **Material and methods** The effect of resorbable xenoplastic material (RXM), synthetic beta-tricalcium phosphate (b-TCP), porous titanium implant (PTI) and nanostructured carbon implant (NCI) on the markers of bone remodeling (osteocalcin, OC; bone alkaline phosphatase, BALP; C-terminal telopeptide of type I collagen, CTX-1) and inflammation marker (C-reactive protein, CRP) was investigated using bone defect model in rabbits. 24 animals were divided into 4 groups (n = 6 in each group) according to the type of osteoplastic material. Control group (n = 6) was without augmentation. An impression fracture of the proximal tibia was modeled. Blood samples were taken on days 1, 3, 7, 14, 45, 90, 180 after surgery. **Results** CTX-1 was not detected in the control, b-TCP, PTI, and RXM groups after 90 days, but in the NCI group CTX-1 remained elevated until the end of the study. OC in the control, b-TCP, PTI groups reached a maximum at 14-45 days. No significant increase in OC was found in the NCI group. The BALP in the control group peaked at 90 days. In the b-TCP and PTI groups the concentration of BALP increased more rapidly. The dynamics of CRP in the RXM, b-TCP and PTI groups was similar to the dynamics in the control group, in the NCI group an increased level of CRP remained until the end of the study. **Conclusion** When a bone defect was augmented with both resorbable b-TCP and non-resorbable PTI, high osteogenesis activity and low osteoresorption activity were detected. The use of xenoplastic material did not reveal any advantages in comparison with surgery performed without augmentation. An increase in osteoresorption and a low level of osteogenesis were found by using NCI.

Keywords: bone remodeling markers, osteoplastic materials, augmentation, bone defects, experiment

ВВЕДЕНИЕ

Замещение (аугментация) дефектов костной ткани относится к приоритетным проблемам современной клинической медицины. Костные дефекты встречаются при хирургическом лечении внутри- и околоуставных переломов, парциальных остеохондральных дефектов, при дегенеративно-дистрофических заболеваниях крупных суставов костей конечностей и он-

копатологии костно-мышечной системы [1, 2]. Необходимость оперативного замещения костного дефекта обуславливает постоянный поиск новых материалов и конструкций для остеопластики, которые успешно интегрировались бы в организм человека, обладали хорошей биосовместимостью и способностью стимулировать механизмы остеоиндукции и остеоиндуции [3].

Маркеры костного ремоделирования при замещении дефекта трабекулярной костной ткани резорбируемыми и нерезорбируемыми остеопластическими материалами в эксперименте / М.В. Гилев, Е.А. Волокитина, И.П. Антропова, В.В. Базарный, С.М. Кутепов // Гений ортопедии. 2020. Т. 26, № 2. С. 222-227. DOI 10.18019/1028-4427-2020-26-2-222-227

Gilev M.V., Volokitina E.A., Antropova I.P., Bazarny V.V., Kutepov S.M. Bone remodeling markers after experimental augmentation of trabecular bone defects with resorbable and non-resorbable osteoplastic materials in rabbits. *Genij Ortopedii*, 2020, vol. 26, no 2, pp. 222-227. DOI 10.18019/1028-4427-2020-26-2-222-227

В настоящее время для остеопластики костного дефекта существует широкий спектр замещающих материалов [4–6]. Недеминерализованный ксеноматериал получают из очищенной кости животного, которую подвергают обработке до высокоочищенного костного матрикса, в результате чего сохраняются коллагеновый и минеральный компоненты [7]. Другим резорбируемым остеопластическим материалом является синтетический β -трикальций фосфат, пористая структура которого поддерживает остеобласты и способствует интеграции костной ткани. Маленький размер частиц улучшает osteoconductive свойства аугмента и обеспечивает интеграцию во время процесса ремоделирования кости [8]. Титан является одним из наиболее инертных и биотолерантных металлов, что определяет его широкое применение в травматологии и ортопедии [9]. Использование технологии селективного лазерного плавления позволяет получать титановые аугменты с заданной архитектурой [10]. Нерезорбируемые углеродные наноструктурные имплантаты также обладают достаточным набором характеристик (osteoinductive-

ность, биоинертность, безопасность), позволяющих использовать их в травматологии и ортопедии [11].

Важным элементом исследований по применению различных типов аугментов для замещения костной ткани является получение информации о характере и динамике репарационного процесса. Молекулярные маркеры костного ремоделирования показали свою информативность как для оценки эффективности восстановления костной ткани после хирургического лечения переломов, так и для раннего выявления нарушений остеогенеза. Обнаружено, что при разных типах переломов и различной их локализации показатели костных маркеров различаются [12–14]. Однако нет данных об особенностях метаболизма костной ткани при заполнении костных дефектов различными резорбируемыми и нерезорбируемыми аугментами. Целью данной работы стало сравнительное изучение влияния различных резорбируемых и нерезорбируемых остеозамещающих материалов на динамику маркеров резорбции и формирования костной ткани при моделировании импрессионного перелома трабекулярной кости кроликов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования. Исследование выполнено на 30 половозрелых самках кроликов породы Шиншилла массой 3–3,5 кг на начало эксперимента. Животные содержались в виварии Уральского государственного медицинского университета, были здоровы, имели ветеринарный сертификат качества и состояния здоровья. Дизайн исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России. Исследование проводили в соответствии с «Методическими рекомендациями по содержанию лабораторных животных в вивариях научно-исследовательских институтов и учебных заведений» РД-АПК 3.10.07.02-09 и Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях. Животные находились в идентичных условиях кормления и содержания. Этаназию производили путём передозировки раствора 20 % тиопентала натрия.

Остеопластические материалы. Для заполнения дефектов костной ткани использовались: 1) резорбируемый ксенопластический материал «Остеоматрикс», представляющий собой химически обработанный недеминерализованный лиофилизированный костный матрикс животного, производство «Коннектбиофарм» (Россия); 2) синтетический бета-трикальций фосфат (β -ТКФ; Science & BioMaterials, Франция), который представляет собой osteoconductive резорбируемый аугмент с пористостью 60 %; 3) пористые (объемная пористость 80 %) титановые имплантаты (цилиндрические образцы $d = 5$ мм, $h = 5$ мм), полученные на базе аддитивных технологий (3D -печати), являлись экспериментальными изделиями медицинского назначения, изготовленными методом прямого лазерного спекания металла (direct metal laser sintering – DMLS) на установке EOSINT 280 в госкорпорации «Росатом» (Россия); 4) углеродный наноструктурный имплантат, представляющий собой прочный композит из углеродных волокон, связанных наноструктурной углеродной матрицей, выполненный в форме куба с размером грани 5 мм, производство «Нанотехмедплюс» (Россия).

Моделирование перелома. Оперативное вмешательство выполняли под общей анестезией: внутримышечно рометар 2 % – 8 мг/кг (Rometar 2 %, СПОФА, Чехия) и золетил – 6 мг/кг (Zoletil-100, «Virbac Sante Animale»). Для местного обезболивания использовали 0,25 % раствор новокаина, которым выполняли также гидравлическую диссекцию тканей. Моделирование внутрисуставного импрессионного перелома проксимального отдела большеберцовой кости выполнялось по методике, описанной ранее в наших работах [15]. После моделирования импрессионного перелома проводили элевацию импакционного участка, в образовавшийся дефект аугментировали остеопластический материал по типу «press fit», рану послойно зашивали. Спустя сутки после операции состояние кроликов во всех группах было удовлетворительным и соответствовало раннему послеоперационному периоду, в течение нескольких суток отмечался незначительный отек в зоне оперативного вмешательства, не требовавший дополнительных лечебных мероприятий, заживление послеоперационной раны происходило первичным натяжением, швы снимали на 10 сутки после операции.

Дизайн исследования. Все животные были разделены на 5 групп по 6 кроликов в каждой. Животным четырех опытных групп проводилось билатеральное моделирование импрессионного перелома трабекулярной кости с последующей аугментацией резорбируемым ксенопластическим материалом (РКМ); синтетическим бета-трикальцийфосфатом (β -ТКФ); пористым титановым аугментом (ПТА); углеродным наноструктурным имплантатом (УНИ). В качестве группы контроля (К) использовали кроликов, которым проводилось моделирование перелома без последующей хирургической коррекции. Периферическую венозную кровь забирали утром из краевой вены уха до операции, на 1, 3, 7, 14, 45, 90, 180 сутки после операции.

Иммунохимические исследования. Образцы крови забирали в вакуумные пробирки Improvacuter (Китай). Сыворотку крови животных получали осаждением форменных элементов центрифугированием (3000 об/

мин, 20 минут), разливали на аликвоты и хранили при -70 °С до проведения исследования. Для изучения динамики маркеров костного ремоделирования и воспаления в сыворотке периферической крови методом иммуноферментного анализа определяли концентрацию С-концевых телопептидов (С-КТ), остеокальцина (ОК), костного изофермента щелочной фосфатазы (КЩФ), С-реактивного белка (СРБ) с использованием наборов Cloud-Clone Corp. Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit. Organism Species (Великобритания) по прилагаемым к наборам протоколам с использованием контролей. Для выполнения анализа применяли комплекс, включающий планшетный иммуноферментный анали-

затор «Termo Scientific» Multiskan GO (Япония); вошер Termo Scientific 112 Wellwash (Япония), шейкер-термостат Elmi (ST-3L), Латвия.

Статистическая обработка данных проводилась методами вариационной статистики с использованием программы Statistica 8.0. Для сравнения исследуемых групп использовался критерий Краскела-Уоллиса с последующим проведением множественного анализа. Динамика маркеров в послеоперационном периоде оценивалась с использованием критерия Фридмана (ANOVA). Уровень $p < 0,05$ принимался статистически значимым. Данные представлены как медиана [межквартильный размах].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Данные по изменению маркера остеорезорбции представлены в таблице 1. Уровень С - КТ в крови в первые сутки после операции демонстрировал небольшое или умеренное повышение у большинства животных, включенных в исследование, без значимых различий между группами. На 3 сутки после операции наблюдалось резкое повышение концентрации С-КТ в крови в группах β-ТКФ и ПТА, в противоположность этому, в группах К и УНИ сохранялся низкий уровень показателя, а в группе РКМ наблюдалась очень широкая вариабельность данного маркера. С 7 суток уровень С-КТ имел тенденцию к нормализации в группах β-ТКФ и ПТА, в группе РКМ большинство животных демонстрировали повышение данного показателя, в группе УНИ концентрация С-КТ практически не определялась. К 14 суткам продолжилась постепенная нормализация концентрации С-КТ в группах β-ТКФ и ПТА, в группе РКМ сохранялся высокий уровень маркера резорбции, а в группах К и УНИ наблюдалось резкое нарастание концентрации С-КТ в крови. В 45 суток концентрация С-КТ в группах β-ТКФ, ПТА и К продолжала снижаться, но в группах РКМ и УНИ сохранялась высокой. С 90 суток и до конца исследования повышенный уровень маркера костной резорбции сохранялся только в группе УНИ.

Анализ динамики маркеров остеогенеза показал, что концентрация ОК в крови в первые сутки после операции повышена только в группе РКМ (табл. 2). На третьи сутки уровень ОК во всех опытных группах не отличался существенно от значения данного показателя в группе контрольных животных. С 7-х суток

нарастание данного маркера обнаруживалось во всех исследуемых группах. К 14-м суткам максимальный уровень ОК достигался в группах β-ТКФ и К, наименьшие значения данный показатель имел в группе УНИ. К 45-м суткам повышенный уровень ОК сохранялся в группах β-ТКФ и ПТА, к 90-м суткам – только в группе β-ТКФ. К концу периода исследования концентрация ОК ни в одной из опытных групп не превышала уровень контрольной группы (табл. 2). Нужно отметить, что в группе УНИ, в отличие от других групп, послеоперационные изменения концентрации ОК не были достаточно выраженными (тест Фридмана, $p = 0,115$).

Концентрация КЩФ в контрольной группе постепенно повышалась с первой недели после операции, достигая максимальных значений к 90 суткам. В группах РКМ, β-ТКФ и ПТА нарастание концентрации данного маркера остеогенеза происходило более быстро, чем в контроле, и уровень фермента был выше, при этом в группе ПТА наблюдались наиболее высокие значения. В группе УНИ повышение КЩФ наблюдалось только в самом раннем послеоперационном периоде, и оно, по-видимому, не связано с репаративным остеогенезом (табл. 3).

Характер изменений концентрации СРБ в группах РКМ, β-ТКФ и ПТА соответствует динамике послеоперационного периода в группе контроля с подъемом в ранние сроки и постепенной нормализацией к 90 суткам после хирургического вмешательства. В то же время, в группе УНИ существенное повышение уровня СРБ сохранялось до конца периода исследования (табл. 4).

Таблица 1

Концентрация С-концевых телопептидов коллагена I типа (пг/мл) в крови при аугментации большеберцовой кости кроликов остеопластическими материалами

Срок относительно операции	Группа					p1
	Контроль	РКМ	β-ТКФ	УНИ	ПТА	
	1	2	3	4	5	
1 сутки	0 [0; 0]	5 [0; 70]	0 [0; 50]	10 [0; 70]	50 [30; 65]	0,301
3 сутки	10 [0; 40] ^{2,5}	18 [20; 265]	144 [125; 165] ^{1,4}	0 [0; 50] ^{2,5}	135 [120; 140] ^{1,4}	0,007
7 сутки	20 [0; 90]	113 [60; 190] ⁴	112 [65; 123] ⁴	0 [0; 0]	73 [50; 100] ⁴	0,002
14 сутки	375 [350; 400]	110 [102; 240]	60 [50; 80] ¹	123 [0; 285]	70 [55; 80] ¹	0,002
45 сутки	0 [0; 50] ⁴	63 [13; 355]	0 [0; 10] ⁴	187 [100; 410] ^{1,3,5}	5 [0; 15] ⁴	0,015
90 сутки	0 [0; 0] ⁴	0 [0; 0] ⁴	0 [0; 0] ⁴	120 [120; 230] ^{1,2,3,5}	0 [0; 0] ⁴	< 0,001
180 сутки	0 [0; 0] ⁴	0 [0; 0] ⁴	0 [0; 0] ⁴	140 [140; 210] ^{1,2,3,5}	0 [0; 0] ⁴	< 0,001
p2	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,004	0,001	

Примечание: результаты представлены как медиана [межквартильный размах]; p1 – статистическая значимость наличия различий между исследуемыми группами; ^{1,2,3,4,5} – различия с группами 1, 2, 3, 4, 5 статистически значимы ($p < 0,05$); p2 – статистическая значимость послеоперационных изменений показателя в группе.

Таблица 2

Уровень остеокальцина (нг/мл) в крови при аугментации большеберцовой кости кроликов остеопластическими материалами

Срок относительно операции	Группа					p1
	Контроль	РКМ	β-ТКФ	УНИ	ПТА	
	1	2	3	4	5	
1 сутки	11,5 [10,2;14,0]	24.3 [15,3; 29,2] ^{4,5}	10.0 [10,0; 13,0]	8,0 [7,0; 11,0] ²	8,5 [7,0; 9,0] ²	0,003
3 сутки	11,5 [9,6;14,0]	8.0 [7,5; 12,5]	12.0 [8,0; 15,0]	9,5 [9,0;11,0]	9,5 [8,0; 11,0]	0,473
7 сутки	16,7 [13,3; 23,0]	11.5 [9,0; 17,0]	19,0 [15,0; 22,0]	13,0 [11,0; 15,0]	12,0 [8,0; 13,0]	0,056
14 сутки	23,2 [21,6; 24,0] ⁴	13,0[11,5;17,5]	35,0 [16,0; 53,0] ⁴	8,0 [8,0; 10,0] ^{1,3,5}	18,0 [10,0; 29,0] ⁴	0,010
45 сутки	10,0 [8,4; 12,0] ^{3,5}	11,5 [10,1; 14,5] ^{3,5}	26,5 [15,0;36,0] ^{1,2}	13,0[11,0; 15,0] ⁵	25,0 [19,0;28,0] ^{1,2}	< 0,001
90 сутки	8,0 [7,4; 8,0] ³	9,5 [8,0; 15,6]	13,0 [12,0;18,5] ^{1,5}	10,0 [7,0; 14,0]	8,0[5,0; 10,0] ⁵	0,027
180 сутки	9,2 [7,0; 11,1]	8.5 [5,5; 11,0]	10,5 [8,0; 13,0]	8,0 [8,0; 13,0]	7,0 [5,0; 10,0]	0,462
p2	<0,001	0,001	<0,001	0,115	0,001	

Примечание: результаты представлены как медиана [межквартильный размах]; p1 – статистическая значимость наличия различий между исследуемыми группами; ^{1,2,3,4,5} – различия с группами 1, 2, 3, 4, 5 статистически значимы (p < 0,05); p2 – статистическая значимость послеоперационных изменений показателя в группе.

Таблица 3

Концентрация костной щелочной фосфатазы (нг/мл) в крови при аугментации большеберцовой кости кроликов остеопластическими материалами

Срок относительно операции	Группа					p1
	Контроль	РКМ	β-ТКФ	УНИ	ПТА	
	1	2	3	4	5	
1 сутки	8,2 [6,5; 9,4] ^{3,4}	11,8 [8,2; 15,1]	27,5 [18,0; 35,0] ¹	24,0 [19,0;30,0] ¹	6,9 [1,8; 13,0]	0,006
3 сутки	6,9 [6,6; 7,6]	11,6[11,6;11,9]	15,6 [7,3; 29,0]	17,8 [16,3;26,3] ¹	3,3 [2,1; 14,0]	0,023
7 сутки	14,1 [7,0; 24,7]	10,6 [8,2; 18,4] ³	41,0 [32,0; 45,0] ^{1,2,4}	7,3 [5,1; 10,2] ³	15,6 [6,4; 26,0]	0,010
14 сутки	12,1 [10,6; 13,4] ⁵	14,8[12,0; 16,0] ⁵	40,0 [27,0;54,0] ¹	14,5 [7,4; 40,0]	46,5 [38,0; 85] ^{1,2}	0,004
45 сутки	15,8 [14,7; 16,8] ⁵	36,5 [32,0; 48,9]	26,0 [21,0;27,0] ⁵	5,8 [5,7; 9,9] ⁵	85,0 [64,0; 112,0] ^{1,3,4}	< 0,001
90 сутки	25,9 [24,1; 27,5] ^{3,4}	18,2 [16,0;24,5] ⁴	14,2 [8,7; 17,3] ¹	9,1 [7,8; 9,8] ^{1,2,5}	18,4 [17,7; 21,0] ⁴	< 0,001
180 сутки	14,6 [13,6; 15,5]	10,0 [8,9; 11,2]	10,0 [7,1; 14,0]	9,8 [8,9; 10,1] ¹	12,8 [10,9;14,3]	0,032
p2	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,004	< 0,001	

Примечание: результаты представлены как медиана [межквартильный размах]; p1 – статистическая значимость наличия различий между исследуемыми группами; ^{1,2,3,4,5} – различия с группами 1, 2, 3, 4, 5 статистически значимы (p < 0,05); p2 – статистическая значимость послеоперационных изменений показателя в группе.

Таблица 4

Концентрация С-реактивного белка (нг/мл) в крови при аугментации большеберцовой кости кроликов остеопластическими материалами

Срок относительно операции	Группа					p1
	Контроль	РКМ	β-ТКФ	УНИ	ПТА	
	1	2	3	4	5	
1 сутки	0,77 [0,73; 0,84]	0,70 [0,40;0,98]	1,45 [1,0; 1,60]	1,49 [1,00;1,53]	1,11 [1,00;1,20]	0,056
3 сутки	0,82 [0,66; 1,08]	0,99 [0,83;1,55]	1,30 [1,20;1,80]	1,76 [1,20;1,90]	1,22 [1,08;1,60]	0,054
7 сутки	0,58 [0,56; 0,62]	0,67 [0,42;0,84]	0,63 [0,56;1,25]	1,60 [0,55; 4,50]	0,58 [0,31;0,84]	0,627
14 сутки	0,21 [0,16;0,30] ⁴	0,39 [0,33;0,41] ⁴	0,42 [0,21;0,53] ⁴	1,50 [0,63; 2,10] ^{1,2,3,5}	0,35 [0,12;0,54] ⁴	0,003
45 сутки	0,03 [0,00;0,09] ⁴	0,12 [0,03;0,36] ⁴	0,21 [0,16;0,28] ⁴	1,50 [0,65; 2,80] ^{1,2,3,5}	0,12 [0,11;0,24] ⁴	0,001
90 сутки	0,00 [0,00; 0,00] ⁴	0,00 [0,00;0,12] ⁴	0,0 [0,0; 0,10] ⁴	0,99 [0,70; 1,28] ^{1,2,3,5}	0,00 [0,00; 0,00] ⁴	0,005
180 сутки	0,00 [0,00; 0,00] ⁴	0,00 [0,00;0,04] ⁴	0,00 [0,0; 0,00] ⁴	0,46 [0,41; 0,58] ^{1,2,3,5}	0,00 [0,00; 0,00] ⁴	<0,001
p2	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,094	< 0,001	

Примечание: результаты представлены как медиана [межквартильный размах]; p1 – статистическая значимость наличия различий между исследуемыми группами; ^{1,2,3,4,5} – различия с группами 1, 2, 3, 4, 5 статистически значимы (p < 0,05); p2 – статистическая значимость послеоперационных изменений показателя в группе.

ОБСУЖДЕНИЕ

Процессы резорбции и формирования костной ткани при травмах и хирургических вмешательствах сопровождаются изменением в крови уровня маркеров, отражающих функциональную активность остеокластов и остеобластов, осуществляющих ремоделирование кости [16, 17]. С-концевые телопептиды коллагена I типа отщепляются от его молекулы и появляются в крови на самых ранних этапах деструкции костной ткани. При неосложненном хирургическом лечении переломов концентрация С-КТ начинает увеличиваться в крови с 1 недели после операции, достигает максимума

к 4-8 неделе и возвращается к исходным значениям к 24 неделе [18]. При этом отмечается, что уровень и динамика маркеров остеорезорбции имеет зависимость от объема травмированной ткани [12, 19]. Мы наблюдали активацию резорбции костной ткани в течение первых двух недель после операции как у кроликов, оперированных без имплантации, так и при аугментации резорбируемыми и нерезорбируемыми материалами, однако динамика данного процесса была различна. При имплантации β-ТКФ и ПТА интенсивная резорбция кости у экспериментальных животных начиналась

раньше, чем у контрольных животных, что отражает, по-видимому, нормальный процесс ремоделирования при аугментации данными остеопластическими материалами. В случае применения РКМ удлинение срока выделения в кровь С-КТ связано, по-видимому, с влиянием деградации коллагенового компонента самого имплантата. Высокий уровень деградации кости в течение длительного периода времени при аугментации с применением углеродного имплантата, очевидно, обусловлен высокой интенсивностью и длительностью воспалительной реакции, которая была обнаружена у данной группы экспериментальных животных в послеоперационном периоде, поскольку известно, что воспаление стимулирует процесс резорбции кости [13].

Остеокальцин относится к неколлагеновым белкам, экспрессируется в процессе формирования кости и контролирует массу, размер, ориентацию минерального компонента, участвует в организации внеклеточного матрикса [20]. Ранее показано большое разнообразие в динамике ОК после повреждения костной ткани [17], что справедливо и в отношении замещения дефектов кости различными остеопластическими материалами. Наиболее выраженное и длительное, превышающее контрольные значения, повышение концентрации данного маркера остеогенеза наблюдали при использовании β -ТКФ, что может служить свидетельством эффективности регенераторного процесса. В то же время, невысокий уровень ОК в случае использования УНИ может свидетельствовать о недостаточной успешности восстановления костной ткани. Объяснением раннего послеоперационного подъема уровня ОК на фоне применения ксеноматериала может служить инкорпорированность данного белка в костный матрикс [21], что обуславливает возможность его раннего высвобождения в группе РКМ. Невысокие значения концентрации ОК

в последующих временных точках проведенного исследования при использовании РКМ могут объясняться недостаточной активностью остеогенеза.

Костный изофермент щелочной фосфатазы – тетрамерный гликопротеин, найденный на цитоплазматической мембране остеобластов и обладающий способностью производить внеклеточный неорганический фосфор. Уровень КЩФ считается ассоциированным с уровнем формирования кости [22]. Ранее проведенное исследование по моделированию перелома диафиза бедренной кости у экспериментальных животных показало повышение экспрессии информационной РНК КЩФ в период с 10 по 14 сутки. Клинические исследования обнаружили значительное повышение концентрации данного маркера в крови во 2-4 недели после травмы [14, 23], причем уровень маркера может оставаться повышенным даже после консолидации перелома [24, 25]. В то же время, нарушение репаративного остеогенеза после травмы приводит к менее выраженному и/или более позднему подъему концентрации КЩФ в крови по сравнению с нормальным костеобразованием [26]. В нашем исследовании аугментация остеопластическими материалами приводила к более раннему и более выраженному подъему КЩФ в крови по сравнению с хирургическим вмешательством без аугментации, что может свидетельствовать о более эффективном регенераторном процессе. Воспалительная реакция оказывает существенное негативное влияние на ремоделирование костной ткани [21]. В частности, высокая послеоперационная интенсивность воспалительной реакции ингибирует экспрессию КЩФ [27]. По-видимому, именно высокая активность воспалительного процесса объясняет повышенный уровень маркеров резорбции и сниженный уровень маркеров остеогенеза при аугментации костных дефектов углеродными наноструктурными имплантатами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На модели импрессионного перелома проксимального отдела большеберцовой кости кроликов установлено, что при замещении костного дефекта как резорбируемым β -ТКФ, так и нерезорбируемым ПТА сочетание высокого уровня маркеров остеогенеза и низкой концентрации маркера остеокластической резорбции свидетельствует об активном течении репаративной регенерации костной ткани и эффективной интеграции остеопластического материала в область импрессионного костного дефекта. Учитывая полученные данные, пористый титановый имплантат, полученный на основе технологии аддитивной 3D-печати, представляется пер-

спективным аугментом для замещения импрессионных дефектов при внутрисуставных переломах. Использование ксенопластического материала, аугментированного в костный интерфейс, не выявило преимуществ в сравнении с хирургическим вмешательством, проведенным без аугментации. Углеродный наноструктурный имплантат не обладал индуцирующими остеогенез свойствами, но его аугментация приводила к усилению процессов остеокластической резорбции. Можно предположить, что использование УНИ в лечении внутрисуставных переломов может привести к дефекту интеграции аугмента и кости и ухудшению результатов лечения.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

Источник финансирования. Исследования проведены в рамках реализации государственного задания на осуществление научных исследований и разработок, отдел травматологии и ортопедии ЦНИЛ ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России; при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, субсидия на реализацию комплексных проектов по созданию высокотехнологичного производства в рамках реализации постановления Правительства Российской Федерации от 9 апреля 2010 года № 218, очередь 8 по теме “Создание высокотехнологичного цифрового производства прецизионных металлических комплексов для имплантации на базе аддитивных технологий”, номер соглашения 03.G25.31.0234 от 03.03.2017г.

Соответствие принципам этики. Все манипуляции с животными проводили в соответствии с «Методическими рекомендациями по содержанию лабораторных животных в вивариях научно-исследовательских институтов и учебных заведений» РД-АПК 3.10.07.02-09 и Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях. Дизайн исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гилев М.В. Хирургическое лечение внутрисуставных импрессионных переломов дистального отдела лучевой кости // Гений ортопедии. 2018. Т. 24, № 2. С. 134-141. DOI: 10.18019/1028-4427-2018-24-2-134-141.
2. Bone grafts for reconstruction of bone defects (Review) / L. Karalashvili, A. Kakabadze, M. Uhryn, H. Vyshnevskaya, K. Ediberidze, Z. Kakabadze // Georgian Med. News. 2018. No 282. P. 44-49.
3. Autologous bone graft in the treatment of post-traumatic bone defects: a systematic review and meta-analysis / M.L. Azi, A. Aprato, I. Santi, M. Kfuri Jr., A. Masse, A. Joeris // BMC Musculoskelet Disord. 2016. Vol. 17, No 1. P. 465. DOI: 10.1186/s12891-016-1312-4.
4. Шумилова А.А., Шишайкина Е.И. Материалы для восстановления костной ткани // Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Биология. 2014. Т. 7, № 2. С. 209-221.
5. Roberts T.T., Rosenbaum A.J. Bone grafts, bone substitutes and orthobiologics: the bridge between basic science and clinical advancements in fracture healing // Organogenesis. 2012. Vol. 8, No 4. P. 114-24. DOI: 10.4161/org.23306.
6. Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions / A. Oryan, S. Alidadi, A. Moshiri, N. Maffulli // J. Orthop. Surg. Res. 2014. Vol. 9, No 1. P. 18. DOI: 10.1186/1749-799X-9-18.
7. In vitro оценка антимикробной активности модифицированных костных ксеноматериалов / М.С. Стогов, Д.В. Смоленцев, З.С. Науменко, Н.В. Годовых, М.В. Гулин, Е.А. Киреева, А.Е. Лукьянов, О.В. Дюрягина, Н.В. Тушина // Гений ортопедии. 2019. Т. 25, № 2. С. 226-231. DOI: 10.18019/1028-4427-2019-25-2-226-231.
8. Basic research and clinical application of beta-tricalcium phosphate (β -TCP) / T. Tanaka, H. Komaki, M. Chazono, S. Kitasato, A. Kakuta, S. Akiyama, K. Marumo // Morphologie. 2017. Vol. 101, No 334. P. 164-172. DOI: 10.1016/j.morpho.2017.03.002.
9. Kaur M., Singh K. Review on titanium and titanium based alloys as biomaterials for orthopaedic applications // Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl. 2019. Vol. 102. P. 844-862. DOI: 10.1016/j.msec.2019.04.064.
10. Improved bioactivity of selective laser melting titanium: Surface modification with micro-/nano-textured hierarchical topography and bone regeneration performance evaluation / J.Y. Xu, X.S. Chen, C.Y. Zhang, Y. Liu, J. Wang, F.L. Deng // Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl. 2016. Vol. 1, No 68. P. 229-240. DOI: 10.1016/j.msec.2016.05.096.
11. Carbon nanotube-based bioceramic grafts for electrotherapy of bone / D. Mata, A.L. Horowitz, I. Branco, M. Ferro, N.M. Ferreira, M. Belmonte, M.A. Lopes, R.F. Silva, F.J. Oliveira // Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl. 2014. Vol. 34. P. 360-368. DOI: 10.1016/j.msec.2013.09.028.
12. Побел Е.А., Бенгус Л.М., Делух Н.В. Маркеры костного метаболизма при сращении переломов длинных костей // Остеопороз и остеопатия. 2012. № 2. С. 25-32.
13. Bone-turnover markers in fracture healing / G. Cox, T.A. Einhorn, C. Tzioupis, P.V. Giannoudis // J. Bone Joint Surg. Br. 2010. Vol. 92, No 3. P. 329-334. DOI: 10.1302/0301-620X.92B3.22787.
14. Changes in bone mass and bone turnover following distal forearm fracture / B.M. Ingle, S.M. Hay, H.M. Bottjer, R. Eastell // Osteoporos. Int. 1999. Vol. 10, No 5. P. 399-407. DOI: 10.1007/s001980050246.
15. Способ моделирования внутрисуставного импрессионного перелома проксимального отдела большеберцовой кости : пат. 2669047 Рос. Федерация : МПК А 61В 17/00 / Гилев М.В., Измоленова М.Ю., Борисов С.А., Липатов С.Г., Кошелев В.С., Волокитина Е.А., Казакова Я.Е., Антониадис Ю.В., Кутепов С.М. № 201713692 ; заявл. 19.10.2017 ; опубл. 10.05.2018, Бул. 28.
16. Kinetic of bone turnover markers after osteoporotic vertebral compression fractures in postmenopausal female / C. Pan, X. Liu, T. Li, G. Wang, J. Sun // J. Orthop. Surg. Res. 2018. Vol. 13, No 1. P. 314. DOI: 10.1186/s13018-018-1025-5.
17. Bone turnover markers for early detection of fracture healing disturbances: A review of the scientific literature / C.P. Sousa, I.R. Dias, M. Lopez-Peña, J.A. Camassa, P.J. Lourenço, F.M. Judas, M.E. Gomes, R.L. Reis // An. Acad. Bras. Cienc. 2015. Vol. 87, No 2. P. 1049-1061. DOI: 10.1590/0001-3765201520150008.
18. Comparison of biochemical markers of bone turnover and bone mineral density between hip fracture and vertebral fracture / M. Takahashi, K. Naitou, T. Ohishi, A. Nagano // J. Clin. Densitom. 2003. Vol. 6, No 3. P. 211-218. DOI: 10.1385/jcd.6.3.211.
19. Changes in bone mass and bone turnover following tibial shaft fracture / S.W. Veitch, S.C. Findlay, A.J. Hamer, A. Blumsohn, R. Eastell, B.M. Ingle // Osteoporos. Int. 2006. Vol. 17, No 3. P. 364-372. DOI: 10.1007/s00198-005-2025-y.
20. Osteocalcin and osteopontin influence bone morphology and mechanical properties / S. Bailey, G. Karsenty, C. Gundberg, D. Vashishth // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2017. Vol. 1409, No 1. P. 79-84. DOI: 10.1111/nyas.13470.
21. Changes in biochemical markers after lower limb fractures / K. Stoffel, H. Engler, M. Kuster, W. Riesen // Clin. Chem. 2007. Vol. 53, No 1. P. 131-134. DOI: 10.1373/clinchem.2006.076976.
22. Epstein S. Serum and urinary markers of bone remodeling: assessment of bone turnover // Endocr. Rev. 1988. Vol. 9, No 4. P. 437-449. DOI: 10.1210/edrv-9-4-437.
23. Changes in bone mass and bone turnover following ankle fracture / B.M. Ingle, S.M. Hay, H.M. Bottjer, R. Eastell // Osteoporos. Int. 1999. Vol. 10, No 5. P. 408-415. DOI: 10.1007/s001980050247.
24. Biochemical markers of bone turnover are influenced by recently sustained fracture / K.J. Obrant, K.K. Ivaska, P. Gerdhem, S.L. Alatalo, K. Pettersson, H.K. Väänänen // Bone. 2005. Vol. 36, No 5. P. 786-792. DOI: 10.1016/j.bone.2005.02.009.
25. Serum and urine markers of bone metabolism during the year after hip fracture / J.A. Yu-Yahiro, R.H. Michael, N.H. Dubin, K.M. Fox, M. Sachs, W.G. Hawkes, J.R. Hebel, S.I. Zimmerman, J. Shapiro, J. Magaziner // J. Am. Geriatr. Soc. 2001. Vol. 49, No 7. P. 877-883. DOI: 10.1046/j.1532-5415.2001.49177.x.
26. Different kinetics of bone markers in normal and delayed fracture healing of long bones / M. Herrmann, D. Klitscher, T. Georg, J. Frank, I. Marzi, W. Herrmann // Clin. Chem. 2002. Vol. 48, No 12. P. 2263-2266.
27. Molecular analysis of defect healing in rat diaphyseal bone / S. Chiba, K. Okada, K. Lee, G.V. Segre, R.M. Neer // J. Vet. Med. Sci. 2001. Vol. 63, No 6. P. 603-608. DOI: 10.1292/jvms.63.60.

Рукопись поступила 30.01.2020

Сведения об авторах:

1. Гилев Михаил Васильевич, д. м. н., доцент, ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, г. Екатеринбург, Россия, ИВТЭ УрО РАН, Екатеринбург, Россия, Email: gilevmikhail@gmail.com
2. Волокитина Елена Александровна, д. м. н., доцент, ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, г. Екатеринбург, Россия, Email: volokitina_elena@rambler.ru
3. Антропова Ирина Петровна, д. б. н., ЦНИЛ, ОУ ВО УГМУ Минздрава России, г. Екатеринбург, Россия, Email: aip.hemolab@mail.ru
4. Базарный Владимир Викторович, д. м. н., профессор, ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, г. Екатеринбург, Россия, Email: kafedrakld@yandex.ru
5. Кутепов Сергей Михайлович, д. м. н., профессор, чл.-корр. РАН, ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, г. Екатеринбург, Россия, Email: usma@usma.ru

Information about the authors:

1. Mikhail V. Gilev, M.D., Ph.D., Associate Professor, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation, Institute of High Temperature Electrochemistry of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation, Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, Ekaterinburg, Russian Federation, Email: gilevmikhail@gmail.com
2. Elena A. Volokitina, M.D., Ph.D., Associate Professor, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation, Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, Ekaterinburg, Russian Federation, Email: volokitina_elena@rambler.ru
3. Irina P. Antropova, Ph.D., Ph.D. of Biological Sciences, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation, Institute of High Temperature Electrochemistry of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation, Email: aip.hemolab@mail.ru
4. Vladimir V. Bazarny, M.D., Ph.D., Professor, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation, Email: kafedrakld@yandex.ru
5. Sergey M. Kutepov, M.D., Ph.D., Professor, Corresponding Member of RA Sciences, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation, Email: usma@usma.ru