

МАРКЕРЫ КОСТНОГО МЕТАБОЛИЗМА ПРИ СРАЩЕНИИ ПЕРЕЛОМОВ ДЛИННЫХ КОСТЕЙ

Е.А. ПОБЕЛ¹, Л.М. БЕНГУС², Н.В. ДЕДУХ^{3*}

¹ Государственное учреждение «Запорожская медицинская академия последипломного образования», ассистент кафедры травматологии и ортопедии, канд. мед. наук;

² Государственное учреждение «Институт патологии позвоночника и суставов им. проф. М.И. Ситенко АМН Украины», ведущий научн. сотрудник лаборатории морфологии соединительной ткани, канд. биол. наук;

³ Государственное учреждение «Институт патологии позвоночника и суставов им. проф. М.И. Ситенко АМН Украины», заведующая лабораторией морфологии соединительной ткани, профессор.

В обзоре представлены современные данные о возможности использования маркеров костного метаболизма в прогнозировании характера заживления перелома. Дана оценка содержания в крови маркеров костного метаболизма у пациентов с нормальной и замедленной консолидацией отломков. Показано наличие взаимосвязи между областью перелома, стадийно-временными особенностями его заживления и экскрецией макромолекул, отражающих костный метаболизм. Повышение костного обмена, наблюдающееся после перелома, характеризуется активацией экспрессии маркеров костной резорбции, с последующим увеличением концентрации в крови маркеров формирования кости. Однако отмечена вариабельность данных по содержанию костных маркеров в плазме крови на этапах заживления перелома. Показано, что у пациентов с замедленным заживлением перелома имеется значительная задержка в повышении уровня остеокальцина. В прогностическом плане для определения несращения перелома предпочтительным является изучение содержания N-терминального пропептида проколлагена I типа. Определение маркеров костного метаболизма крови может служить информативным критерием оценки течения репаративного остеогенеза, однако необходимо учитывать характер травматического повреждения, сроки после травмы, особенности состояния костной ткани на момент травмы, возраст пациента для выявления начальных этапов нарушения консолидации.

Список сокращений

и-РНК — информационная рибонуклеиновая кислота

КЩФ — костный изофермент щелочной фосфатазы

ОК — остеокальцин

ПТГ — паратиреоидный гормон

ТрКФ — тартрат-резистентная кислая фосфатаза

PINP — N-терминальный пропептид проколлагена

I типа

PICP — C-терминальный пропептид проколлагена

I типа

ICTP — поперечно-связанный телопептид коллагена

I типа

СТР — поперечно-связанный С-телопептид коллагена I типа

NTP — N-терминальный телопептид коллагена I типа

PIINP — N-терминальный пропептид проколлагена III типа

PYD — пиридинолин

DPD — деоксипиридинолин

RANK — рецептор, активирующий ядерный фактор каппа-бета

RANKL — RANK-лиганд



ВВЕДЕНИЕ

Определение уровня маркеров костного метаболизма в биологических жидкостях используют как дополнительный метод исследования при диагностике и лечении пациентов с метаболическими заболеваниями костей. В настоящее время наиболее детально исследованы следующие маркеры [1, 2, 3]:

1. Маркеры костного формирования, отражающие активность остеобластов (костный изофермент щелочной фосфатазы (КЩФ), остеокальцин) и продукты биосинтеза проколлагена III и I типов (N-терминальный пропептид проколлагена III типа (PIINP), N-терминальный пропептид проколлагена I типа (PINP) и C-терминальный пропептид проколлагена I типа (PICP).

2. Маркеры костной резорбции, отражающие активность остеокластов (остеокласт-регулирующие белки — тартрат-резистентная кислая фосфатаза — ТрКФ) и свободные продукты распада коллагена I типа (содержание в сыворотке крови и моче поперечно-связанного телопептида коллагена I типа (ICTP), N-терминального телопептида коллагена I типа (NTP), поперечно-связанного С-телопептида коллагена I типа (СТР), пиридинолина (PYD) и деоксипиридинолина (DPD)).

Существуют и другие маркеры, отражающие резорбцию кости: катепсин К сыворотки крови; рецепторы, активирующие ядерный фактор каппа (RANK); RANK-лиганд (RANKL) и др. [4], однако их применяют для диагностики значительно реже, чем выше охарактеризованные маркеры.

В клинической практике использование маркеров костного метаболизма важно для понимания патогенеза остеопороза, остеомалации, несовершенного остеогенеза и

других метаболических остеопатий, а также для выбора оптимальной тактики лечения и прогнозирования риска переломов. Используемые маркеры являются молекулярными компонентами кортикальной и губчатой костей, которые отражают метаболическую активность скелета в целом. При измерении маркеров костного метаболизма можно неинвазивно оценить количественные изменения органического обмена в костной ткани.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

На основе данных литературы проанализировать роль маркеров костного метаболизма в прогнозировании характера заживления перелома.

Поиск научной литературы проведен на сайтах www.google.com, в поисковых системах PubMed home, PubMed Central, Google Scholar и базируется на данных таких периодических изданий: J. Bone Joint Surgery, J. Orthop. Trauma, J. Trauma, Injury, Journal of Orthopaedic Science, Calcified Tissue International, Clinical Orthopaedics & Related Research, Clin. Orthop., Bone, Journal of Bone and Mineral Metabolism, Bone Miner., J. Bone Miner. Res., Osteoporosis International, Biochem. J., Clinical Chemistry, Endocrinology.

Ниже представлены маркеры костного метаболизма, определение которых в биологических жидкостях широко применяется в настоящее время.

Маркеры костного формирования

Костный изофермент щелочной фосфатазы (КЩФ, остаза, BAP — bone alkaline phosphatase, bone ALP) пред-

* e-mail: dedukh_ninel@ukr.net

ставляет собой тетрамерный гликопротеин, обнаруженный на цитоплазматической мембране остеобластов, способный генерировать внеклеточный неорганический фосфат. Считается, что концентрация КЩФ в сыворотке крови отражает состояние метаболизма остеобластов [5], при этом ее содержание коррелирует с уровнем формирования кости. КЩФ является перспективной для диагностики и лечения метаболических заболеваний кости с высоким уровнем костного обмена. Точная оценка костного метаболизма важна для определения тяжести метаболических заболеваний кости и ее ответа на проведенную терапию. Измерение уровня КЩФ показано при болезни Педжета, остеомалации, первичном гиперпаратиреозе, почечной остеодистрофии, остеопорозе и метастазах кости [6].

При остеопорозе определение КЩФ эффективно в качестве предиктора быстрой потери костной массы без необходимости выполнения биопсии кости. Этот маркер позволяет проводить не только раннюю диагностику, но и выбор соответствующей терапии остеопороза на основе использования специфических ингибиторов высокого темпа костного обмена, таких как эстрогены, кальцитонин или бисфосфонаты. При остеопорозе с низким темпом обмена определение КЩФ позволяет проводить оценку функциональной активности остеобластов на терапию анаболическими стероидами, ПТГ и др.

Остеокальцин — (ОК, костный глутаминовый белок — ВGP) наиболее обильный неколлагеновый белок кости, который участвует в процессе связывания кальция и гидроксипапатита с коллагеном, способствуя организации внеклеточного матрикса. ОК, экспрессируемый в основном во время фазы формирования кости, принимает участие в процессе минерализации остеоида. Хотя ОК известен уже более 20 лет, его точная функция не установлена. ОК — специфический маркер функции остеобластов и чувствительный маркер ремоделирования костной ткани. Его концентрация в крови отражает метаболическую активность остеобластов, которая связана с темпами формирования кости. Однако в связи с тем, что ОК поступает в кровь не только во время формирования кости, но и будучи инкорпорированным в костный матрикс высвобождается при активизации костной резорбции, он не является абсолютным маркером костеобразования [7, 8].

Высокий уровень ОК в крови свидетельствует о повышенных темпах ремоделирования кости. Это показатель уровня костного обмена в целом, а также возможный прогностический индикатор прогрессирования костных заболеваний. ОК является витамин К-зависимым белком. Прямое влияние на его биосинтез оказывают кальций-регулирующие гормоны — кальцитонин, паратиреоидный гормон (ПТГ) и витамин D. Высокий уровень ПТГ в крови оказывает ингибирующее действие на активность остеобластов, продуцирующих ОК, и снижает его содержание в костной ткани и крови. У молодых лиц более 90% ОК, синтезируемого остеобластами, включается в костный матрикс, у взрослых людей этот показатель составляет около 70%, остальная часть ОК попадает в кровоток. Молекула ОК подвергается быстрой деградации в циркулирующей крови, распадается на различные по размерам фрагменты [9], что значительно ограничивает его применение как специфического маркера. Эта доля ОК может меняться в зависимости от характера метаболических нарушений кости. Концентрация ОК в сыворотке зависит от двигательной активности человека, уровня витамина D в крови, а также от функционального состояния почек [10]. ОК подвержен значительным суточным колебаниям, в связи с этим забор крови для анализа должен быть строго контролируем, что особенно важно при оценке динамики ремоделирования. Но в целом измерение содержания ОК в сыворотке крови позволяет проводить мониторинг костного метаболизма, определять риск развития остеопороза у женщин, а также оценить эффективность медикаментозной терапии остеопороза.

роза у женщин, а также оценить эффективность медикаментозной терапии остеопороза.

Пропептиды проколлагена I типа — это производные коллагена I типа, характерного для костной ткани. Коллаген I типа синтезируется остеобластами в виде проколлагена. Эта молекула-предшественник характеризуется наличием коротких концевых фрагментов: амино (N-) терминальный пропептид (PINP) и карбокси (C-) терминальный пропептид (PICP). PICP стабилизирован дисульфидными связями, в то время как PINP богат пролином и гидроксипролином. PINP — это частично фосфорилированный пептид коллагена с молекулярной массой 35 кД [11].

После поступления в экстрацеллюлярное пространство эти глобулярные тримерные пропептиды подвергаются ферментативному гидролизу и поступают в кровоток. Пропептиды PICP и PINP, стехиометрически образовавшиеся из молекулы проколлагена, используют для количественной оценки биосинтеза коллагена I типа.

Кость является главным поставщиком пропептидов коллагена I типа в циркулирующий пул этих метаболитов. Представлены доказательства надежности и специфичности PICP как маркера формирования губчатой кости при метаболических заболеваниях скелета (первичный гиперпаратиреоз, тиреотоксикоз), кроме того, выявлена корреляция между концентрацией PICP в сыворотке крови и данными динамической костной гистоморфометрии [12]. Было показано наличие корреляции между уровнем PICP в сыворотке и темпами костеобразования [12, 13]. Однако при оценке коррелятивных связей между содержанием PICP и PINP такая зависимость была выявлена только у детей, а у взрослых людей — отсутствовала [14].

Содержание PINP в сыворотке крови имеет большую диагностическую значимость, чем PICP [15]. Концентрация PINP в сыворотке крови прямо пропорциональна количеству новообразованного коллагена, продуцированного остеобластами [14]. Уровень концентрации PINP в сыворотке крови при нарушении темпов костного формирования является более достоверным, чем КЩФ или ОК [16, 17]. Поскольку PINP высвобождаются главным образом в процессе формирования кости, эти пропептиды являются более специфичными для данного процесса, чем остеокальцин [7]. В отличие от остеокальцина уровень PINP не зависит от физической активности индивидуума [18]. В настоящее время PINP предложено использовать для диагностики остеопороза и мониторинга костного метаболизма при терапии остеопороза [16, 19—21], для мониторинга болезни Педжета и в качестве маркера костных метастазов [22, 23].

Маркеры костной резорбции

Поперечно-связанные телопептиды являются производными специфических концевых регионов молекулы коллагена I типа, которые называются аминокислотными терминальными (NTP) и карбокси-терминальными (CTP) телопептидами. Карбокси-терминальные телопептиды коллагена I типа, кроме аббревиатуры CTP, имеют в англоязычной литературе сокращенное название — CTX, а аминокислотные терминальные — NTX. При таких заболеваниях, как остеопороз, остеомалация, несовершенный остеогенез и других патологических состояниях, сопровождающихся активизацией костной резорбции, происходит деградация коллагена I типа, что приводит к повышению в биологических жидкостях (крови и моче) концентрации NTP и CTP.

В настоящее время применяются методы радиоиммунологической оценки моноклональных антител четырех изомеров молекулы CTP в сыворотке крови: нативная α -L форма, β -изомерный пептид (β -L), а также α - и β - D-изомеры. Дифференцированное использование этих методов оценки дает информацию о возрастных изменениях метаболизма коллагена I типа у здоровых людей, а также у пациентов с

заболеваниями соединительной ткани [24]. Измерение поперечно-связанного NTP базируется на оценке моноклональных антител к антигенной детерминанте α -2 цепи коллагена I типа [25]. Имеется положительная корреляция между данными СТР и NTP.

Наши знания, касающиеся биохимии костного матрикса, которые в основном базируются на изучении посттрансляционных модификаций коллагена I типа, в настоящее время расширяются, что находит отражение в изучении новых биохимических маркеров, характеризующих изменения макромолекулярного состава кости — важной детерминанты ее прочности. Так, изучение отношения (в моче) нативного СТР (α -СТР) к его изомерной форме — β -СТР, показало, что этот индекс может характеризовать зрелость костного матрикса, что дает возможность прогнозировать риск перелома при остеопорозе независимо от показателя минеральной плотности кости и особенностей костного обмена (высокий или низкий темп костной резорбции) [26]. Это отношение повышено в моче у пациентов с болезнью Педжета, где имеют место быстрые темпы костеобразования и костной резорбции, что приводит к повышению уровня нативной формы α -СТР [27].

Пиридинолин (PYD) и деоксипиридинолин (DPD) представляют собой гидроксипиридиновые сшивки коллагена. PYD и DPD формируются в период экстрацеллюлярного созревания коллагена. Эти участки связывают отдельные пептиды коллагена и способствуют механической стабилизации молекулы коллагена [28, 29]. Во время костной резорбции поперечные связи коллагена разрываются, и их компоненты высвобождаются в кровь и мочу [30, 31]. Уровень гидроксипиридиновых сшивок в биологических жидкостях не связан с деградацией новообразованного коллагена и четко отражает деградацию лишь зрелого коллагена. Кроме того, уровень PYD и DPD не зависит от особенностей питания [32]. Оба гидроксипиридиновых компонента являются высокоспецифичными участками для скелетных тканей. Пиридинолин обнаружен в хряще, кости, связках и сосудах, в то время как деоксипиридинолин присутствует практически только в кости и дентине. Поскольку уровень метаболизма костной ткани намного выше такового в хряще, связках, сосудах или сухожилиях, PYD и DPD в сыворотке или моче имеют главным образом скелетное происхождение. Таким образом, пиридиновые сшивки коллагена являются наиболее подходящими маркерами для оценки костной резорбции [33].

Тартрат-резистентная кислая фосфатаза (ТрКФ, TRAP, TRAcP). Этот фермент принадлежит к семейству кислых фосфатаз. Суммарное измерение ТрКФ в крови производят колориметрическим методом. В настоящее время известно как минимум 5 различных изоформ этого фермента. Данные изоформы экспрессируются различными тканями (простата, кость, селезенка) и клетками (тромбоциты, эритроциты и макрофаги). Все изоформы кислой фосфатазы ингибируются L(+)-тартратом, за исключением изофермента-5, получившего название тартрат-резистентная кислая фосфатаза. Позже были открыты две изоформы ТрКФ — 5 α и 5 β . Эти две изоформы ТрКФ отличаются по структуре: изоформа-5 α содержит сиаловую кислоту, в то время как изоформа-5 β ее не содержит. Происхождение ТрКФ-5 α неизвестно, возможно, она экспрессируется макрофагами. Изоформа ТрКФ-5 β отражает активность остеокластов и может быть использована в качестве маркера этих клеток [34, 35].

Для уточнения взаимосвязи между содержанием маркеров костного обмена в костной ткани и сыворотке крови пациентов с заболеваниями менисков радиоиммунологическим методом проводили измерение и последующее сравнение концентрации следующих маркеров (КЩФ, ОК и метаболиты коллагена I типа — PINP и СТР) [36]. Для оценки содержания маркеров костного обмена использовали био-

паты губчатой кости дистального отдела бедра пациентов после артроскопии. Отношение кость/сыворотка составило 1,1 — для КЩФ и 1,2 — для ОК. Концентрация метаболитов коллагена I типа в костной ткани была достоверно выше, чем в сыворотке крови (2,2 — для СТР и 2,3 — для PINP). Представленные данные свидетельствуют о том, что содержание КЩФ и остеокальцина в костной ткани и сыворотке крови практически идентично, в то время как концентрация метаболитов коллагена I типа в кости выше, чем в сыворотке крови, более чем в 2 раза.

Маркеры костного ремоделирования при регенерации кости

Процесс ремоделирования кости после перелома, а также стадия формирования регенерата характеризуются изменением в крови концентрации маркеров костного метаболизма. В настоящее время вопрос о взаимосвязи между областью перелома, стадийно-временными особенностями его заживления и экскрецией макромолекул, отражающих костный метаболизм, находится на стадии активного изучения. В связи с быстрым накоплением новых знаний в области макромолекулярной организации костного матрикса делаются попытки использовать маркеры костного метаболизма для интерпретации и характеристики различных стадий заживления перелома [1].

Увеличение скорости костного обмена, наблюдающееся после перелома, характеризуется экспрессией маркеров костной резорбции, что в последующем сопровождается повышением в крови уровня маркеров костного формирования [2]. Это связано с факторами, активизирующими процесс резорбции после перелома, такими как воспалительный процесс, а также иммобилизация. В свою очередь, механическая нагрузка на кость стимулирует процесс костного формирования [37].

В эксперименте на крысах при оценке сращения костных отломков диафиза бедренной кости в период с 10 по 14 день после травмы в области регенерата в клетках фиброретикулярной ткани и в остеообластах, располагающихся в краевых отделах новообразованных костных трабекул, наблюдалась повышенная экспрессия и-РНК КЩФ и коллагена I типа. В период фазы воспаления экспрессия и-РНК КЩФ в области гематомы не обнаружена [38].

Следует отметить, что при изучении влияния перелома на содержание маркеров необходимо учитывать исходное состояние костной ткани пациентов, наличие или отсутствие у них метаболических остеопатий, в том числе остеопороза и остеопении, а также факторов, нарушающих репаративный остеогенез. На сегодняшний день проводятся лишь единичные рандомизированные плацебо-контролируемые исследования, направленные на выявление взаимосвязи травматического повреждения костей и содержания биохимических маркеров костного метаболизма. Основная масса исследований включает небольшое количество пациентов.

Для выяснения, имеются ли нарушения содержания костных маркеров непосредственно после перелома по сравнению с таковым до перелома, К. К. Ivaska и соавт. [39] было проведено проспективное лонгитудинальное исследование 85 пожилых женщин (75-летнего возраста) с низкоэнергетическими переломами (30 — с переломами бедра, 27 — запястья, 4 — с переломами тел позвонков, 10 — верхних конечностей (не запястья), 8 — с переломами нижней конечности, 2 — ребер, 2 — ключицы и 2 — таза). Кроме того, проводили оценку влияния перелома на костный метаболизм путем измерения костных маркеров в течение 4 мес и спустя год после перелома (т. е. после его консолидации). 28 женщин с низкоэнергетической травмой, но без перелома служили контролем. Проводили измерение следующих маркеров костного метаболизма: ТрКФ5 β , СТР, PINP и ОК в сыворотке крови, а также DPD и остеокальцина в моче.

В течение 1 суток после перелома у всех пациентов не имелось значительных отличий уровня сывороточного ОК, ТрКФ5 β , СТР и DPD (в моче). Поскольку группа пациенток с переломами была гетерогенна, авторы в дальнейшем дополнительно анализировали две наиболее многочисленные группы (с переломами бедра и запястья). При сравнении этих групп непосредственно после перелома (1-е сутки) было выявлено значительное повышение остеокальцина мочи только у больных с переломами бедра (до перелома — 1,38 — г/ммоль; после — 2,58 г/ммоль; $p=0,008$). В отличие от 1 суток, через 4 мес после перелома маркеры костного формирования (ОК и PINP), так же как и маркеры костной резорбции (ТрКФ5 β , СТР и DPD) были достоверно повышены во всех изученных группах ($p<0,001$). В контрольной группе не было обнаружено изменений содержания костных маркеров. При сравнении на этот срок (4 мес после травмы) пациенток с переломами бедра и запястья было выявлено более выраженное повышение костных маркеров в группе с переломами бедра. При этом в сыворотке крови ОК повышался на 67% ($p=0,002$), PINP на 51% ($p=0,004$), ТрКФ5 β — на 19% ($p=0,004$), а ОК в моче — на 60% ($p=0,008$).

Таким образом, результаты рандомизированного плацебо-контролируемого исследования [39] показали, что содержание костных маркеров непосредственно после перелома (через 1 сутки) достоверно не отличалось от такового до перелома. Через 4 мес после перелома (в начальный период его заживления и дальнейшего формирования регенерата) большинство костных маркеров были достоверно повышены. Через 1 год после перелома нормализации показателей костных маркеров не наступило.

Л. М. Hoesel и соавт. [40] обнаружили, что у пациентов с черепно-лицевыми переломами имелось повышенное содержание маркера костной резорбции — NTP по сравнению с больными с переломами шейки бедра как до, так и после операции. Такая же закономерность наблюдалась и при сравнении экспрессии костных маркеров у пациентов с переломами бедра и с переломами дистального отдела предплечья. Эти данные подтверждают, что при разных типах переломов и различной их локализации показатели костных маркеров отличаются, при этом у пациентов с большей площадью переломов были более высокие уровни маркеров костной резорбции.

У пациентов с закрытыми переломами дистального отдела большеберцовой кости и переломами лодыжки был исследован уровень костных маркеров в сыворотке крови через 24 часа после перелома, непосредственно после остеосинтеза пластинами, а также через 1, 3, 7 дней и через 2, 6, 12 и 24 недели после перелома [41]. В группе пациентов с переломами лодыжки различий в уровнях КЩФ, PICP, ТрКФ и PИINP в сыворотке крови, полученной непосредственно после травмы, не наблюдалось, в то время как остеокальцин и ICTP были повышены на все изученные сроки после остеосинтеза. Маркер фиброзной ткани — PИINP был повышен после остеосинтеза, достигая максимальной концентрации через 2 недели в группе пациентов с переломами лодыжки и спустя 12 недель — в группе пациентов с переломом большеберцовой кости. Нормализация PИINP предшествовала рентгенологическому доказательству сращения отломков, которое имело место через 6 недель после перелома лодыжки и составляло 12—24 недели при переломе большеберцовой кости. Устойчивая высокая концентрация PИINP в группе пациентов с переломом большеберцовой кости может быть вызвана большой площадью губчатой кости и необходимостью адекватного формирования регенерата с целью стабилизации перелома. После остеосинтеза в обеих группах выявлено повышение концентрации ТрКФ5 β , достигающее максимума через 7 дней в группе с переломами лодыжки и через 2 недели — в группе с дистальными переломами большеберцовой кости. При исследовании

ICTP первый «пик» повышения отмечался на 3-й день после остеосинтеза в группе с переломами лодыжки, а в группе пациентов с переломами большеберцовой кости — на 3–7-й день. Второй «пик» наблюдался через 6 недель в обеих группах. Выраженное повышение активности ТрКФ5 β и концентрации ICTP в группе с переломами большеберцовой кости, по-видимому, отражает большую площадь перелома у этих пациентов и, соответственно, сопровождается активацией костного ремоделирования.

Самые низкие концентрации КЩФ и PICP наблюдались на 3-й день после остеосинтеза (стадия воспаления), впоследствии средние значения этих маркеров были достоверно повышены в обеих группах. Максимальная концентрация этих показателей отмечалась в группе с переломом большеберцовой кости по сравнению с группой пациентов с переломами лодыжек.

У всех пациентов непосредственно после перелома выявлялось повышение уровня остеокальцина. Поскольку большая часть этого белка инкорпорирована в костный матрикс [41], повышение этого показателя может отражать его высвобождение на фоне перелома и в начальной стадии костной резорбции (1—5-й день после перелома) [41, 43, 44]. Уровень остеокальцина стабилизировался на 14-й день после остеосинтеза в группе с переломами лодыжки, а в группе с переломами голени он продолжал повышаться. ОК достигал первого «пика» на 12-й день после остеосинтеза, затем до 42-го дня наблюдался период плато с дальнейшим постепенным повышением этого показателя и достижением второго пика на 88-й день.

В группе пациентов с переломами большеберцовой кости уровни PICP и остеокальцина на 3, 14-й день и через 12 недель были достоверно выше по сравнению с пациентами с переломами лодыжки. Вероятно, эти различия также можно связать с разной площадью травмированной кости [41]. Первоначальное снижение маркеров костного формирования и отчетливое повышение маркера резорбции ICTP на ранних сроках после травмы может быть связано со стрессом, иммобилизацией и остеосинтезом.

Следует отметить, что даже после завершения консолидации перелома уровни костных маркеров крови остаются повышенными еще длительное время (по данным разных авторов — около года) [44, 45 — 47].

В. М. Ingle и др. [2] исследовали изменения биохимических маркеров после перелома дистального отдела предплечья у 40 женщин (средний возраст — 63 года). Определение маркеров костного обмена в сыворотке и моче были проведены на 0, 3 и 7-й день, а также через 2, 4, 6, 12, 26 и 52 недели после перелома. Маркеры костного формирования (КЩФ, ОК и PINP) были повышены через 2–4 недели после перелома на 13–52%, ($p<0,001$) и оставались таковыми спустя 52 недели. Маркеры костной резорбции (ТрКФ, DPD и NTP) были повышены через 2–6 недель после перелома на 18–35% и восстанавливались до исходного уровня через 52 недели (ТрКФ оставалась повышенной). После перелома дистального отдела предплечья большинство костных маркеров не возвращалось к исходным показателям.

В аналогичном исследовании были изучены изменения биохимических маркеров у 14 пациентов (7 постменопаузальных женщин и 7 мужчин, средний возраст — 63 года) после перелома лодыжки (дистальный отдел больше- и малоберцовой костей) [48]. Средние уровни маркеров костного формирования (КЩФ, PINP и ОК) были достоверно повышены между 1-й и 4-й неделями после перелома на 11–78%. КЩФ восстанавливался до исходного уровня через 52 недели после перелома, однако PINP и остеокальцин оставались на этот срок повышенными. Подъема уровня маркеров костной резорбции не отмечалось, а концентрация NTP через 52 недели была снижена.

При переломах диафиза большеберцовой кости у 18 пациентов измеряли содержание маркеров костного формирования: КЩФ, ОК и PINP; маркера костной резорбции — сывороточного β -СТР и маркера обмена коллагена III типа — P1NP — на 1, 3 и 7-й день и через 2, 4, 8, 12, 16 и 24 недели после перелома [46]. Авторами выявлено, что через 2 недели после перелома диафиза наблюдался подъем в сыворотке крови β -СТР ($139 \pm 33\%$) и маркера соединительной ткани P1NP, показатели которого достигали максимального значения через 8 недель ($57 \pm 9\%$). Следует отметить, что во время заживления перелома грубоволокнистая костная ткань, содержащая III тип коллагена, замещается коллагеном I типа, характерным для зрелой кости. Этим объясняется повышение уровня PINP. На этом же сроке (24 недели после перелома) зафиксировано повышение уровня КЩФ ($199 \pm 22\%$) и незначительное ($33 \pm 10\%$) повышение уровня остеокальцина. Маркер костной резорбции — β -СТР оставался повышенным до конца наблюдения ($105 \pm 23\%$) [46].

Содержание костных маркеров в биологических жидкостях зависит от характера травмы, области перелома и сроков его консолидации. В зависимости от стадии заживления перелома происходит изменение показателей костного обмена: после консолидации отломков отмечается их повышение [2, 44, 45—47], а в последующем происходит постепенный возврат к исходным уровням [2, 48].

Значительная индивидуальная и межиндивидуальная вариабельность данных при оценке маркеров костного метаболизма при переломах может быть обусловлена их временной биологической вариабельностью, относительно низкой костной специфичностью (связанной с тем, что продукция и деструкция коллагена не ограничена только костью), влиянием метаболизма организма человека на экспрессию этих маркеров [1].

Маркеры костного метаболизма при нарушении репаративного остеогенеза

Одним из наиболее распространенных осложнений при переломах длинных костей является несращение отломков. Клинически заживление перелома рассматривается как задержка, если этот процесс не был завершён в течение 3–6 месяцев [49]. По данным различных авторов, частота несращений достигает более 46% [49—54] и зависит от локализации повреждения, степени потери костной массы, повреждения мягких тканей и сосудов. Имеются и другие факторы риска несращения: тип перелома [55], применённый способ хирургического вмешательства [56], наличие инфекции [57], а также индивидуальные особенности пациентов, такие как пожилой возраст [52], наличие сопутствующих заболеваний [58, 59] табакокурение [2, 60], несбалансированная диета, употребление алкоголя [58].

Клинические методы исследования, включающие рентгенологический метод, не могут на ранних стадиях документировать течение процесса заживления перелома и его возможное неблагоприятное развитие — задержку консолидации. Рентгенологический метод, являющийся стандартным методом мониторинга заживления перелома, позволяет проводить оценку этого процесса только после наступления стадии минерализации регенерата. Учитывая это, важным является привлечение таких методов оценки заживления перелома, которые могли бы обеспечить раннюю информацию об этом процессе — до появления рентгенологических доказательств его задержки. Один из таких методов базируется на изучении динамики маркеров костного метаболизма как прогностического или диагностического средства для мониторинга заживления перелома.

Сведения о различиях содержания остеокальцина и КЩФ у пациентов с задержкой заживления перелома представлены в единичных исследованиях [44, 61, 62]. Оба эти маркера показали наличие больших межиндивидуальных различий.

А. Emami и соавт. [44] обнаружили, что у пациентов после перелома большеберцовой кости с задержкой сращения имело место снижение уровня КЩФ на 4–7-й неделе, по сравнению с пациентами с аналогичными переломами, имеющими нормальные темпы консолидации. Снижение КЩФ — маркера формирования кости, отражает замедление процесса остеогенеза по сравнению с больными с нормальной консолидацией. При оценке у больных уровня остеокальцина и маркера костной резорбции — СТР на 4–7-й неделе после перелома в обеих группах пациентов различия не были выявлены. На основании этого авторы сделали заключение о том, что у пациентов с нарушением сращения процесс костной резорбции протекает нормально, но имеет место задержка костеобразования.

В другом исследовании было изучено содержание ОК, КЩФ и СТР в сыворотке крови у 14 пациентов с травматическим переломом диафиза бедренной кости. Исследование проводили в динамике, включительно по 365-е сутки [63]. По окончании исследования пациенты были разделены на 2 группы: с нормальной (до 6 мес) и замедленной (более 6 месяцев) консолидацией отломков. При нарушении репаративного остеогенеза пиковый уровень остеокальцина был зафиксирован на 90-е сутки, а нормализация этого показателя наступала на 365-е сутки, тогда как у пациентов с нормальным заживлением перелома этот показатель был максимальным на уже 60-е сутки, возвращался к исходным показателям на 180-е сутки [63]. В этом же исследовании при оценке содержания КЩФ в сыворотке крови выявлено: при нормальном заживлении перелома уровень КЩФ достоверно повышался на 28–42-е сутки после перелома, достигал пика на 42-е сутки и на этом уровне сохранялся до 90 суток, а затем приближался к нормальным показателям. У пациентов с задержкой сращения показатель КЩФ повышался до 60 суток, после чего зафиксировано его плавное снижение в сыворотке крови. Однако на все сроки исследования показатель КЩФ у больных с замедленной консолидацией отломков был значительно ниже по сравнению с группой пациентов с нормальным течением репаративного остеогенеза [63]. Эти данные свидетельствуют о том, что на протяжении первых 3 месяцев после перелома показатели содержания остеокальцина и КЩФ у пациентов могут явиться прогностическим тестом замедленной консолидации отломков.

Другие авторы при исследовании этих маркеров не выявили различий в их содержании при нормальном и замедленном сращении переломов бедренной и большеберцовой костей, дистального отдела костей предплечья и лодыжки [2, 48, 64, 65]. При изучении содержания маркеров костного формирования у пациентов с установленным несращением (от 15 месяцев до 8 лет после травмы) уровень костной щелочной фосфатазы и остеокальцина не отличался от такового в контрольной группе исследования. Исследования уровня ОК и КЩФ показали наличие положительной корреляции между этими показателями через 6 недель, однако она не была обнаружена через 12 недель после перелома [62].

Однако не во всех случаях ОК может быть использован как прогностический тест. На модели инфицированного перелома диафиза бедренной кости у кроликов Southwood et al. показал, что концентрация остеокальцина не даёт возможности оценить сращение [66]. Более оптимистический прогноз оценки сращения был сделан по показателю КЩФ в сыворотке крови. У кроликов с инфицированным переломом было отмечено снижение концентрации КЩФ через 4 недели после травмы по сравнению с неинфицированными переломами. Однако при отсутствии инфицирования не было выявлено различий в уровне КЩФ между животными с нормальным заживлением перелома и с нарушением консолидации отломков. Незначительное повышение уровня КЩФ было отмечено как при нарушении репаративного остеогенеза, так и при нормально протекающем процессе

сращения отломков [61]. Концентрация КЩФ, как считают авторы [66], не является информативной для прогнозирования заживления перелома.

В проспективном исследовании пациентов с переломами голени и задержкой сращения было отмечено повышение концентрации в сыворотке P1СР, IСТР и P11NР, что, возможно, связано с задержкой заживления перелома. Kurdy et al. зафиксировали снижение уровня P1СР на протяжении 10 недель у пациентов с несращением переломов большеберцовой кости [61].

Согласно данным М.О. Coulibaly [16], раннее определение несращения возможно путем изучения содержания P1NР. P1NР характеризуется как индекс синтеза коллагена и маркер ранней стадии формирования кости [39]. Концентрация P1NР в сыворотке крови прямо пропорциональна количеству продуцированного остеобластами коллагена [14]. Как индикатор синтеза коллагена I типа P1NР может быть полезен при оценке регенерации кости в норме или при ее нарушении. Было отмечено, что P1NР и остеокальцин значительно повышались на протяжении нескольких месяцев после перелома бедра и оставались высокими даже через год и более [47]. При этом повышение уровней P1NР и остеокальцина было сходным. В проспективном исследовании биохимических костных маркеров при переломе предплечья было отмечено значительное повышение P1NР по сравнению с другими маркерами костного формирования [2, 48]. P1NР был значительно повышен на 3-й день и достигал максимального значения спустя 6 недель после перелома, в то время как пик остеокальцина наблюдался только через 26 недель.

В экспериментальном исследовании на животных дозозависимого эффекта ПТГ на остеопоротической модели кортикального дефекта бедра крыс пик концентрации P1NР в сыворотке крови зафиксирован на 21-й день [67]. У пациентов с переломами диафиза большеберцовой кости после иммобилизации гипсовой повязкой, либо интрамедуллярным остеосинтезом, было отмечено повышение P1NР в течение 24 недель, при этом его максимальное значение в сыворотке крови отмечено через 12 недель [46]. При исследовании костного обмена у постменопаузальных женщин с переломами дистального отдела предплечья [2, 48] зафиксирован пик P1NР через 6 недель после травмы с повышенным уровнем в сыворотке крови даже через один год после перелома. Авторы делают вывод, что уровень P1NР связан с формированием регенерата. Использование P1NР в качестве маркера при заживлении перелома является информативным при оценке его уровня на ранних этапах репаративного остеогенеза.

Экспериментальные исследования на животных не всегда подтверждают эффективность использования оценки костных маркеров. У овец с переломом большеберцовой кости при наличии подвижности костных отломков и различных типах остеосинтеза корреляция в содержании костных маркеров (P1СР, КЩФ и P11NР) не была обнаружена на протяжении 9 недель после операции [68].

Для выяснения вопроса влияния низкой минеральной плотности кости на показатели маркеров костной резорбции (NTR, PУD и DPD) были проанализированы результаты лечения 25 пациентов с переломами бедренной кости и дистальными переломами предплечья. Было установлено, что как до, так и после операции пациентки с низкой минеральной плотностью костной ткани, особенно женщины в период постменопаузы, имели повышенное содержание NTR по сравнению с пациентками с нормальной минеральной плотностью или мужчинами [40]. Это свидетельствует о том, что наличие у больных остеопоротических изменений до перелома является фактором, способствующим активизации костной резорбции после перелома.

У женщин с остеопенией и высоким уровнем костных маркеров риск перелома был сходный с таковым остеопоротических пациенток. Но у женщин с остеопенией и нор-

мальным уровнем костных маркеров риск перелома был ниже по сравнению с таковым постменопаузальных женщин с нормальным DMD [69]. Это подтверждает важную роль определения уровня костных маркеров в прогнозировании перелома.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В обзоре представлены современные данные по возможности использования маркеров костного метаболизма в прогнозировании характера заживления перелома. Показано наличие взаимосвязи между областью перелома, стадийно-временными особенностями его заживления и экскрецией макромолекул, отражающих костный метаболизм. Маркеры костного обмена, отражающие активность остеобластов и остеокластов, имеют различные уровни на протяжении сращения перелома.

Повышение костного обмена, наблюдающееся в течение нескольких недель после перелома, характеризуется активацией экспрессии маркеров костной резорбции (ТрКФ5b, СТР) с последующим подъемом (на протяжении нескольких месяцев) маркеров формирования кости (ОК сыворотки крови). Пик концентрации P1NР наблюдается примерно в то же время, что и маркеров костной резорбции. После этого в течение 2–3 мес уровни ТрКФ5b, СТР и P1NР снижаются и через 5–6 мес стабилизируются.

Содержание DPD и ОК в моче достигает наивысших значений через 1,5 мес после перелома. По-видимому, ОК мочи в большей мере отражает процесс резорбции, чем костеобразования. Уровень ОК в сыворотке крови достигает пика позже других маркеров и остается повышенным более длительный период.

Наиболее выраженные изменения костных маркеров наблюдаются в течение первых 6 мес после перелома, во втором полугодии уровни этих маркеров характеризуются постоянством. Однако и до конца года содержание всех костных маркеров (кроме DPD) превышает таковое до перелома. Это связано тем, что скелет продолжает реагировать на перелом и вызванную им иммобилизацию ускорением ремоделирования и минерализации области перелома, а также общим повышением темпов костного метаболизма. В исследованиях некоторых авторов было обнаружено повышение только маркеров костного формирования, возможно, это связано с отсутствием у них контрольной группы сравнения (с травмой, но без перелома).

Отмечена значительная вариабельность данных по содержанию костных маркеров на этапах заживления перелома. Костные маркеры подвержены влиянию внешних факторов, таких как особенности питания и физической активности, поэтому для них характерна вариабельность у здоровых индивидуумов. Это создает предпосылку для высокой степени их вариабельности и в период после перелома.

Индивидуальным различиям способствуют разница в площади костной поверхности, вовлеченной в область перелома, и во времени, необходимом для консолидации отломков. Этим можно объяснить, почему более выраженные изменения в содержании костных маркеров наблюдаются после перелома бедра, чем верхних конечностей. Площадь области перелома, необходимость хирургического лечения и время иммобилизации при этих переломах различны. Уровень костных маркеров может также зависеть от локализации перелома кости и ее степени нагружения, а также минеральной плотности кости.

Показано, что у пациентов с замедленным заживлением перелома имеется значительная задержка в повышении уровня остеокальцина. В прогностическом плане для определения несращения предпочтительнее является изучение содержания P1NР. Определение маркеров костного метаболизма может служить информативным критерием оценки течения репаративного остеогенеза, однако необходимо учи-

тывать характер травматического повреждения, сроки после травмы, особенности состояния костной ткани на момент травмы, возраст пациента для выявления начальных этапов нарушения консолидации.

Несмотря на вариабельность полученных данных, не следует игнорировать роль маркеров костного метаболизма для прогностической оценки течения репаративного остеогенеза с целью выявления начальных этапов нарушения консолидации отломков. Раннее выявление индивидуально-го течения восстановительного процесса в области перелома дает возможность проведения коррекции нарушений и выработки индивидуальной тактики лечения конкретного пациента, учитывая особенности его костного обмена.

SUMMARY

This review presents the current evidence about the use of markers of bone metabolism in the prediction of fracture healing, differences in concentrations of blood markers of bone metabolism in patients with normal and delayed consolidation of bone fragments. We analyze the relationship between the fracture site, time-stage features of its healing and urinary macromolecules, reflecting bone metabolism. Increase in bone turnover, which is observed after the fracture, is characterized by activation markers of bone resorption, with a subsequent increase in the concentration of blood markers of bone formation. However, there is a marked variability in data concerning the levels of bone markers in plasma at different stages of fracture healing. We show that in patients with delayed fracture healing there is a significant delay in raising osteocalcin levels. Prognostic features for determining fracture nonunion include low concentrations of N-terminal propeptide of procollagen type I. Determination of markers of bone metabolism in blood can serve as informative criterion for the course of reparative osteogenesis, but one must consider the nature of traumatic injury, time passed from injury, especially the state of bone tissue at the time of injury, age of the patient to identify the early stages of consolidation disturbances.

ЛИТЕРАТУРА

- Cox G., Einhorn T., Tsioupis A.C., Giannoudis P.V. Bone-turnover markers in fracture healing // J. Bone Jnt. Surg — 2010. — V. 92-B, Iss. 3 — P. 329–334.
- Ingle B.M., Hay S. M., Bottjer H. M., Eastell R. Changes in bone mass and bone turnover following distal forearm fracture // Osteoporosis International. — 1999. — V. 10, № 5. — P. 399–407.
- Takahara K., Kamimura M., Nakagawa H., Shigeharu U. Changes in biochemical markers of bone in patients with insufficiency fractures // Journal of Bone and Mineral Metabolism. — 2004. — V. 22, № 6. — P. 618–625.
- Singer F.R., Eyre D.R. Using biochemical markers of bone turnover in clinical practice // Cleveland Clinic Journal Of Medicine — 2008. — Vol. 75, № 10. — P. 739–750.
- Epstein S. Serum and urinary markers of bone remodeling: assessment of bone turnover // Endocrine Reviews. — 1998. — V. 9. — P. 437–448.
- Bone Alkaline Phosphatase in Serum // NHANES. — 2003–2004. — P. 2–15.
- Hale L.V., Galvin R.J., Risteli J., Ma Y.L., Harvey A.K., Yang X., Cain R.L., Zeng Q., Frolik C.A., Sato M., Schmidt A.L., Geiser A.G. PINP: a serum biomarker of bone formation in the rat // J Bone Miner Res. — 2007. — V. 40, №4. — P. 1103–1109.
- Ivaska K.K., Hentunen T.A., Vaaraniemi J., Ylipahkala H., Pettersson K., Vaananen H.K. Release of intact and fragmented osteocalcin molecules from bone matrix during bone resorption in vitro // J. Biol. Chem. — 2004. — V. 279, №18. — P. 18361–18369.
- Baumgrass R., Williamson M.K., Price P.A. Identification of peptide fragments generated by digestion of bovine and human osteocalcin with the lysosomal proteinases cathepsin B, D, L, H, and S // J. Bone Miner. Res. — 1997. — V. 12. — P. 447–455.
- Pedersen B.J., Schlemmer A., Hassager C., Christiansen C. Changes in the carboxyl-terminal propeptide of type I procollagen and other markers of bone formation upon five days of bed rest // Bone. — 1995. — V. 17, № 1. — P. 91–95.

- Melkko J., Kauppila S., Niemi S., Risteli L., Haukipuro K., Jukkola A., Risteli J. Immunoassay for intact amino-terminal propeptide of human type I procollagen // Clin. Chem. — 1996. — V. 42, № 6. — P. 947–954.

- Eriksen E.F., Charles P., Melsen F., Mosekilde L., Risteli L., Risteli J. Serum markers of type I collagen formation and degradation in metabolic bone disease: correlation with bone histomorphometry // J. Bone Miner. Res. — 1993. — V. 8, № 2. — P. 127–132.

- Hassager C., Jensen L.T., Johansen J.S., et al. The carboxyterminal propeptide of type I procollagen in serum as a marker of bone formation: the effect of nandrolone decanoate and female sex hormones // Metabolism. — 1991. — V. 40. — P. 205–208.

- Linkhart S.G., Linkhart T.A., Taylor A.K., Wergedal J.E., Bettica P., Baylink D.J. Synthetic peptidebased immunoassay for amino-terminal propeptide of type I procollagen: application for evaluation of bone formation // Clin. Chem. — 1993. — V. 39, № 11. — P. 2254–2258.

- Seibel M. Biochemical markers of bone turnover: part I: biochemistry and variability // Clin. Biochem. Rev. — 2005. — V. 26. — P. 97–122.

- Coulbaly M.O., Sietsema D.L., Burgers T.A., Mason J., Williams B.O., Jones C.B. Recent advances in the use of serological bone formation markers to monitor callus development and fracture healing // Crit Rev Eukaryot Gene Expr. — 2010. — V. 20, № 2. — P. 105–127.

- Han B., Copeland M., Geiser A.G., Hale L.V., Harvey A., Ma Y.L., Powers C.S., Sato M., You J., Hale J.E. Development of a highly sensitive, high-throughput, mass spectrometry-based assay for rat procollagen type-I N-terminal propeptide (PINP) to measure bone formation activity // J. Proteome Res. — 2007. — V. 6, № 11. — P. 4218–4229.

- Adami S., Gatti D., Viapiana O., Fiore C.E., Nuti R., Luisetto G., Ponte M., Rossini M. Physical activity and bone turnover markers: a cross-sectional and a longitudinal study // Calcif. Tissue Int. — 2008. — V. 83, № 6. — P. 388–392.

- Komi J., Lankinen K.S., DeGregorio M., Heikkinen J., Saarikoski S., Tuppurainen M., Halonen K., Lammintausta R., Vaananen K., Ylikorkala O., Erkkola R. Effects of ospemifene and raloxifene on biochemical markers of bone turnover in postmenopausal women // J. Bone Miner. Metab. — 2006. — V. 24, №4. — P. 314–318.

- Miller P.D., Schwartz E.N., Chen P., Misurski D.A., Krege J.H. Teriparatide in postmenopausal women with osteoporosis and mild or moderate renal impairment // Osteoporosis Int. — 2007. — V. 18, № 1. — P. 59–68.

- Watts N.B., Miller P.D., Kohlmeier L.A., Sebban A., Chen P., Wong M., Krohn K. Vertebral fracture risk is reduced in women who lose femoral neck BMD with teriparatide treatment // J. Bone Miner Res. — 2009. — V. 24, № 6. — P. 1125–1131.

- Body J.J., Lichinitser M., Tjulandin S., Garnero P., Bergstrom B. Oral ibandronate is as active as intravenous zoledronic acid for reducing bone turnover markers in women with breast cancer and bone metastases // Ann Oncol. — 2007. — V. 18, № 7. — P. 1165–1171.

- Lein M., Miller K., Wirth M., Weissbach L., May C., Schmidt K., Haus U., Schrader M., Jung K. Bone turnover markers as predictive tools for skeletal complications in men with metastatic prostate cancer treated with zoledronic acid // Prostate. — 2009. — V. 69, № 6. — P. 624–632.

- Cloos P.A.C., Fledelius C., Ovst P., Garnero P. Biological clocks of bone aging: race misation and isomerization, potential tools to assess bone turnover // Bone. — 1998. — V. 23 (Suppl.) — F440.

- Hanson D.A., Weis M.A., Bollen A.M., Maslan S.L., Singer F.R., Eyre D.R. A specific immunoassay for monitoring human bone resorption: quantitation of type I collagen cross-linked N-telopeptides in urine // J. Bone Miner. Res. — 1992. — V. 7. — P. 1251–1258.

- Garnero P. Biomarkers for osteoporosis management: utility in diagnosis, fracture risk prediction and therapy monitoring // Mol. Diagn. Ther. — 2008. — V. 12, № 3. — P. 157–170.

- Garnero P., Fledelius C., Gineyts E., et al. Decreased beta-isomerization of the C-terminal telopeptide of type I collagen alpha 1 chain in Paget's disease of bone // J. Bone Miner. Res. — 1997. — V. 12. — P. 1407–1415.

- Robins S.P. Fibrillogenesis and maturation of collagens. In: dynamics of bone and cartilage metabolism, Seibel M.J., Robins

- S.P., Bilezikian J.P. eds. — San Diego: Academic Press, 1999. — P. 31–42.
29. von der Mark K., Seibel M, Robins S, Bilezikian J eds. Structure and biosynthesis of collagens. in: dynamics of bone and car tilage metabolism. — San Diego: Academic Press, 1999. — P. 3–30.
30. Delmas P.D., Schlemmer A., Gineyts E., et al. Urinary excretion of pyridinoline crosslinks correlates with bone turnover measured on iliac crest biopsy in patients with vertebral osteoporosis // *J. Bone Miner. Res.* — 1991. — V. 6. — P. 639–644.
31. Eastell R., Colwell A., Hampton L., Reeve J. Biochemical markers of bone resorption compared with estimates of bone resorption from radiotracer kinetic studies in osteoporosis // *J. Bone Miner. Res.* — 1997. — V. 12. — P. 59–65.
32. Colwell A., Russell R., Eastell R. Factors affecting the assay of urinary 3-hydroxy pyridinium crosslinks of collagen as markers of bone resorption // *Eur. J. Clin. Invest.* — 1993. — V. 23. — P. 341–349.
33. Brixen K., Eriksen E.F. Seibel MJ, Robins SP, Bilezikian JP eds. Validation of local and systemic markers of bone turnover. In: *Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism* — San Diego: Academic Press, 1999. — P. 427–436.
34. Halleen J.M., Alatalo S.L., Suominen H., Cheng S., Jancikla A.J., Vaananen H.K. Tartrate-resistant acid phosphatase 5b: a novel serum marker of bone resorption // *J. Bone Miner. Res.* — 2000. — V. 15. — P. 1337–1345.
35. Halleen J.M., Karp M., Viloma S., et al. Two-site immunoassays for osteoclastic tartrate-resistant acid phosphatase based on characterisation of six monoclonal antibodies // *J. Bone Miner. Res.* — 1999. — V. 14. — P. 464–469.
36. Berger Ch.E., Kroner A., Thomas E., Kristen K. H., Ogris E., Engel A. Comparison of Biochemical Markers of Bone Metabolism in Serum and Femur Aspirates // *Clinical Orthopaedics & Related Research.* — 2002 — Vol. 395 — P. 174–179.
37. Harade S., Rodan G.A. Control of osteoblast function and regulation of bone mass // *Nature.* — 2003. — V. 423. — P. 349–355.
38. Chiba S., Okada K., Lee K., Segre G.V., Neer R.M. Molecular analysis of defect healing in rat diaphyseal bone // *J. Vet. Med. Sci.* — 2001. — V. 63, № 6. — P. 603–608.
39. Ivaska K.K., Gerdhem P., Akesson K., Garnero P., Obrant K.J. Effect of fracture on bone turnover markers: a longitudinal study comparing marker levels before and after injury in 113 elderly women // *J. Bone Miner. Res.* — 2007. — V. 22, № 8. — P. 1155–1164.
40. Hoesel L.M., Wehr U., Rambeck W.A., Schnettler R., Heiss C. Biochemical bone markers are useful to monitor fracture repair // *Clinical orthopaedics & Related Research.* — 2005. — V. 440. — P. 226–232.
41. Stoffel K., Engler H., Kuster M., Riesen W. Changes in biochemical markers after lower limb fractures // *Clinical Chemistry* — 2007. — Vol. 53, № 1. — P. 131–134.
42. Deftos U. Bone protein and peptide assays in the diagnosis and management of skeletal disease // *Clin. Chem.* — 1991. — V. 37. — P. 1143–1148.
43. Bowles S.A., Kurdy N., Davis A.M., France M.W., Marsh D.R. Serum osteocalcin, total and bone-specific alkaline phosphatase following isolated tibial shaft fracture // *Ann. Clin. Biochem.* — 1996. — V. 33. — P. 196–200.
44. Emami A., Larsson A., Petren-Mallmin M., Larsson S. Serum bone markers after intramedullary fixed tibial fractures // *Clin. Orthop. Relat. Res.* — 1999. — V. 368. — P. 220–229.
45. Obrant K.J., Ivaska K.K., Gerdhem P., Alatalo S.L., Pettersson K., Vaananen H.K. Biochemical markers of bone turnover are influenced by recently sustained fracture // *Bone.* — 2005. — V. 36. — P. 786–792.
46. Veitch S.W., Findlay S.C., Hamer A.J., Blumsohn A., Eastell R., Ingle B.M. Changes in bone mass and bone turnover following tibial shaft fracture // *Osteoporos Int.* — 2006. — V. 17, № 3. — P. 364–372.
47. Yu-Yahiro J.A., Michael R.H., Dubin N.H., Fox K.M., Sachs M., Hawkes W.G., et al. Serum and urine markers of bone metabolism during the year after hip fracture // *J. Am. Geriatr. Soc.* — 2001. — V. 49. — P. 877–883.
48. Ingle B.M., Hay S.M., Bottjer H.M., Eastell R. Changes in bone mass and bone turnover following ankle fracture // *Osteoporosis International.* — 1999. — Volume 10, № 5. — P. 408–415.
49. Nork S.E. Fractures of the Shaft of the Femur. In: *Bucholz R.W.; Heckman J.D.; Court-Brown C.M., editors. Rockwood and Green's Fractures in Adults.* 6th ed. — Philadelphia (PA): Lippincott Williams & Wilkins, 2006. — P. 1845–1914.
50. Court-Brown C.M., McQueen M.M. Nonunions of the proximal humerus: their prevalence and functional outcome // *J. Trauma.* — 2008. — V. 64, № 6. — P. 1517–1521.
51. Giannoudis P.V., MacDonald D.A., Matthews S.J., Smith R.M., Furlong A.J., De Boer P. Nonunion of the femoral diaphysis. The influence of reaming and non-steroidal anti-inflammatory drugs // *J. Bone Joint Surg. Br.* — 2000. — V. 82, № 5. — P. 655–658.
52. Parker M.J., Raghavan R., Gurusamy K. Incidence of fracture-healing complications after femoral neck fractures // *Clin. Orthop. Relat. Res.* — 2007. — V. 458. — P. 175–179.
53. Phieffer L.S., Goulet J.A. Delayed unions of the tibia // *Instr. Course Lect.* — 2006. — V. 55. — P. 389–401.
54. Society C.O.T. Nonunion following intramedullary nailing of the femur with and without reaming. Results of a multicenter randomized clinical trial // *J. Bone Joint Surg. Am.* — 2003. — V. 85-A, № 11. — P. 2093–2096.
55. Taitsman L.A., Lynch J.R., Agel J., Barei D.P., Nork S.E. Risk factors for femoral nonunion after femoral shaft fracture // *J. Trauma.* — 2009. — V. 67, № 6. — P. 1389–1392.
56. Ly T.V., Swiontkowski M.F. Treatment of femoral neck fractures in young adults // *J. Bone Joint Surg. Am.* — 2008. — V. 90, №10. — P. 2254–2266.
57. Yokoyama K., Itoman M., Uchino M., Fukushima K., Nitta H., Kojima Y. Immediate versus delayed intramedullary nailing for open fractures of the tibial shaft: A multivariate analysis of factors affecting deep infection and fracture healing // *Indian. J. Orthop.* — 2008. — V. 42, № 4. — P. 410–419.
58. Foulk D.A., Szabo R.M. Diaphyseal humerus fractures: natural history and occurrence of nonunion // *Orthopedics.* — 1995. — V. 18, №4. — P. 333–335.
59. Lindsey R.W., Blair S.R. Closed tibial-shaft fractures: which ones benefit from surgical treatment? // *J. Am Acad Orthop Surg.* — 1996. — V. 4, № 1. — P. 35–43.
60. Kyro A., Usenius J.P., Aarnio M., Kunnamo I., Avikainen V. Are smokers a risk group for delayed healing of tibial shaft fractures? // *Ann. Chir. Gynaecol.* — 1993. — V. 82, № 4. — P. 254–262.
61. Kurdy N.M. Serology of abnormal fracture healing: the role of PIIINP, PICP, and BsALP // *J. Orthop. Trauma.* — 2000. — V. 14, № 1. — P. 48–53.
62. Nyman M.T., Paavolainen P., Forsius S., Lamberg-Allardt C. Clinical evaluation of fracture healing by serum osteocalcin and alkaline phosphatase // *Ann. Chir. Gynaecol.* — 1991. — V. 80, № 3. — P. 289–293.
63. Herrmann M., Klitscher D., Georg Th., Frank J., et al. Different kinetics of bone markers in normal and delayed fracture healing of long bones // *Clinical Chemistry.* — 2002. — V. 48, № 12. — P. 2263–2266.
64. Bowles S.A., Kurdy N., Davis A.M., France M.W., Marsh D.R. Serum osteocalcin, total and bone-specific alkaline phosphatase following isolated tibial shaft fracture // *Ann. Clin. Biochem.* — 1996. — V. 33. — P. 196–200.
65. Laurer H.L., Hagenbourger O., Quast S., Herrmann W., Marzi I. Sequential changes and pattern of bone specific alkaline phosphatase after trauma // *Eur. J. Trauma.* — 2000. — V. 1. — P. 33–38.
66. Southwood L.L., Frisbie D.D., Kawcak C.E., McIlwraith C.W. Evaluation of serum biochemical markers of bone metabolism for early diagnosis of nonunion and infected nonunion fractures in rabbits // *Am. J. Vet. Res.* — 2003. — V. 64, № 6. — P. 727–735.
67. Komatsu D.E., Brune K.A., Liu H., Schmidt A.L., Han B., Zeng Q.Q., Yang X., Nunes J.S., Lu Y., Geiser A.G., Ma Y.L., Wolos J.A., Westmore M.S., Sato M. Longitudinal in vivo analysis of the regionspecific efficacy of parathyroid hormone in a rat cortical defect model // *Endocrinology.* — 2009. — V. 150, №4. — P. 1570–1579.
68. Klein P., Bail H. J., Schell H., Michel R., Amthauer H., Bragulla H., Duda G. N. Are bone turnover markers capable of predicting callus consolidation during bone healing? // *Calcified Tissue International.* — 2004. — V. 75, № 1. — P. 40–49.
69. Somay-Rendu E., Munos F., Garnero P. et al. Identification of osteopenic women at high risk of fracture: the OFELY study. // *J. Bone Miner. Res.* — 2005. — Vol. 20, № 10. — P. 1813–1819.