

ДИАГНОСТИКА И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛОКАЛЬНОЙ ВНУТРИСУСТАВНОЙ ТЕРАПИИ РАННИХ СТАДИЙ ОСТЕОХОНДРОПАТИИ ГОЛОВКИ БЕДРЕННОЙ КОСТИ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Сертакова А.В., Ульянов В.Ю., Садчиков Д.Д.

ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет
имени В.И. Разумовского» Минздрава России», Саратов, e-mail: v.u.ulyanov@gmail.com

Обнаружение информативных молекулярных маркеров для биологической диагностики остеохондропатии головки бедренной кости является актуальным направлением экспериментальных разработок. Целью исследования явилось определение информативных биомаркеров-кандидатов, позволяющих диагностировать и оценивать эффективность локальной внутрисуставной терапии ранних стадий остеохондропатии головки бедренной кости. Объектом исследования стали 61 особь обоего пола молодняка кроликов мясо-шкуркового направления селекции – серый или бельгийский великан (фландр). Материалом были аликвотированные образцы сыворотки крови, сохраняемые в низкотемпературных условиях. Экспериментальное моделирование остеохондропатии на животных осуществляли по методике Слизовского Г.В. и соавт. (2017). Введение обогащенной тромбоцитами плазмы по всеерной методике осуществляли в объеме 5 мл в область собственной связки надколенника однократно. Определение концентраций молекулярных биомаркеров (коллаген 1 типа, фактор роста фибробластов, костная щелочная фосфатаза) осуществляли на 1, 30 и 68-е сутки с момента начала эксперимента. Установлено *ad oculus* формирование экспериментальной модели остеохондропатии головки бедренной кости, соответствующей 1 стадии костного дефекта без потери формы головки бедра по классификации Catterall (1971). Проверка гипотез о различии средних величин показателей биомаркеров показала, что группы «после эксперимента» и «до эксперимента» значимо различаются только по показателю содержания костной щелочной фосфатазы ($p=0,009$), группы «после лечения» и «до эксперимента», напротив, значимо различаются по показателям фактора роста фибробластов и коллагена I типа ($p=0,622$, $p=0,453$), однако не различаются по показателю щелочной фосфатазы. В то же время группа «после эксперимента» и «после лечения» значимо различаются ($p<0,01$). Таким образом, показана информативность некоторых биомаркеров-кандидатов, позволяющих диагностировать и оценивать эффективность локальной внутрисуставной терапии ранних стадий остеохондропатии головки бедренной кости.

Ключевые слова: остеохондропатия, бедренная кость, головка, костный метаболизм, молекулярные биомаркеры.

Финансирование исследования осуществляется в соответствии с соглашением о предоставлении финансовой поддержки проекта перспективного научного исследования №SSMU-2022-010 «Разработка системы оценки эффективности ортобиологических методов лечения дегенеративных заболеваний крупных суставов у детей» ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России.

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

DIAGNOSTICS AND EFFICACY EVALUATION OF THE LOCAL INTRA-ARTICULAR THERAPY FOR EARLY OSTEOCHONDROPATHY OF THE FEMORAL HEAD: AN EXPERIMENTAL STUDY

Sertakova A.V., Ulyanov V.Yu., Sadchikov D.D.

V.I. Razumovsky Saratov State Medical University, the Russian Federation Ministry of Healthcare,
Saratov, e-mail: v.u.ulyanov@gmail.com

The identification of informative molecular markers for biological diagnostics of osteochondropathy of the femoral head is a relevant trend of experimental development. The objective of this study was to identify the informative candidate biomarkers ensuring diagnostics and evaluation of the efficacy of local intra-articular therapy of early osteochondropathy of the femoral head. The subject of the study were 61 young Flemish Giant

rabbits of both sexes. The aliquot blood serum samples preserved in low-temperature conditions made the material of the study. The experimental simulation of osteochondropathy in animals was performed according to the method of Slizovsky G.V. et al. (2017). 5 ml of the platelet-enriched plasma was once administered by the fanning method in the area of patella intrinsic ligament. The concentrations of molecular biomarkers (type I collagen, fibroblast growth factor, bone alkaline phosphatase) were determined on Days 1, 30, and 68 of the experiment. The experimental simulation of the femoral head osteochondropathy corresponding to stage 1 bone defect without any loss of the femoral head shape by the Catterall classification (1971) was established *ad oculus*. Hypothesis testing for differences in mean indicators of the biomarkers showed that the post-experiment and pre-experiment groups differed significantly only in bone alkaline phosphatase ($p=0.009$) while the post-treatment and pre-experiment group contrarily differed significantly in fibroblast growth factor and type I collagen ($p=0.622$, $p=0.453$), but did not differ in alkaline phosphatase content. However, the post-experiment and post-treatment groups differed significantly ($p<0.01$). Thus, the informative value of some candidate biomarkers has been shown to diagnose and evaluate the efficacy of local intra-articular therapy of early osteochondropathy of the femoral head.

Keywords: osteochondropathy, femur, femoral head, bone metabolism, molecular biomarkers.

The research is funded in accordance with the agreement on financial support for the advanced scientific research project SSMU-2022-010 "Development of a system for evaluating the effectiveness of orthobiological methods of treating degenerative diseases of large joints in children" by the Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky of the Ministry of Health of the Russian Federation.

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Введение. Остеонекроз представляет собой группу патологических состояний неясной этиологии, исходом которых является нарушение метаболизма костной, хрящевой ткани и микроциркуляции в очаге возникновения с развитием вторичного остеоартрита прилежащего сустава. Наиболее часто данный патологический процесс поражает головку и мыщелки бедра, надмыщелки большеберцовой кости, головку плеча и таранной кости. Остеонекроз детского и подросткового возраста выделен в группу так называемых остеохондропатий, среди которых ведущее место занимает болезнь Легга - Кальве - Пертеса с частотой встречаемости 0,4-20,9:100000 [1-3].

Среди этиопатогенетических причин развития остеохондропатии выделяют идиопатический (возможно, гормонально-перегрузочный) спазм гладкомышечных клеток стенок артериол микроциркуляторного русла с переходом в ишемический стаз и локальный инфаркт губчатого вещества эпифиза и тканей костномозговых пространств на фоне избытка ионов кальция вследствие нарушений минерального гомеостаза. Увеличивается клеточная гипоксия, в том числе вследствие нарушений реологических свойств крови (локальная гиперкоагуляция), когда происходит увеличение необратимо измененных эритроцитов, что приводит вследствие гемолиза последних к высвобождению в системный кровоток прокоагулянтных факторов, еще более усиливающих их агрегацию. Это и способствует нарушению процессов трансапиллярного обмена и нарушениям венозного оттока из проксимального метаэпифиза бедра в условиях снижения способности мезенхимальных стволовых клеток костного мозга к дифференцировке, уменьшения экспрессии костного

морфогенетического белка и усиления апоптоза остеобластов и остеоцитов. В результате проникновения в утолщенную головку соединительнотканых и хрящевых элементов с вновь образованными сосудами нарушается непрерывность субхондральной пластинки и эпифизарного хряща – наступает его фрагментация [4; 5].

Изменения клеточного метаболизма являются предметом поиска специфических молекулярных биомаркеров для диагностики ранних стадий остеохондропатии головки бедренной кости, верифицирующих развитие воспалительной реакции в ответ на некротический процесс. Значительный интерес представляют оценка исходной активности резорбтивных процессов, а также динамика молекулярных биомаркеров, в том числе в процессе локальной внутрисуставной терапии, особенно на ранних стадиях заболевания. Целевыми молекулярными биомаркерами-кандидатами являются описанные в литературе показатели костной резорбции – дезоксипиридинолин, С-концевые сшивающие телопептиды коллагена I и II типов, кальций-связывающего белка, которые могут использоваться как для диагностики, так и для оценки эффективности проводимой локальной внутрисуставной терапии остеохондропатии головки бедренной кости [6; 7].

Цель исследования. Определение информативных биомаркеров-кандидатов, позволяющих диагностировать и оценивать эффективность локальной внутрисуставной терапии ранних стадий остеохондропатии головки бедренной кости.

Материал и методы исследования

Эксперименты над животными проводились в соответствии: с Директивой Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых для научных целей, с Федеральным законом от 27.12.2018 № 498-ФЗ (ред. от 27.12.2019) «Об ответственном обращении с животными и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации», а также с учетом рекомендаций этического комитета СГМУ (протокол № 7 от 01.02.2022 г.).

Объект исследования: 61 особь обоего пола молодняка кроликов (возраст $3,5 \pm 0,5$ месяца) мясо-шкуркового направления селекции – серый или бельгийский великан (фландр) с высокой физической активностью и массой тела $2,5 \pm 0,4$ кг. При внешнем осмотре все кролики были активны, без признаков заболеваний (чистые склеры, нормальный цвет десен, языка и состояние зубов, без дефектов шкурки и анатомии). Распределение по группам происходило следующим образом: 16 животных были включены в группу «до эксперимента» (группа контроля); 26 – в группу «после эксперимента»; 19 – в группу «после лечения». Все кролики располагались в удобных клетках, получали полноценные корм (специальный комбикорм, овощи, травянистые растения, ветки деревьев и лозы винограда) и родниковую воду.

Моделирование остеохондропатии головки бедренной кости, осуществляемое по методике Слизовского Г.В. и соавт. (2017) [8], соответствовало I стадии костного дефекта согласно классификации Catterall (1971) без потери формы головки бедра. Всем животным до начала эксперимента (контрольная точка 1 – 1-е сутки эксперимента, до начала параартикулярного введения адреналина) осуществляли взятие крови из ушной вены. Через 30 дней (контрольная точка 2 – 30-е сутки эксперимента, окончание введения адреналина) всем кроликам выполняли повторное взятие крови, часть кроликов была выведена из эксперимента для визуальной макроскопической оценки стадии костного дефекта. Оставшимся кроликам проведено лечение в виде внутрисуставной инъекции обогащённой плазмы (platelet-rich plasma /PRP). Для этого из ушной вены изымали 5 мл крови в пробирку, в которую добавляли 1 мл цитрата натрия 3,8% (антикоагулянт) для стабилизации компонентов крови, осторожно смешивали его с кровью. Для получения PRP использовали центрифугу лабораторную LISTON C2204 PRP (ООО «Листон», Россия) на двух режимах: 1000 об./5 мин., затем 2000 об./3 мин. Данная методика двойной отработки плазмы на низких частотах была продиктована повышенной вязкостью крови у кроликов и большой шириной осмотической резистентности по сравнению с человеческой. Через 38 дней (контрольная точка 3 – 68-е сутки эксперимента) осуществляли финальное взятие крови, оставшаяся часть кроликов была выведена из эксперимента для визуальной макроскопической оценки стадии костного дефекта. Животных выводили из эксперимента путем гуманной эвтаназии физическими методами: с помощью метода оглушительного удара по голове или цервикальной дислокации.

Для иммуноферментного анализа использовали наборы реагентов в соответствии с инструкциями для определения коллагена I типа кролика (ELISA Kit for Collagen Type I (COL1)) 96 опр (SEA571Rb) (Cloud-Clone Corp., Китай); основного фактора роста фибробластов (ФРФ) 2 кролика (ELISA Kit for Fibroblast Growth Factor 2, Basic (FGF2)) 96 опр (SEA551Rb) (Cloud-Clone Corp., Китай); костной щелочной фосфатазы (КЩФ) «Enzyme-linked Immunosorbent Assay kit fore Alkaline phosphatase (ALPL)», (Cloud-Clone Corp., Китай). Определение оптической плотности осуществляли при длине волны 450 нм полуавтоматическим планшетным фотометром (лабораторный медицинский – «Stat Fax4200» Awareness Technology, США). Хранение образцов сыворотки крови животных осуществляли не более чем 6 месяцев при температуре -80 °C в морозильной камере.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли при помощи пакета программ Statistica 13.3. С целью выявить наличие статистически значимого различия между группами были выполнены сравнения в парах «до эксперимента» и «после эксперимента», «после лечения» и «до эксперимента», а также «после эксперимента» и «после лечения».

Выборки представляли собой независимые группы (разные животные в разное время) и не составляли пару коррелирующих значений; распределение признаков в каждой выборке соответствовало нормальному распределению; дисперсии признаков в выборках были равны. Гипотезу для проверки нормальности распределений проверяли с помощью критерия Колмогорова, а дисперсии признаков с помощью F-критерия. На этом основании использовался t-критерий Стьюдента для независимых выборок ($p < 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение. Сводные данные о значимости отличий групп «до эксперимента» / «после эксперимента» / «после лечения» представлены в таблице.

Примечательна динамика показателей ФРФ и коллагена I типа, которые демонстрировали минимальную разницу в группах «до и после эксперимента», но подтвердили статистически значимое отличие в группе «после лечения». В данном случае показатели «после лечения» стремились к показателям группы контроля, т.е. к экспериментальной норме.

Единственным показателем, показавшим статистически значимую разницу во всех группах исследования, является костная щелочная фосфатаза (КЩФ). Было зафиксировано значимое достижение уровня КЩФ до нормальных величин.

Описательные характеристики и результаты тестирования на различие средних в экспериментальных группах

Показатели \ Группы	До эксперимента n=16	После эксперимента n=26	После лечения n=19
	<i>Среднее, ДИ</i>	<i>Среднее, ДИ</i>	<i>Среднее, ДИ</i>
ФРФ, пг/мл	40,09 (33,31-46,86)	42,03 (37,16-46,90) p=0,622	30,73 (26,65-34,82) p=0,047 p*=0,011
Коллаген I типа, пг/мл	96,32 (83,35-109,30)	91,63 (85,24-98,03) p=0,453	73,85 (62,59-85,11) p=0,019 p*=0,006
КЩФ, пг/мл	20,98 (18,04-23,91)	17,01 (15,43-18,58) p=0,009	20,87 (17,71-24,02) p=0,959 p*=0,017

Примечания: p – значимость отличий группы от группы контроля (pre-experiment); p* – статистическая значимость отличий групп «после» друг от друга; при $p < 0,05$ различие средних считается статистически значимым.

Источник: составлено авторами на основании собственных данных исследования.

Проверка гипотез о различии средних показала, что группы «после эксперимента» и «до эксперимента» статистически значимо различаются только по показателю КЩФ ($p=0,009$) (рис. 1).

С учетом современных исследований [9-11] предполагается, что первичные изменения в метаболизме костной ткани играют важную роль на ранних стадиях некроза головки бедренной кости, однако причинно-следственная связь остаётся неясной.

Признанные показатели метаболизма костной ткани обычно делятся на три категории: маркеры костного обмена, гормоны, регулирующие метаболизм костной ткани, и общие биохимические маркеры [12]. Эти показатели дают представление о динамическом состоянии скелетной системы, отражая текущие метаболические процессы.

Щелочная фосфатаза сыворотки крови в основном вырабатывается костями и печенью и широко используется в клинической диагностике различных заболеваний. КЩФ играет важнейшую роль в биоминерализации и считается биологическим маркером формирования костной ткани.

КЩФ, присутствующая в остеобластах, поставляет фосфат для отложения гидроксиапатита и может снижать уровень пиррофосфата, тем самым способствуя росту костной ткани [13; 14]. Следовательно, при нормальной работе печени КЩФ может отражать активность остеобластов. В ретроспективном исследовании с участием 401 пациента с ОНФБ и 81 здорового человека у пациентов с остеонекрозом головки бедренной кости уровень щелочной фосфатазы в сыворотке крови был выше, чем у здоровых людей [15]. Схожие данные были получены во многих работах [16; 17]. К сожалению, причинно-следственные связи установить не удастся, что подтверждается и другими авторами [10; 11].

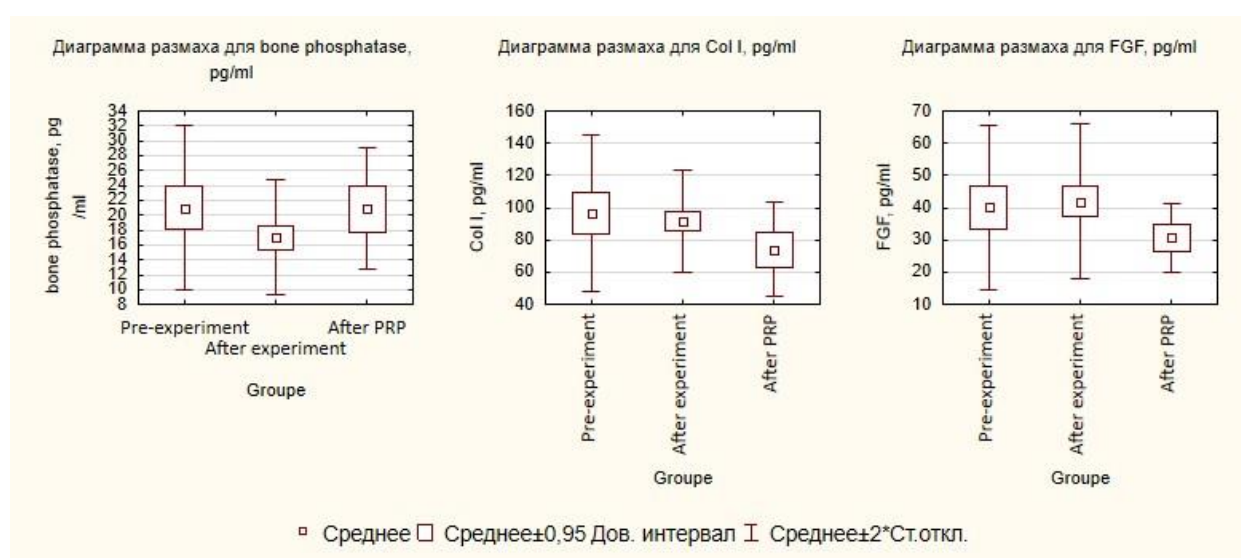
В целом, настоящее исследование подтверждает значимую динамику КЩФ как маркера костного обмена при моделировании болезни Легга - Кальве - Пертеса. В то же время значимых колебаний показателей коллагена I типа и ФРФ не фиксировали; возможно, это связано с главным ограничением в представляемой работе – количеством лабораторных животных.

Продукты распада коллагена I типа отражают интенсивность костной резорбции [10]. ФРФ играет важную роль в костном метаболизме и является ключевым координирующим фактором, влияющим на гомеостаз костной ткани [18; 19].

Ряд работ показал, что β -ФРФ, воздействуя на остеобласты в высоких концентрациях, не только эффективно стимулирует образование костной ткани посредством индукции циклооксигеназы-2 и выработки простагландинов, но и стимулирует резорбцию костной ткани, тогда как в низких концентрациях он воздействует непосредственно на зрелые остеокласты, вызывая резорбцию костной ткани [19; 20]. Кроме того, отмечали, что

стимуляция β -ФРФ вызывает высокий уровень экспрессии Sprouty2, подавляет экспрессию маркеров дифференцировки остеобластов, а также минерализацию матрикса остеобластов [21].

Предыдущие исследования показали, что β -ФРФ способен вызывать дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток костного мозга в липогенные клетки [22; 23]. Эта индукция приводит к отложению жира внутри кости, вызывая структурные изменения в кости, которые влияют на кровоснабжение и механические свойства, что в конечном итоге приводит к остеонекрозу [24; 25]. Эта многогранная роль делает β -ФРФ активным участником развития и прогнозирования остеонекроза, открывая потенциальные возможности для терапевтических вмешательств.



Диаграммы размаха для всех групп исследований по биомаркерам:

1 – до эксперимента (pre-experiment), 2 – после эксперимента (after experiment),

3 – после лечения (after PRP); bone phosphatase – костная фосфатаза,

Col I – коллаген I типа, FGF – фактор роста фибробластов, pg/ml – пг/мл

Источник: составлено авторами на основании собственных данных исследования.

Таким образом, колебания коллагена I типа и ФРФ все-таки отмечались на каждом этапе: «до эксперимента», «после эксперимента» и «после лечения». Важным моментом является снижение уровней этих маркеров резорбции костной ткани после применения обогащённой плазмы. Неяркая динамика колебания КЩФ, возможно, обусловлена необходимостью более длительного наблюдения и большего масштаба лабораторного эксперимента.

К сожалению, авторы не нашли статистически значимых подтвержденных исследований, которые бы отслеживали динамику костных маркеров резорбции после лечения обогащённой плазмой.

Заключение. В настоящий момент потребность в малоинвазивном внутрисуставном лечении остеохондропатии головки бедра велика и востребована, и не только в детском возрасте. Представленное исследование стало одним из шагов к подбору метода оценки подобной терапии. Эффективным, на взгляд авторов, является мониторинг результатов с помощью специфических биомаркеров. Перспективными показателями на эту роль являются: маркер остеобластической функции – костная щелочная фосфатаза; маркер костной резорбции – коллаген I типа и цитокин, отражающий гомеостаз костного ремоделирования – ФРФ. В настоящей работе эти биомаркеры-кандидаты продемонстрировали значимые динамические изменения после лечения, что позволяет использовать их для мониторинга.

Список литературы

1. Spasovski V., Srzentić Dražilov S., Nikčević G., Bašćarević Z., Stojiljković M., Pavlović S., Spasovski D. Molecular Biomarkers in Perthes Disease: A Review // *Diagnostics* (Basel). 2023. Vol. 13. № 3. P. 471. DOI: 10.3390/diagnostics13030471.
2. Шабалдин Н.А. Молекулярные основы этиологии и патогенеза болезни Легга-Кальве-Пертеса и перспективы таргетной терапии (обзор литературы). *Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста*. 2022. Т. 10. № 3. С. 295-307. URL: <https://journals.eco-vector.com/turner/article/view/101679>. (дата обращения 06.04.2025). DOI: 10.17816/PTORS101679.
3. Тарасов Н.И., Выборнов Д.Ю., Лозовая Ю.И., Трусова Н.И., Коротеев В.В., Семенов А.В., Кардаш Е.В. Современный взгляд на болезнь Легга-Кальве-Пертеса у детей // *Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии*. 2021. Т. 11. № 5. С. 147. <https://rps-journal.ru/jour/article/view/1191/1036>. (дата обращения 06.04.2025).
4. Floerkemeier T., Budde S., Willbold E., Schwarze M., Niehof M., Lichtinghagen R., Windhagen H., Weizbauer A., Reifenrath J. Do biomarkers allow a differentiation between osteonecrosis of the femoral head and osteoarthritis of the hip? A biochemical, histological and gene expression analysis // *Osteoarthritis Cartilage*. 2021. Vol. 29. № 11. P. 1614-1623. DOI: 10.1016/j.joca.2021.08.006.
5. Hsu S.L., Jhan S.W., Hsu C.C., Wu Y.N., Wu K.L.H., Kuo C.A., Chiu H.W., Cheng J.H. Effect of three clinical therapies on cytokines modulation in the hip articular cartilage and bone improvement in rat early osteonecrosis of the femoral head // *Biomed J*. 2023. Vol. 46. № 6. P. 100571. DOI: 10.1016/j.bj.2022.11.004.
6. Бунов В.С., Тепленький М.П., Олейников Е.В. Непосредственные изменения пульсового кровенаполнения в суставных концах подвздошной и бедренной костей после их

туннелирования при болезни Пертеса // Гений ортопедии. 2022. Т. 28. № 4. С. 475-480. DOI: 10.18019/1028-4427-2022-28-4-475-480.

7. Deng Z., Ren Y., Park M.S., Kim H.K.W. Damage associated molecular patterns in necrotic femoral head inhibit osteogenesis and promote fibrogenesis of mesenchymal stem cells // Bone. 2022. № 154. P. 116215. DOI: 10.1016/j.bone.2021.116215.

8. Сертакова А.В., Ульянов В.Ю., Садчиков Д.Д. Болезнь Легга-Кальве-Пертеса: модификация экспериментальной модели и её морфологические критерии // Acta Biomedica Scientifica. 2024. Т. 9. № 6. С. 218-227. DOI: 10.29413/ABS.2024-9.6.22.

9. Jia H.F., Tian Z.M., Liang X.Z., Li H.Z., Lu B.W., Zhang J., Li G. Bone biochemical markers, bone mineral density, and the risk of osteonecrosis of the femoral head: a Mendelian randomization study // BMC Musculoskelet Disord. 2024. Vol. 25. № 1. P. 996. DOI: 10.1186/s12891-024-08130-5.

10. Schini M., Vilaca T., Gossiel F., Salam S., Eastell R. Bone Turnover Markers: Basic Biology to Clinical Applications // Endocr Rev. 2023. Vol. 44. № 3. P. 417-473. DOI: 10.1210/endrev/bnac031.

11. Lu Y., Pei Y., Gao Y., Zhao F., Wang L., Zhang Y. Unraveling the genetic basis of the causal association between inflammatory cytokines and osteonecrosis // Front Endocrinol (Lausanne). 2024. № 15. P. 1344917. DOI: 10.3389/fendo.2024.

12. Koivula M.K., Risteli L., Risteli J. Measurement of aminoterminal propeptide of type I procollagen (PINP) in serum // Clin Biochem. 2012. Vol. 45. № 12. P. 920-927. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2012.03.023.

13. Makris K., Mousa C., Cavalier E. Alkaline Phosphatases: Biochemistry, Functions, and Measurement // Calcif Tissue Int. 2023. Vol. 112. № 2. P. 233-242. DOI: 10.1007/s00223-022-01048-x.

14. Полякова Ю.В., Папичев Е.В., Ахвердян Ю.Р., Гордеева С.Е., Сивордова Л.Е., Заводовский Б.В. Резкое снижение уровня щелочной фосфатазы как предиктор низкой эффективности антирезорбтивной терапии. IX Российский конгресс по остеопорозу, остеоартриту и другим метаболическим заболеваниям скелета с международным участием, 5-7 сентября 2024, Санкт-Петербург: сборник тезисов. С. S97. DOI: 10.14341/osteo2024271S.

15. Jia H., Tian Z.-ming, Liang X.-zhen, Li H.-zheng, Lu B.-wen, Zhang J., Li G. Bone metabolism in patients with osteonecrosis of the femoral head based on etiology and association research circulation osseous staging // Chin J Tissue Eng Res. 2024. Vol. 28. № 16. P. 2461-2466. DOI: 10.21203/rs.3.rs-3424835/v1.

16. Liu K., Wang K., Wang L., Zhou Z. Changes of lipid and bone metabolism in broilers with spontaneous femoral head necrosis // *Poult Sci.* 2021. Vol. 100. № 3. P. 100808. DOI: 10.1016/j.psj.2020.10.062.
17. Duan X., Xing F., Zhang J., Li H., Chen Y., Lei Y., Zhao Y., Cao R., Guan H., Kong N., Li Y., Wu Z., Wang K., Tian R., Yang P. Bioinformatic analysis of related immune cell infiltration and key genes in the progression of osteonecrosis of the femoral head // *Front Immunol.* 2024. № 14. P. 1340446. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1340446.
18. Lu Y., Pei Y., Gao Y., Zhao F., Wang L., Zhang Y. Unraveling the genetic basis of the causal association between inflammatory cytokines and osteonecrosis // *Front Endocrinol (Lausanne).* 2024. № 15. P. 1344917. DOI: 10.3389/fendo.2024.
19. Mossahebi-Mohammadi M., Quan M., Zhang J.S., Li X. Fgf signaling pathway: A key regulator of stem cell pluripotency // *Front Cell Dev Biol.* 2020. № 8. P. 79. DOI: 10.3389/fcell.2020.00079
20. Kawaguchi H., Chikazu D., Nakamura K., Kumegawa M., Hakeda Y. Direct and indirect actions of fibroblast growth factor 2 on osteoclastic bone resorption in cultures // *J Bone mineral Res Off J Am Soc Bone Mineral Res.* 2000. № 15. P. 466-473. DOI: 10.1359/jbmr.2000.15.3.466.
21. Taketomi T., Onimura T., Yoshiga D., Muratsu D., Sanui T., Fukuda T. Sprouty2 is involved in the control of osteoblast proliferation and differentiation through the FGF and bmp signaling pathways // *Cell Biol Int.* 2018. № 42. P. 1106-1114. DOI: 10.1002/cbin.10876.
22. Aguirre J.I., Leal M.E., Rivera M.F., Vanegas S.M., Jorgensen M., Wronski T.J. Effects of basic fibroblast growth factor and a prostaglandin E2 receptor subtype 4 agonist on osteoblastogenesis and adipogenesis in aged ovariectomized rats // *J Bone mineral Res Off J Am Soc Bone Mineral Res.* 2007. № 22. P. 877-888. DOI: 10.1359/jbmr.070313.
23. Song X., Li Y., Chen X., Yin G., Huang Q., Chen Y. bFGF promotes adipocyte differentiation in human mesenchymal stem cells derived from embryonic stem cells // *Genet Mol Biol.* 2014. № 37. P. 127-134. DOI: 10.1590/s1415-47572014000100019.
24. Lin X., Zhu D., Wang K., Luo P., Rui G., Gao Y. Activation of aldehyde dehydrogenase 2 protects ethanol-induced osteonecrosis of the femoral head in rat model // *Cell Prolif.* 2022. № 55. P. e13252. DOI: 10.1111/cpr.13252.
25. Gillet C., Dalla Valle A., Gaspard N., Spruyt D., Vertongen P., Lechanteur J. Osteonecrosis of the femoral head: lipotoxicity exacerbation in msc and modifications of the bone marrow fluid // *Endocrinology.* 2017. № 158. P. 490-502. DOI: 10.1210/en.2016-1687.