

ВОЗМОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМЫ В ЛЕЧЕНИИ ПЕРЕЛОМОВ И ДЕФЕКТОВ КОСТЕЙ

OPPORTUNITIES AND PROSPECTS FOR THE USE OF PLASMA ENRICHED IN PLATELETS IN THE TREATMENT OF FRACTURES AND BONE DEFECTS

Бурькин К.И. **Burykin K.I.**
Паршиков М.В. **Parshikov M.V.**
Ярыгин Н.В. **Yarygin N.V.**
Светлов Д. В. **Svetlov D.V.**
Говоров М.В. **Govorov M.V.**
Чемянов И.Г. **Chemyanov I.G.**
Просвирин А.А. **Prosvirin A.A.**

Кафедра травматологии, ортопедии
и медицины катастроф ФГБОУ ВО МГМСУ
им. А.И. Евдокимова Минздрава России,
г. Москва, Россия

Department of traumatology, orthopedics
and disaster medicine, A.I. Yevdokimov
Moscow State Medical and Dental University,
Moscow, Russia

Переломы и возникающие в результате их костные дефекты трудно поддаются лечению и не всегда позволяют достичь в конечном результате удовлетворительной функции поврежденного сегмента. Для оптимизации регенерации костной ткани и восстановления целостности кости разрабатываются различные техники консервативного и оперативного лечения. Одним из последних перспективных направлений в решении этого вопроса является применение обогащенной тромбоцитами плазмы (PRP).

Цель – изучить и оценить возможную перспективность применения обогащенной тромбоцитами плазмы в лечении переломов костей и восполнении дефицита костной ткани и имеющиеся на сегодняшний день технологии применения различных систем и имплантов для оптимизации регенерации костной ткани.

Материалы и методы. В ходе работы были использованы интернет-ресурсы PubMed, Elibrary, Cyberleninka.

Результаты. Проведен тщательный анализ отечественной и международной литературы (с 2015 по 2020 год), посвященной применению различных костных заменителей, а также обогащенной тромбоцитами плазмы в вопросе оптимизации регенерации костной ткани.

Заключение. Анализ изученных данных показал, что на сегодняшний день имеется достаточно много интересных, перспективных, научно обоснованных исследований авторов со всего мира в поддержку использования факторов роста для оптимизации регенерации костной ткани. Тем не менее, клиническую эффективность богатой тромбоцитами плазмы и факторов роста, полученных из крови, еще предстоит доказать. На сегодняшний день отсутствует единый протокол изготовления PRP. Это приводит к высокой гетерогенности исследований, искажает понятие об истинных свойствах тромбоцитов и ограничивает возможность применения обогащенной тромбоцитами плазмы. Вопрос применения PRP в лечении острой травмы как метод восполнения дефицита костной ткани в зоне перелома, как самостоятельный или вспомогательный элемент для реорганизации трансплантата различного генеза в зоне дефекта остается

Fractures and bone defects are difficult to treat and they don't get to achieve a satisfaction of the function injury limb. To optimize bone regeneration and recovery, various conservative and operative techniques are being developed for bone integrity and treatment. One of the last perspective directions is using of platelet-rich plasma (PRP).

Objective – studying the possible prospects for the use of enriched plasma platelets in the treatment of bone fractures and bone deficiency replacement tissue with use of available systems and implants for optimization of bone tissue recovery.

Materials and methods. Internet resources: PubMed, Abstract Book, Cyberleninka.

Results. A thorough analysis of domestic and international literature (2015-2020) on the use of various bone substitute, platelet-rich plasma, as well as modern technologies of using various systems and implants to optimize bone tissue regeneration.

Conclusion. After analysis of national and international literature, we concluded that there is a lot of interesting, promising researches of different authors from all over the world which support the using of growth factors for optimization of bone regeneration. However, the clinical effectiveness of platelet-rich plasma and blood-derived growth factors still have to be proved. To date, there is no any single protocol for PRP. This leads to a high heterogeneity of researches, distorts the concept of the true properties of platelets and limits the possibility of using enriched plasma platelets. The question of using PRP in the treatment of acute trauma as a method replacement of bone tissue deficit in the fracture zone, as an independent or auxiliary element for reorganizing a graft of various origins in the zone the defect remains open. It requires for systematization, common usage protocols, and further study.

Для цитирования: Бурькин К.И., Паршиков М.В., Ярыгин Н.В., Светлов Д. В., Говоров М.В., Чемянов И.Г., Просвирин А.А. ВОЗМОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМЫ В ЛЕЧЕНИИ ПЕРЕЛОМОВ И ДЕФЕКТОВ КОСТЕЙ //ПОЛИТРАВМА / POLYTRAUMA. 2020. № 3, С. 108-119.

Режим доступа: <http://poly-trauma.ru/index.php/pt/article/view/254>

DOI: 10.24411/1819-1495-2020-10039

открытым и требует систематизации, общих протоколов использования и дальнейшего изучения.

Ключевые слова: обогащенная тромбоцитами плазма; факторы роста; регенерация костной ткани; заменитель кости; PRP-терапия.

Key words: platelet-rich plasma; growth factors; bone regeneration; bone substitute; PRP therapy.

Лечение переломов костей скелета, в первую очередь многооскольчатых, вызывает большие трудности в вопросе достижения точной репозиции отломков и восстановления функции поврежденного сегмента и конечности в целом. Усложняет ситуацию наличие дефектов с дефицитом костной ткани в области перелома, значительно ограничивающее возможности достижения удовлетворительного результата. Для решения этих проблем, в частности восполнения данного дефицита и оптимизации репаративного процесса, учеными различных специальностей ведется поиск более совершенных методик остеосинтеза, новых композитных материалов, специализированных покрытий для имплантатов и т.д. Для того чтобы ответить на вопрос, как же сегодня возможно достичь полноценной регенерации костной ткани в зоне перелома в максимально короткие сроки, нами были проанализированы публикации за последние 5 лет (с 2015 по 2020 г.).

Цель — изучить и оценить возможную перспективность применения обогащенной тромбоцитами плазмы в лечении переломов костей и восполнении дефицита костной ткани и имеющиеся на сегодняшний день технологии применения различных систем и имплантов для оптимизации регенерации костной ткани.

Одним из направлений научной деятельности по изучению процесса костной регенерации в различных условиях явилось создание систем и имплантов, позволяющих за счет характерных свойств оптимизировать консолидацию и ремоделирование, в частности, возможность покрытия имплантов или трансплантатов, применяемых в остеосинтезе специальными материалами.

Так, по результатам экспериментального исследования Ахтямова И.Ф с соавт. (2016 г.) было выявлено, что использование конструкций с покрытием нитридами титана и гафния при интрамедул-

лярном остеосинтезе большеберцовой кости сопровождается формированием кортикальной пластинки с более высокой плотностью, чем в группе сравнения; выявлены изменения, характерные для дилатации сосудов в зоне травмы в раннем послеоперационном периоде, которые можно рассматривать как положительный момент в формировании первичной костной мозоли [1].

Исследователи из Университета Рочестера (штат Нью-Йорк, США) разработали надкостницу с использованием поликапролактоновых, коллагеновых и наногидроксиапатитовых композитных нановолокон (ТЕР). В бедренной кости мыши выполняли остеотомию с формированием продольного 4-миллиметрового дефекта. Для его устранения аллотрансплантат, обернутый листами биометрической надкостницы, закреплялся с помощью интрамедуллярной фиксации. Результатом лечения стало выраженное восстановление периостального слоя, ремоделирование аллотрансплантата по отношению к кости донора, заметное улучшение остеоинтеграции в зоне поврежденной надкостницы, что позволяет надеяться на перспективность дальнейшего использования выбранного подхода уже в клинической практике [2].

Также в последнее время проводится множество сравнительных исследований и поиск оптимального заменителя костной ткани, способного удовлетворить все требования в вопросе ее регенерации, однако результат не всегда оказывается положительным. Например, в Университетской клинике Берна (Швейцария) с целью оценки влияния трех типов костного заменителя из блоков, изготовленных из депротеинизированного минерала бычьей кости, бета-трикальцийфосфата и смеси альфа-ТСР и гидроксиапатита, провели работу по внедрению их в искусственно сформированные костные дефекты диафиза большеберцовой кости собак. В результате было выявлено, что поглощение биоматериала оставалось

минимальным на всех этапах исследования, и даже через 12 месяцев влияние всех его типов было незначительным и не способствовало формированию новой кости [3].

Особого внимания заслуживает ортофосфат кальция (трикальций фосфат) — неорганическое вещество, широко распространенное в природе, входящее в состав различных минералов, в том числе и гидроксиапатита, который, в свою очередь, является основным минеральным составляющим костей. Различные синтетические производные фосфата кальция на сегодняшний день являются самыми распространенными материалами, используемыми в качестве заменителя костной ткани, применяются повсеместно и являются предметом изучения многими исследователями по всему миру. Так, в иранском университете медицинских наук было проведено исследование (in vivo), изучающее влияние композитных материалов на основе трикальций фосфата (β -ТСР) и коллагена на способность формирования кости и использования его для восстановления дефектов. У новозеландских белых кроликов были созданы по 3 дефекта в черепе (8 мм в диаметре). Дефекты разделялись на группы: получающие лечение комбинацией коллагена и β -ТСР, только коллагена и группу сравнения без лечения. Результаты оценивались через 4 и 8 недель. При макроскопической оценке через 8 недель было выявлено что ни в одном из 3 дефектов не наступило полного заживления, но дефект, который получал коллаген/ β -ТСР, почти не отличался от окружающей костной ткани и не имел подвижности. Дефект, обработанный только коллагеном, имел более тонкую массу костной ткани по сравнению с коллаген/ β -ТСР. Гистологическая оценка группы коллаген/ β -ТСР показала к 4-й неделе формирование незрелой кости, а к 8-й неделе наблюдалось полное перекрытие дефекта новообразованной костью. В группе с

изолированным применением коллагена к 8-й неделе наблюдалось только небольшое образование кости, а большинство дефектов оставались пустыми. В группе без лечения к 8-й неделе всю площадь дефекта покрыла волокнистая ткань, и лишь по краям прослеживались признаки образования новой кости. Это исследование продемонстрировало, что комбинация коллаген/ β -TSP может иметь потенциал для использования в качестве заменителя кости в клинической практике. Однако возможности этого материала будут понятны при дальнейших исследованиях и анализе отдаленных результатов его применения [4].

Сложно возразить тому, что подходящий имплант должен иметь высокую биосовместимость, отсутствие иммунологических реакций, а также обладать свойствами остеоиндукции и остеокондукции. Помимо этого, наличие у импланта, например, антимикробных свойств является неоспоримым бонусом на пути к положительному результату. Примером успешного использования антимикробных свойств, в частности цинка, является исследование индийской школы биологических наук, в котором проведена работа по совмещению наногидроксиапатита и частиц оксида цинка (ZnO) и применению такой комбинации как костного трансплантата. Исследователи ставили перед собой задачу создать оптимальную структуру, уравновешивающую биосовместимость и остеорегенерацию. Биосовместимость разработанной модели на уровне *in vitro* оценивали путем культивирования клеток MG-63 и исследования влияния на жизнеспособность этих клеток, пролиферацию, адсорбцию белка, активность щелочной фосфатазы и биоминерализацию. С помощью различных биохимических тест-систем было выявлено 2-кратное увеличение жизнеспособности и пролиферации клеток, присутствие (ZnO) продемонстрировало выраженную антимикробную эффективность в исследованиях с грамотрицательными (*E. coli*) и грамположительными (*S. aureus*) бактериями. Авторами была определена оптимальная концентра-

ция ZnO, а именно 10 мас.%, что имело сбалансированные показатели механической прочности, антимикробного эффекта и биосовместимости. Применение такого биосубстрата в дальнейшем может являться перспективным в вопросе регенерации костной ткани [5].

Отдельное место в вопросе регенерации костной ткани занимают костные морфогенетические белки (BMP), непосредственно участвующие в регуляции сращения переломов. Эти белки играют основную роль в образовании и развитии костной и хрящевой ткани, дифференцировке остеобластов и построении тканей организма в целом [6]. С целью изучения и использования костных морфогенетических белков проводятся различные исследования, в которых изучается влияние последних на регенерацию. Например, исследователи из Национального университета Тайваня в 2016 г. разработали био-разлагаемую термочувствительную гидрогелевую систему в качестве носителя для доставки морфогенетического белка BMP на примере лечения дефектов бедренной кости кролика. Производилась остеотомия бедренной кости с формированием 10-миллиметрового дефекта. Бедро стабилизировалось пластиной из нержавеющей стали, а дефект заполнялся 2,3-мм имплантами, состоящими из аутокости и 1 мл разработанной гидрогелевой системы с добавлением и без добавления BMP белка. При добавлении к гидрогелевой системе белка BMP использовались различные его концентрации (от 5 мкг/мл до 20 мкг/мл) с целью определения наилучшей концентрации для достижения сращения. Результаты обработанных групп оценивались с помощью рентгенографии, гистологического окрашивания, микрокомпьютерной томографии (мкКТ) и биомеханического тестирования через 4, 8, 12 недель после хирургического вмешательства. В результате было отмечено успешное заживление костного дефекта и лучшее качество костной ткани в группах с добавлением белка BMP, причем тем выше была его концентрация, тем быстрее происходило сращение. Группа с использованием

только аутогенного трансплантата показала самые низкие результаты по времени регенерации, а группы сравнения и изолированного использования гидрогелевой системы вовсе остались без признаков сращения. Исследуемая гидрогелевая система оказалась достаточно безопасной для широкого применения в клинической практике и, по мнению авторов, может являться перспективной альтернативной стратегией в вопросе восполнения дефицита костной ткани [7].

Еще одна подобная гибридная система доставки белка BMP в зону дефекта была создана в институте биоинженерии и бионауки им. Паркера (США) в 2018 году. В основу легло использование нановолокон с альфа-альгинатом. В бедренной кости крыс выполняли 8-миллиметровые дефекты, которые заполнялись предварительно сформированными в трубу трансплантатами из нановолокна с альфа-альгинатом. Конструкция стабилизировалась с помощью крепежной пластины. Трансплантат был пропитан белком BMP или оставался в исходном состоянии как группа сравнения. Заживление контролировали с помощью рентгенографии и гистологии через 2, 4, 8 и 12 недель от момента операции. Результатом исследования стали следующие данные: имеющаяся гибридная система доставки привела к большему образованию кости и улучшению биомеханических свойств на разрушение при кручении по сравнению с аутогенным трансплантатом через 12 недель, однако плотность новообразованной кости в группе с использованием гибридной системы была ниже, чем в контрольной группе на всех этапах исследования; тем не менее, коэффициент жесткости в группе с гибридной системой превышал показатели контрольной группы [8].

Полезные свойства костных морфогенетических белков (BMP) как факторов роста, способных воздействовать на формирование кости и хряща, давно известны и научно доказаны. На сегодняшний день их производят с помощью технологий генной инженерии, что требует должного оборудования, специализированных лабораторий, под-

готовленных сотрудников, а также юридических прав для использования и работы в этой области. Все это, несомненно, требует соответствующих экономических затрат и создает дополнительные трудности для широкого применения и экономической выгоды. Кроме этого известно, что мутации в белках BMP и их ингибиторах обуславливают ряд болезней человека, в том числе развитие онкологических заболеваний. Все это требует внимательного и осторожного подхода к использованию белков этой группы [9].

Адекватное кровоснабжение зоны перелома — это ключ к успешному сращению и скорейшему восстановлению поврежденного сегмента. Поэтому вопрос образования кровеносной сети путем стимуляции ангиогенеза в зоне перелома или дефекта стоит как никогда остро. Появились данные, что биоматериалы на основе силикатов могут вызывать неоваскуляризацию посредством стимулирования фактора роста эндотелия сосудов и, следовательно, способствовать регенерации кости. Так, в корейском институте инженерии регенерации тканей (ITREN) было разработано гидрогелевое волокно с силикатной оболочкой для нанесения его на биополимер с целью улучшения его биологических свойств. Высвобождение силикат-иона высокоэффективно в стимуляции экспрессии РНК ангиогенных маркеров (VEGF, KDR, eNOS, bFGF и HIF1- α) в эндотелиальных клетках. В исследованиях *in vivo* на крысах с введением разработанного биополимера в подкожно-жировую клетчатку было выявлено более выраженное образование кровеносных сосудов вокруг биополимера с силикатной оболочкой, чем без силикатов. При имплантации в искусственно сформированный дефект черепа крысы группа с применением силиката демонстрировала значительное повышение образования кости по объему и по плотности, а также наличие сопутствующего признака проангиогенеза в сравнении с контрольной группой. Эта работа может свидетельствовать о возможности восстановления поврежденной кости путем локального стимулирования ангиогенеза и

является перспективным направлением в вопросе регенерации костной ткани [10].

Продолжаются поиски и разработки различных дисперсных систем для лучшего заполнения костного дефекта. Так, исследователями из Чешского Университета ветеринарных и фармацевтических наук Srnc R., Skoric M. (2018 г.) был использован синтетический гидропептид-гель, обогащенный поликапролактоновыми нановолокнами, с целью заполнения дефекта кости. Опыт проведен *in vivo* на крысах Вистар. В диафизе бедренной кости крыс были созданы единичные сквозные дефекты диаметром 5 мм в обеих нижних конечностях. В одной из них дефект был заполнен гидропептидным гелем, дефект на другой конечности оставался без лечения. Результаты оценивались через 2, 4 и 6 недель после хирургического вмешательства. Различия между контрольным и экспериментальным дефектами кости наблюдалось только на стадии заживления, через две недели после имплантации, когда была обнаружена тенденция к большему образованию новых костных трабекул в дефекте, обработанном композитным гидропептидгелем. В экспериментальной и контрольной группах на более поздней стадии заживления (дефект 4-6 недель) процесс заживления и ремоделирования трансплантата не имел заметных морфологических различий. Этот факт может быть преимуществом, особенно на ранней стадии регенерации костной ткани [11].

Сегодня по всему миру продолжается поиск материалов, способных полноценно, в полной мере стать лучшими в вопросе восстановления дефектов костной ткани. Идеальный имплант должен иметь множество важных свойств: остеоиндуктивность, остеокондуктивность, иммуногенность, биосовместимость, безопасность и т.д. Однако, в связи со сложностью разрабатываемых технологий, отсутствием опыта их использования и экономической составляющей вопроса, большинство из них остаются на уровне лабораторных экспериментальных исследований и пока не возможны для широкого применения.

Поэтому другим приоритетным направлением научных изысканий в настоящее время является оптимизация репаративных процессов в зоне перелома с помощью обогащенной тромбоцитами плазмы (PRP), а также изучение ее возможностей в различных комбинациях с костными трансплантатами и композитными материалами.

На сегодняшний день известно, что в тромбоцитах есть множество активных веществ, которые могут участвовать в восстановлении тканей путем стимуляции таких процессов как хемотаксис, пролиферация и дифференцировка клеток, ангиогенез, иммуномодуляция, антимикробная активность и ремоделирование. Наиболее интересными к изучению из этих активных веществ, называемых иначе факторами роста, являются такие как: тромбоцитарный фактор роста (PDGF), фактор роста фибробластов (FGF), трансформирующий фактор роста (TGF- β 1), инсулиноподобный фактор роста (IGF-1), факторы роста сосудов и эндотелия (VEGF, VGF), цитокины (IL-1, IL-6, TNF- α) и т.д. Есть данные, что PDGF, FGF, TGF- β 1, IGF-1 способны стимулировать пролиферацию, миграцию и дифференцировку по остеогенному пути мезенхимальных стволовых клеток, стимулировать рост остеобластов и синтез ими межклеточного матрикса. Также известно, что TGF- β 1 способен подавлять активность остеокластов, предотвращая резорбцию новообразованной кости [12, 13]. Полезные свойства факторов роста, способствующие регенерации тканей в организме, сложно игнорировать. Врачи разных специальностей по всему миру давно и успешно применяют PRP для лечения остеоартритов, поражений сухожильно-связочного аппарата, в косметологии, стоматологии и т.д. Данных о применении PRP в лечении переломов и восстановлении дефектов костей значительно меньше. В последнее время увеличилось число исследований, изучающих свойства PRP в комбинации с различными композитными материалами или трансплантатами для лечения дефектов кости.

Так, в Национальном медицинском университете им. А.А. Бого-

мольца в первой группе животных (кроликов) в зону дефекта костной ткани (2 мм) большеберцовой кости имплантировали биостекло. Во второй группе кроликов проводилась имплантация в зону аналогичного дефекта биостекла в комбинации с обогащенной тромбоцитами плазмой. Сроки наблюдения составили 4 и 12 недель. Для морфологических исследований выделяли фрагменты костей голени кроликов с дефектами и изготавливали из них гистологические срезы толщиной 7-9 мкм. Результатом гистологических исследований образцов стали данные о повышении образования костной ткани в дефекте на 9 % при использовании плазмы, обогащенной тромбоцитами, по сравнению с контрольной группой. Отмечено повышение остеоиндуктивного эффекта, а также выявлено противовоспалительное действие в зоне имплантации [14].

В Институте скорой помощи им. Н.В. Склифосовского провели эксперимент, в котором было изучено действие богатой тромбоцитами плазмы (БоТП) в сочетании с коллагеном на процесс регенерации кости в дистальном отделе бедра крысы. Аллогенный коллаген получали из хвостов крыс, преобразуя его в гель. Богатую тромбоцитами плазму крыс заготавливали по методу Messora. Концентрация тромбоцитов в полученной БоТП составляла $1100-1300 \times 10^3/\text{мкл}$. В мышечке бедра формировали дефект диаметром 2 мм. В 1-й группе (сравнения) после нанесения костного дефекта рану ушивали без заполнения ее пластическим материалом. Во 2-й группе костный дефект заполняли крысиным коллагеном (объем – 150-200 мкл). В 3-й группе для заполнения костного дефекта использовали смесь крысиного коллагена/аллогенной БоТП в соотношении 1 : 1. Динамику восстановления кости в области дефекта исследовали на гистологических препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином и по Ван-Гизону. Анализируя полученные результаты, авторы пришли к выводу, что использование БоТП в комбинации с коллагеном высвобождает ростовые факторы из тромбоцитарных гранул, что по-

зволяет в 2 раза сократить срок репарации костного дефекта у крыс, а также применение БоТП снижает интенсивность воспалительной реакции в зоне дефекта кости [15].

Группой исследователей из Медицинского университета Киото (Япония, 2018 г.) проведено исследование, целью которого было изучение влияния PRP в сочетании с губкой из желатинового β -трикальцийфосфата (β -TCP) на образование кости в дефекте тела поясничного позвонка крысы. В теле поясничного позвонка каждой крысы был создан дефект критического размера. Животные были разделены на группы. Первая группа получила лечение β -TCP и PRP, вторая группа – желатиновую губку с фосфатно-солевым буфером, третья группа осталась без лечения. Через 4, 8 и 12 недель с момента оперативного вмешательства проводилась оценка результатов. В группе PRP наблюдался значительный рост костной ткани по сравнению с группой без PRP. Гистологическое исследование показало дополнительный рост костной ткани в β -TCP и PRP по сравнению с группой губок без PRP. Можно полагать, что в этом исследовании PRP смог проявить свои остеогенные свойства в сочетании с отличной остеointегративностью трикальцийфосфата. Вдобавок биомеханические тесты показали повышенную жесткость тел позвонков в группе с PRP [16].

Продолжая обсуждение влияния PRP на регенерацию костной ткани, можно привести еще два исследования из Университета естественных наук в Польше. Сначала был проведен эксперимент с использованием аутологичной PRP при лечении искусственных дефектов бедренных костей кроликов. В обеих бедренных костях каждого кролика были сформированы монокортикальные дефекты 4 мм. Дефекты в левых нижних конечностях оставались интактными и представляли группу сравнения, а справа заполнялись обогащенной тромбоцитами плазмой, приготовленной путем стандартизированного центрифугирования и активации тромбоцитом. Каждые 7 дней с момента операции проводилась рентгенография исследуемых сегментов, а весь

эксперимент завершился спустя 8 недель. Результаты оценивались по рентгенологическим, биохимическим, гистологическим и биомеханическим характеристикам. Анализируя полученные данные, авторы отмечали признаки увеличения объема костной ткани в области дефекта в экспериментальной группе, но биомеханические тесты свидетельствовали о низкой плотности сформированной костной мозоли. Количество фракции ткани низкой плотности значительно превышало количество ткани высокой плотности.

Этими же авторами был проведен другой, но похожий эксперимент, в котором оценивалось влияние аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами, на ремоделирование гидроксиапатита трикальцийфосфата при экспериментальных дефектах бедренных костей кроликов. Животные были разделены на две группы. В обеих группах в каждой из бедренных костей формировался монокортикальный, диафизарный дефект диаметром 4 мм. В первой группе дефекты с одной стороны оставались интактными, а с другой заполнялись имплантом из трикальцийфосфата (80 %), гидроксиапатита (20 %). Во второй группе одна сторона также оставалась интактной, тогда как с противоположной стороны дефекты заполнялись трикальцийфосфатом (80 %), гидроксиапатитом (20 %) в комбинации с 0,7 мл аутологичной плазмы, богатой активированными тромбоцитами (PRP). Эксперимент также длился 8 недель, после чего проводилась оценка результатов по рентгенологическим, гистологическим и биомеханическим свойствам. Рентгенологическая и гистологическая оценка не показали положительного эффекта PRP в сочетании с заменителем кости по сравнению с заполнением дефектов только материалом для замены костей. Однако PRP в сочетании с гидроксиапатитом трикальцийфосфатом оказывал положительное влияние на новообразованную кость, увеличивая ее плотность [17, 18].

При анализе результатов этих исследований возникает справедливый вопрос: почему при использовании одинаковых субстратов экс-

перимента, обогащенной тромбоцитами плазмы и трикальцийфосфата в итоге мы видим, что в одном случае PRP и костный заменитель работает, в другом — все наоборот? Конечно, исследования похожи только на первый взгляд. Необходимо учитывать различие и в моделях эксперимента, и в виде и концентрациях трикальцийфосфата, и, конечно, в способе приготовления PRP, общих условиях проведения эксперимента и других нюансах.

На кафедре травматологии и ортопедии Турецкого медицинского университета проведено исследование, изучающее влияние PRP на заживление перелома. Моделью эксперимента были крысы, которых заведомо разделили на 3 равные группы. В бедренных костях крыс из первой и второй групп путем остеотомии формировался монокортикальный дефект. Животные первой группы оставались без лечения. Вторая группа получала PRP. Третья группа изначально не подвергалась остеотомии и служила группой сравнения для проведения сравнительных биомеханических тестов. PRP готовили путем забора венозной крови и после добавления цитрата натрия в качестве антикоагулянта, однократного центрифугирования в течение 8 минут при 1800 об/мин. После забора обогащенной фракции тромбоциты подвергались активации раствором хлорида натрия и вводились в дефект. Через 4 недели производили гистологическую оценку результатов и через 9 — биомеханическую, сравнивая исследуемые группы с контрольной, не подвергшейся остеотомии. В результате, на основании гистологической картины, было выявлено значительно более полноценное заживление костного дефекта в группе с применением PRP, чем в группе без лечения. Также к 9-й неделе биомеханические характеристики новообразованной кости были объективно лучше по сравнению с группой, где инъекция плазмы не проводилась [19].

В Кубанском аграрном университете совместно с Кубанским государственным медицинским университетом проведены два исследования, изучающие свойства

PRP по отношению к регенерации костной ткани. Сначала проведен эксперимент, в котором оценивалась роль PRP-терапии в стимуляции остеорегенерации. Животным под общим наркозом формировали открытый поперечный перелом средней трети диафиза левой большеберцовой кости, после чего производили репозицию и фиксацию перелома пучком из четырех спиц Киршнера. Для приготовления обогащенной тромбоцитами плазмы применялась центрифуга с частотой вращения 3500 об/мин и пробирки с сепарационным гелем. Животным 1-й группы на 5-е сутки после остеотомии в область перелома однократно вводилась обогащенная тромбоцитами плазма. У животных 2-й контрольной группы сращение происходило без воздействия каких-либо препаратов. Кроликов выводили из эксперимента на 30-е сутки. Сравнение результатов в группах осуществлялось на 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30-е сутки с момента введения животным опытной группы обогащенной тромбоцитами плазмы. Результаты исследования оценивались по гистологическим и рентгенологическим признакам. В группе животных, получавших лечение обогащенной тромбоцитами плазмой, выявлено сокращение времени заживления сформированного дефекта кости на 8-10 %.

Далее был проведен анализ результатов лечения 16 женщин с переломами дистального метаэпифиза лучевой кости. Отмечено, что после проведения A-PRP-терапии динамика купирования клинических и рентгенологических проявлений перелома была более выражена у пациенток исследуемой группы ($n = 6$), чем в контрольной группе ($n = 10$). По результатам исследования отмечено сокращение сроков консолидации переломов на 3-4 суток, что составило $9,5 \pm 1,1$ % от среднего времени консолидации перелома пациенток контрольной группы. Достоверно определяемые изменения костной ткани в виде рентгенологических признаков сращения обнаруживались к 20-м суткам, мягкая костная мозоль на фоне стимуляции репаративного остеогенеза обогащенной тромбоцитами плазмы

становилась рентгенконтрастной к 20-м суткам [20, 21].

В Университетской клинике им. Генриха Гейне (Германия) проведено исследование по изучению свойств богатой тромбоцитами плазмы в сочетании с аутотрансплантатом при восстановлении дефекта диафиза лучевой кости на модели кролика. Две группы, одна из которых с применением аутотрансплантата и PRP, другая — только аутотрансплантата. При гистологической и рентгенографической оценке подтвердилось доминирующее превосходство обогащенной тромбоцитами плазмы по сравнению с контрольной группой [22].

В центральном институте ортопедии г. Пекин (Китай) провели эксперимент по изучению комбинированного действия сульфата кальция (CS) и богатой тромбоцитами плазмы (PRP) на восстановление дефекта длинных костей. Моделью эксперимента служил дефект (12 мм) в лучевой кости кролика, выполненный с помощью остеотомии. Кроликов разделяли на 4 группы. Первая группа получала лечение комбинацией CS/PRP, вторая группа — CS, третья — PRP, и четвертая оставалась интактной, как группа сравнения. PRP готовили из аутологичной крови с использованием двухстадийного процесса центрифугирования. Для этого 3 мл периферической крови собирали у каждого кролика в пробирки. В качестве антикоагулянта использовали этилендиаминтетрауксусную кислоту. Кровь сразу же центрифугировали при 1130 об/мин, чтобы отделить эритроциты от тромбоцитов и плазмы. Далее слой, состоящий из тромбоцитов и плазмы, собирали и снова центрифугировали при 1130 об/мин для осаждения тромбоцитов. Полученная концентрация тромбоцитов в 8-10 раз превышала физиологические уровни. Рентгенологические, гистологические результаты оценивались через 10 недель с момента имплантации. В результате восстановления дефекта было выявлено только в группе CS/PRP, в группе с изолированным применением CS или PRP, несмотря на образование небольшого количества костной мозоли, сращение не произошло [23].

Сульфат кальция, не имеющий свойств остеоиндукции, но обладающий хорошей остеоинтеграционной способностью в сочетании с PRP, имеющей остеогенные свойства, вполне может претендовать на удачную модель для восполнения костного дефицита. Но почему применение изолированного PRP в данном эксперименте не дает ожидаемого эффекта, если на примере других вышестоящих исследований мы можем наблюдать положительный результат? Учитывая, что исследования выполнены разными авторами и при абсолютно разных условиях, стоит обратить внимание на то, как разнятся протоколы получения и применения PRP. Это определенно мешает дать адекватную сравнительную оценку исследованиям, чтобы глобально оценить роль обогащенной тромбоцитами плазмы.

Исследователями из Университетской больницы Александруполиса (Греция) был проведен эксперимент по оценке влияния аутологичной богатой тромбоцитами плазмы (PRP) в сочетании с ксеногенной деминерализованной костной матрицей (DBM) на заживление дефекта критического размера локтевой кости (в 2-2,5 раза больше диаметра локтевой кости) у новозеландских белых кроликов. У каждого животного хирургическим путем был создан односторонний дефект локтевой кости критического размера, а контралатеральная конечность осталась неповрежденной. Испытуемые кролики были разделены на 3 группы. В первой группе (А) при лечении дефекта использовали только PRP. Вторая группа (В) получала PRP в сочетании с деминерализованным ксеногенным (человеческим) костным матриксом (DBM). Третья группа (С) оставалась без лечения. PRP готовили по протоколу коммерческого производителя (данные о скорости и времени центрифугирования не раскрываются). Все опытные животные подвергались рентгенологической оценке передних конечностей сразу после операции, а также в послеоперационном периоде на 4-й и 12-й неделе. По завершению эксперимента проводился гистологический и биомеханический анализ. Группа

В имела значительно более высокие радиологические и гистологические показатели, чем группы А и С. Дефекты в группе В были значительно заполнены новообразованной костью, в то время как в группах А и С образование новой кости было минимальным или отсутствовало. При макроскопическом исследовании только образцы в группе В показали соединение кости. Несмотря на это, биомеханическая оценка обработанных и интактных контралатеральных конечностей в группе В показала снижение плотности кости в экспериментальной конечности. Полученные результаты заставляют задуматься о качестве новообразованной кости и оправданности данного метода [24].

В университетской клинике Цзиньинь (Китай) проведен эксперимент по остеоинтеграции децеллюляризованного костного матрикса в сочетании с PRP-терапией при дефекте критического размера лучевой кости кролика. Для этого был создан 15-миллиметровый дефект лучевой кости с удалением надкостницы с обоих концов дефекта для предотвращения перистального окостенения. Децеллюляризованный костный матрикс (DBM) был заранее подготовлен из бедренных костей свиней с последовательной ультразвуковой обработкой, денатурацией белка, лизисом клеток и лиофилизированием. PRP изготавливался путем поэтапного центрифугирования крови кролика. После активации цитратом натрия производилось первичное центрифугирование в течение 16 минут 2000 об/мин для удаления эритроцитарной массы, затем 12 минут 1500 об/мин для получения осадка тромбоцитов. Кролики были разделены на три экспериментальные группы. Первая группа оставалась без лечения, вторая получала только DBM, и третья — комбинацию DBM с PRP. Имплантаты были помещены в дефект и подшиты к мышечной фасции без дополнительной фиксации. Результаты оценивались через 4, 8, 12 недель с момента имплантации. Сравнивая полученные рентгенологические данные к 12-й неделе после имплантации, авторы увидели, что в группе, которая не получа-

ла лечение, и группе с использованием только DBM не выявлено каких-либо значимых признаков соединения костей, и неудачная остеоинтеграция была очевидна. В группе с комбинированным использованием PRP-терапии уже к 8-й неделе наблюдалась реконструкция трансплантата. Гистологическая оценка подготовленных препаратов группы без лечения к 12-й неделе показала лишь проявления остеохондроза в зоне перелома. В группе DBM поверхность трансплантата была покрыта большой массой волокнистой соединительной ткани, без четкой визуализации кортикального слоя. В группе с комбинированным применением PRP поверхность трансплантата была покрыта кортикальной костью, аналогичной естественной структуре кортикала лучевой кости. Авторы посчитали эти наблюдения наиболее близкими к естественной регенерации кости, что может свидетельствовать о положительных эффектах PRP и успешном завершении эксперимента [25].

Подобное сравнение влияния богатой тромбоцитами плазмы и деминерализованного костного матрикса на критические дефекты кости крысы было проведено медицинским университетом Хаджеттепе (Турция). Созданные дефекты лучевой кости заполнялись комбинацией PRP и деминерализованного костного матрикса (DBM), PRP и DBM в чистом виде, по отдельности, а также изучалась группа без лечения. Эксперимент заканчивался к 10-й неделе с момента имплантации. При создании PRP кровь после активации цитратом натрия подвергалась центрифугированию при 1800 об/мин в течение 10 мин. Затем, после удаления нижнего слоя проводилось второе центрифугирование при 4000 об/мин в течение 7 минут. Нижний слой, содержащий большое количество тромбоцитов, забирался, а верхний, где тромбоцитов было меньшее количество, удалялся. Радиологическая оценка полученных результатов показала, что оссификация была наиболее полноценной в группе PRP, за которой следовала группа DBM. Это подтверждалось и в гистопатологических исследованиях [26].

При анализе результатов этих относительно одинаковых исследований, посвященных комбинации PRP и DBM, возникает вопрос: почему результатом одного является доминирующая эффективность PRP в комбинации с DBM, а в другом изолированное применение PRP более эффективно, нежели его применение совместно с деминерализованным костным матриксом? Возможно, ответом на него является разносторонний подход к выполнению исследования, а также, как ранее уже отмечалось, условия и ход всего испытания. Большое расхождение в результатах, полученных разными авторами при исследовании одного и того же заменителя кости, возможно, вызвано отсутствием универсального стандарта в использовании заменителей костной ткани, а также, вероятно, различные протоколы создания PRP могут влиять на эффективность и количество высвобождаемых факторов роста и их дальнейшую роль в процессе регенерации.

Мировое сообщество не ограничивается исследованиями свойств PRP в опытах на животных. В связи с тем, что получение и приготовление PRP не требует высокого технического обеспечения, уже сегодня некоторые врачи в своих клиниках с помощью обогащенной тромбоцитами плазмы пробуют лечить различные переломы костей человека. Так, например, в Индии с целью оценить роль богатой тромбоцитами плазмы в процессе регенерации костной ткани проведено исследование, в котором участвовали 72 пациента с диафизарными переломами бедренной кости. Больные были разделены на группы, в одной из которых выполнялся интрамедуллярный остеосинтез бедренной кости в сочетании с введением обогащенной тромбоцитами плазмы в зону перелома, и группу, в которой выполнялся только интрамедуллярный остеосинтез. Для приготовления PRP проводился забор 70 мл венозной крови и после добавления антикоагулянта проводился цикл центрифугирования 2000 об/мин 10 мин. После отделения нижнего слоя с эритроцитами проводилось повторное центрифугирование 2800 об/мин в течение

10 минут. PRP активировали аутологичным тромбином и с помощью шприца вводили в место перелома. Результаты исследования оценивали только по рентгенологическим признакам, проводя оценку соотношения естественного кортикала с кортикалом в зоне костной мозоли. Признаки рентгенологического сращения не наблюдались ни у одного пациента до начала 4-го месяца. К 6-му месяцу все больные имели рентгенологические признаки консолидации. На протяжении всего периода авторы не отмечали статистически значимых различий между сравниваемыми группами и пришли к выводу, что PRP не влияет на заживление перелома бедренной кости при комбинации с закрытым интрамедуллярным остеосинтезом и может обеспечивать лишь эффект искусственной гематомы на начальной стадии сращения. Обсуждая результаты своего исследования, они предположили, что эффективность PRP может быть слишком слаба, чтобы вызвать формирование кости в дефекте с низкой восстановительной способностью. А положительный результат в большинстве исследований на животных связан с наличием дефектов в хорошо кровоснабжаемой губчатой кости, при этом комбинированное использование с аутотрансплантами может иметь дополнительный остеогенный эффект [27].

Также в Индии было проведено другое исследование, в котором пациенты с замедленно консолидирующимися переломами различных (голень, бедро, плечо, предплечье) длинных костей скелета (94 пациента) получали терапию обогащенной тромбоцитами плазмой. В зону перелома вводилось 15-20 мл PRP (> 2 000 000 тромбоцитов/мкл). Рентгенологическая оценка проводилась каждый месяц. В результате к 4-му месяцу 82 пациента из 94 имели достоверные признаки консолидации. Остальные 12 не проявили никаких признаков образования костной мозоли и были признаны неудачными [28]. Сложно дать адекватную оценку этому исследованию в связи с его высокой неоднородностью, но возможно предположить, что консолидация переломов у пациентов, включен-

ных в это исследование, могла произойти за счет действия факторов роста тромбоцитов, примененных в лечении.

Специалистами из Египта проведена попытка использования обогащенной тромбоцитами плазмы в вопросе лечения переломов шейки бедра. В исследование были включены 60 пациентов, которые были разделены на 2 группы: первая получала лечение в виде остеосинтеза шейки бедренной кости классическим способом тремя канюлированными винтами; вторая группа получала лечение в виде аналогичного остеосинтеза винтами и PRP терапии. В результате 53 пациента достигли достоверной консолидации перелома: 25 пациентов в группе без PRP и 28 в группе с PRP. У 3 развился аваскулярный некроз головки бедренной кости (у 2 первой группы и 1 – второй). Шести пациентам потребовалась ревизионная операция. Хотя статистический результат и показал, что среднее клиническое и рентгенографическое время консолидации перелома в группе с применением PRP было ниже, чем в группе без PRP, на основании результатов исследования можно судить, что риск несращения и развития аваскулярного некроза после остеосинтеза шейки бедренной кости существенно не изменился. Применение PRP не показало ожидаемого положительного эффекта [29].

В Иранском университете медицинских наук проведено исследование по улучшению функциональных результатов после переломов лучевой кости в типичном месте. В эксперименте участвовали 30 пациентов, половине из которых после закрытой репозиции под рентгенологическим контролем, чрескожно в область лучезапястного сустава вводилась обогащенная тромбоцитами плазма. Результаты оценивались через 3 и 6 месяцев по шкале боли и объема движений в суставе. Результат показал снижение боли и повышение объема движений в группе с использованием PRP [30].

Несмотря на описанный положительный результат применения PRP в лечении переломов у пациентов в приведенных выше исследованиях, невозможно адек-

ватно оценить роль обогащенной тромбоцитами плазмы. Мы имеем слишком мало доказательных данных, чтобы рассматривать свойства тромбоцитов как средство, способное надежно оптимизировать регенерацию кости. Видимо, нам еще рано применять PRP для лечения переломов наших пациентов.

Для того чтобы с уверенностью обладать методикой использования обогащенной тромбоцитами плазмы, необходимо иметь полное представление о свойствах каждого из имеющихся факторов роста, влияющих на регенерационную способность. Необходимо также понимать, как приготовить PRP, чтобы максимально раскрыть свойства тромбоцитов, какое вещество для активации лучше использовать, в какой период консолидации перелома факторы роста смогут сполна раскрыть свой потенциал. Для ответа на эти и многие другие вопросы нами рассмотрены несколько работ, конкретно изучающих свойства обогащенной тромбоцитами плазмы *in vitro*.

Этап активации перед введением PRP включен во многие используемые протоколы обычно путем добавления тромбина и/или хлорида кальция (CaCl_2), но некоторые врачи предпочитают вводить PRP в его покоящей форме, полагаясь на спонтанную активацию тромбоцитов, происходящую после воздействия к природному коллагену, присутствующему в соединительной ткани [31].

На кафедре ортопедической хирургии Корейского медицинского университета (Республика Корея) провели оценку кинетики высвобождения цитокинов (факторов роста) в плазме, обогащенной тромбоцитами (PRP), в зависимости от различных протоколов активации. Для приготовления PRP кровь забиралась у 14 клинически здоровых пациентов и далее, следуя первому протоколу (А), подвергалась однократному центрифугированию при 900 g в течение пяти минут и – протоколу с двойным центрифугированием – при 900 g в течение пяти минут и затем 1500 g в течение 15 минут (В). Оба PRP были активированы по одному из трех протоколов активации: без активации,

активация только с помощью кальция (Ca), а также кальция (Ca) с низкой дозой тромбина (50 МЕ на 1 мл PRP). Кинетику высвобождения цитокинов оценивали, изучая концентрации PDGF, TGF, VEGF, FGF, IL-1 и MMP-9 с помощью иммуоферментного анализа. В результате было выявлено, что концентрация цитокинов, высвобождаемых из PRP, изменялась во времени и зависела от различных протоколов активации. Так, при активации с помощью (Ca) при протоколе (А) отмечалось повышение концентраций (VEGF, FGF и IL-1) по сравнению с протоколом (В). При активации (Ca/тромбин) и при протоколе (А), и при (В) отмечалось высокое количество (PDGF и VEGF), а концентрации (TGF и FGF) оставались на низком уровне. Кроме того, при активации (Ca/тромбин) общее высвобождение цитокинов оставалось на терапевтическом уровне до 7 дней. Исходя из этого, можно полагать, что различие в приготовлении PRP и способе активации оказывает непосредственное влияние на качество исходного продукта и, следовательно, на эффективность регенеративных свойств [32].

Еще одно исследование, изучающее свойства PRP в зависимости от способа активации, проведено в Итальянском институте ортопедии. Активацию PRP, изготовленную по единому протоколу, осуществляли путем добавления (10 % CaCl), (10 % аутологичного тромбина), (10 % смеси CaCl_2 + тромбина) и (10 % коллагена типа I). Через 30 минут и 1, 2 и 24 часа после активации проводили иммуоферментный анализ полученных образцов на высвобождение VEGF, TGF-1, PDGF-AB, IL-1 и TNF- α . В результате было выявлено, что PRP, активированный коллагеном типа I, приводит к общему снижению высвобождения факторов роста по сравнению с другими активаторами. При этом все активаторы приводят к немедленному высвобождению большого количества PDGF и TGF- β 1, и их показатели остаются стабильными на протяжении первого времени. А вот (VEGF), напротив, показал тенденцию к увеличению своей

концентрации с 30 минут вплоть до 24 часов. Все это в очередной раз подтверждает, что метод активации обогащенной тромбоцитами плазмы значительно влияет на время высвобождения и количество образовавшихся факторов роста, а также оказывает непосредственное влияние на результат лечения [33].

В Корейском университете Чосон (Республика Корея) проведена оценка влияния факторов роста фибрина, обогащенного тромбоцитами (PRF), на пролиферацию и дифференцировку остеобластов MG-63. PRF является модифицированной формой PRP, которую можно получить после 1 цикла центрифугирования без добавления антикоагулянтов или гетерогенного тромбина. Он физиологичен и способен, как и PRP, высвобождать факторы роста, которые обнаруживаются в тромбоцитах, включая PDGF, TGF, инсулиноподобный фактор роста (IGF) и т.д. Для приготовления PRF брали кровь и, не добавляя антикоагулянт, проводили центрифугирование при 2000 об/мин в течение 10 минут. Фибриновый сгусток образовался в средней части пробирки, в то время как верхняя часть содержала бесклеточную плазму, а нижняя часть – красные тельца. Далее изучалось влияние факторов роста PRF на пролиферацию и дифференцировку клеток MG-63 *in vitro*. Было выявлено, что активность щелочной фосфатазы увеличивалась в клетках MG-63, обработанных 10 % PRF, также выявлена кальцификация и минерализация клеток MG-63. PRF активировал гены биомаркеров, таких как коллаген типа I, BMP-2 и остеокальцин, которые связаны с образованием кости в клетках MG-63. Это исследование на примере клеток остеобластов MG-63 демонстрирует, что PRF, за счет свойств факторов роста, оказывает положительное влияние на регенерацию костной ткани [34].

Еще одно исследование, посвященное изучению высвобождения факторов роста из обогащенной тромбоцитами плазмы, проведено в Бернском медицинском университете (Швейцария). Было проведено сравнение высвобождения факторов роста из PRP, PRF и

A-PRF (модернизированная PRF) с течением времени и исследование высвобождения (in vitro) семи факторов роста: PDGF-AA; PDGF-AB; PDGF-BB; трансформирующий рост фактор бета 1 (TGFB1); фактор роста эндотелия сосудов (VEGF); эпидермальный фактор роста (EGF) и инсулиноподобный фактор роста (IGF) через 15 минут, 60 минут, 8 часов, 1 день, 3 дня и 10 дней после инкубации. Получение PRP проводилось путем центрифугирования 10 мл крови донора в течение 7 минут при 1000 об/мин и последующего центрифугирования после отделения плазмы в течение 10 минут при 3000 об/мин. PRF также получали путем центрифугирования 10 мл крови донора без антикоагулянта при 2700 об/мин в течение 12 минут, тогда как A-PRF центрифугировали при 1500 об/мин в течение 14 минут. Инкубацию проводили путем переноса стустков PRP, PRF и A-PRF в 6-луночные (in vitro) пластиковые чашки с добавлением 5 мл питательной среды для культивирования. Количество выделяемых факторов роста определяли с помощью ИФА. Проводя анализ результатов, авторы наблюдали преимущество PRP в высвобождении значительно более высоких количеств факторов роста в более ранние моменты времени, тогда как PRF демонстрирует постоянное и устойчивое высвобождение факторов роста в течение 10-дневного периода. Это может указывать на целесообразность комбинированного использования PRP и PRF [35].

Некоторые авторы считают, что, несмотря на имеющиеся фундаментальные данные о положительных свойствах факторов роста в вопросе регенерации тканей, на сегодняшний день недостаточно

именно клинических данных для широкого использования PRP. В теории обогащенная тромбоцитами плазма может иметь преимущества, связанные с повышенным выделением цитокинов и факторов роста, возникающих в результате супрафизиологических концентраций тромбоцитов, которые способствуют восстановлению, регенерации и ремоделированию различных тканей, в том числе и костной. Но на практике не все клинические испытания приводят к положительному результату [36].

Ряд авторов, проводя систематические обзоры литературы по применению PRP в вопросе регенерации костной ткани, полагают, что доступная литература представляет серьезные ограничения с точки зрения низкого качества и крайней гетерогенности, ограничивая возможность оптимизировать лечение переломов и дефектов костей с помощью PRP. Также имеется предположение, что условия, в которых проводились исследования, а именно виды животных, протокол получения PRP, тип костного дефекта, наличие вспомогательного трансплантата или импланта и т.д., могли влиять на эффективность факторов роста и искажать конечный результат [37, 38].

Высококачественные крупные клинические исследования, проведенные в ближайшем будущем, будут иметь решающее значение для формирования подробного понятия о свойствах PRP и его роли в процессе регенерации костной ткани. Неоднородность препаратов PRP как в настоящее время, так и в историческом плане не позволяет сделать широкие рекомендации относительно его полезности. Эта неоднородность также усложнила интерпретацию существующей литературы [39].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ изученных данных показал, что на сегодняшний день имеется достаточно много интересных, перспективных, научно обоснованных исследований авторов со всего мира в поддержку использования факторов роста для оптимизации регенерации костной ткани. Тем не менее, клиническая эффективность богатой тромбоцитами плазмы (PRP), факторов роста, полученных из крови, еще предстоит доказать. На сегодняшний день отсутствует единый протокол изготовления PRP, в то же время имеется множество различных протоколов подготовки и вариантов применения. Это затрудняет сравнение результатов между исследованиями. Мы по-прежнему не имеем одного общего понятия об индивидуальном действии каждого из интересующих нас факторов роста на определенный этап регенерации костной ткани. Нет достоверных данных о времени положительного эффекта, его силе и скорости наступления, отдаленных результатах использования PRP-терапии, безопасности ее применения. Вопрос применения плазмы, обогащенной тромбоцитами, в лечении острой травмы как метод восполнения дефицита костной ткани в зоне перелома, как вспомогательный элемент для реорганизации трансплантата различного генеза в зоне дефекта остается открытым, требует систематизации, общих протоколов использования и дальнейшего изучения.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Akhtyamov IF, Shakirova FV, Klyushkina YuA, Baklanova DA, Gatina EB, Aliev EO. Analysis of regenerative process in the site of tibial bone fracture (experimental study). *Traumatology and Orthopedics of Russia*. 2016; 1: 100-107. Russian (Ахтямов И.Ф., Шакирова Ф.В., Ключкина Ю.А., Бакланова Д.А., Гатина Э.Б., Алиев Э.О. Анализ регенеративного процесса в области перелома большеберцовой кости (экспериментальное исследование) //Травматология и ортопедия России. 2016. № 1. С. 100-107.) doi.org/10.21823/2311-2905-2016-0-1-100-107.
2. Tao W, Yuankun Z, Marc N, Xiaochuan Y, Yunpeng Y, Xiping Z. Layer-by-layer Nanofiber-Enabled Engineering of Biomimetic Periosteum for Bone Repair and Reconstruction. *Biomaterials*. 2018; (182): 279-288. DOI: 10.1016 / j.biomaterials.2018.08.028.
3. Sawada K, Nakahara K, Haga-Tsujimura M, Iizuka T, Fujioka-Kobayashi M, Igarashi K, et al. Comparison of three block bone substitutes for bone regeneration: long-term observation in the beagle dog. *Odontology*. 2018; 106(4): 398-407. doi.org/10.1007/s10266-018-0352-7.

4. Tebyanian H, Norahan MH, Eyni H, Movahedin M, Mortazavi SJ, Karami A, et al. Effects of collagen/ β -tricalcium phosphate bone graft to regenerate bone in critically sized rabbit calvarial defects. *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*. 2019; 17(1): doi.org/10.1177/2280800018820490.
5. Shitole AA, Raut PW, Sharma N, Giram P, Khandewkar AP, Garnaik B. Electrospun polycaprolactone/hydroxyapatite/ZnO nanofibers as potential biomaterials for bone tissue regeneration. *J Mater Sci Mater Med*. 2019; 30(5): 51. doi.org/10.1007/s10856-019-6255-5.
6. Malygina MA, Borovkova NV, Sakharova OM, Ponomarev IN. The use of platelet-enriched plasma for diseases and injuries to locomotor system. *Transplantology*. 2017; 9(4): 325-334. Russian (Малыгина М.А., Боровкова Н.В., Сахарова О.М., Пономарев И.Н. Применение богатой тромбоцитами плазмы при заболеваниях и повреждениях опорно-двигательного аппарата //Трансплантология. 2017. Т. 9, № 4. С. 325-334.) DOI:10.23873/2074-0506-2017-9-4-325-334.
7. Peng K, Hsieh M, Lin CT, Chen C, Lee MS, Huang Y, et al. Treatment of critically sized femoral defects with recombinant BMP-2 delivered by a modified mPEG-PLGA biodegradable thermosensitive hydrogel. *BMC Musculoskelet Disord*. 2016; 17: 286. doi.org/10.1186/s12891-016-1131-7.
8. Krishnan L, Priddy LB, Esancy C, Li MA, Stevens HY, Jiang X, et al. Hydrogel-based Delivery of rhBMP-2 Improves Healing of Large Bone Defects Compared With Autograft. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 2015; 473(9): 2885-2897. doi.org/10.1007/s11999-015-4312-z.
9. Zhiwei S, Shuo C, Zabkiewicz C, Chang L, Lin Y. Bone morphogenetic proteins mediate crosstalk between cancer cells and the tumour microenvironment at primary tumours and metastases (Review). *International Journal of Oncology*. 2020; 56(6): 1335-1351. DOI: 10.3892/ijo.2020.5030.
10. Dashnyam K, Buitrago J, Bold T, Mandakhbayar N, Perez RA, Knowles JC, et al. Angiogenesis-promoted bone repair with silicate-shelled hydrogel fiber scaffolds. *Biomaterials Science*. 2019; 7(12): 5221-5231. DOI: 10.1039/C9BM01103J.
11. Srnc R, Divin R, Skoric M, Snasil R, Krbec M, Necas A. Use of the Peptigel with Nanofibres in the Bone Defects Healing. *Journal of orthopedic surgery and traumatologiae Cechoslova*. 2018; 85(5): 359-365. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30383533>.
12. Gentile P, De Angelis B, Agovino A, Orlandi F, Migner A, D Pasquali C, et al. Use of Platelet Rich Plasma and Hyaluronic Acid in the Treatment of Complications of Achilles Tendon Reconstruction. *World J Plast Surg*. 2016; 5(2): 124-132. Available at: PMID:27579267.
13. Makarov MS, Ponomarev IN. The role of platelet-enriched plasma in reparation of bone tissue defects. *Surgery*. 2015; 10: 94-99. Russian (Макаров М.С. Пономарев И.Н. Роль богатой тромбоцитами плазмы в репарации дефектов костной ткани //Хирургия. 2015. № 10. С. 94-99.) doi: 10.17116/hirurgia20151094-99.
14. Buryanov AA, Chorniy VS, Dedukh NV, Dubok VA, Protsenko VV, Omelchenko TN, et al. Features of regenerative responses in replacement of bone tissue defects with bioglass in combination with platelet-enriched autologous plasma. *Trauma*. 2019; 1: 56-61. Russian (Бурьянов А.А., Чорний В.С., Дедух Н.В., Дубок В.А., Проценко В.В., Омельченко Т.Н. и др. Особенности регенераторных реакций при заполнении дефектов костной ткани биостеклом в сочетании с аутологической плазмой, обогащенной тромбоцитами //Травма. 2019. № 1. С. 56-61.) <http://trauma.zaslavsky.com.ua/article/view/158670>.
15. Vaza AY, Makarov MS, Slastinin VV, Borovkova NV, Klyukvin IY, Pokhitonov DY, et al. Efficiency of allogenic platelet-rich plasma, combined with collagen, in rat's humerus injury healing. *Transplantologiya*. 2016; 2: 36-44. https://www.jtransplantologiya.ru/jour/article/view/121?locale=en_US.
16. Munehiro S, Hitoshi T, Tomonori I, Hidenobu I, Ryota T, Vasio M, et al. Bone Regeneration of Osteoporotic Vertebral Body Defects Using Platelet-Rich Plasma and Gelatin β -Tricalcium Phosphate Sponges *Tissue Eng Part A*. 2018; 24(11-12): 1001-1010. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29272991>.
17. Skwarcz S, Bryzek I, Gregosiewicz A, Warda E, Gaweda K, Tarczynska M, et al. Autologous activated platelet-rich plasma (PRP) in bone tissue healing - does it work? Assessment of PRP effect on bone defect healing in animal models. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2019; 22(1): 109-115. DOI: 10.24425/pjvs.2019.127077.
18. Skwarcz S, Bryzek I, Gregosiewicz A, Warda E, Gaweda K, Tarczynska M, et al. The effect of activated platelet-rich plasma (PRP) on tricalcium hydroxyapatite phosphate healing in experimental, partial defects of long bone shafts in animal models. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2019; 22(2): 243-250. DOI: 10.24425 / pjvs.2019.127092.
19. Guzel Y, Karalezli N, Bilge O, Kacira BK, Esen H, Karadag H, et al. The biomechanical and histological effects of platelet-rich plasma on fracture healing. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2015; 23(5): 1378-1383. doi: 10.1007/s00167-013-2734-2.
20. Rodin IA, Kiselev IG, Vishnivetskaya LP, Rodin MI, Yakovets MG. Stimulation of osteoregeneration with PRP-therapy. *News of OSAU*. 2018; 3: 71. Russian (Родин И.А., Киселёв И.Г., Вишневская Л.П., Родин М.И., Яковец М.Г. Стимуляция остеорегенерации с помощью PRP-терапии //Известия ОГАУ. 2018. № 3(71). С. 186-190. <https://cyberleninka.ru/article/n/stimulyatsiya-osteoregeneratsii-s-pomoschyu-prp-terapii/>
21. Blazhenko AN, Rodin IA, Ponkina ON, Mukhanov ML, Samoylova AS, Verevkin AA, et al. Influence of A-PRP therapy on reparative regeneration of bone tissue in fresh fractures of extremity bones. *Innovative Medicine of Kuban*. 2019; 15(3): 32-38. Russian (Блаженко А.Н., Родин И.А., Понкина О.Н., Муханов М.Л., Самойлова А.С., Веревкин А.А. и др. Влияние А-PRP-терапии на репаративную регенерацию костной ткани при свежих переломах костей конечностей //Инновационная медицина Кубани. 2019. № 3(15). С. 32-38.) <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-a-prp-terapii-na-reparativnyuyu-regeneratsiyu-kostnoy-tkani-pri-svezhih-perelomah-kostey-konechnostey>.
22. Schnependahl J, Jungbluth P, Lögters T, Sager M, Wild M, Hakimi M, et al. Treatment of a diaphyseal long-bone defect with autologous bone grafts and platelet-rich plasma in a rabbit model. *Vet Comp Orthop Traumatol*. 2015; 28(3): 164-171. DOI: 10.3415 /VCOT-14-05-0079.
23. Chen H, Xin-Ran Ji, Zhang Q, Xue-Zhong T, Zhang B, Tang P. Effects of Calcium Sulfate Combined with Platelet-rich Plasma on Restoration of Long Bone Defect in Rabbits. *Chin Med J*. 2016; 129(5): 557-561. doi: 10.4103/0366-6999.176981.
24. Galanis V, Fiska A, Kapetanakis S, Kazakos K, Demetriou T. Effect of platelet-rich plasma combined with demineralised bone matrix on bone healing in rabbit ulnar defects. *Singapore medical journal*. 2017; 58(9): 551-556. <https://doi.org/10.11622/smedj.2016095>.
25. Leng Y, Ren G, Cui Y, Peng C, Wang J, Wu D, et al. Platelet-rich plasma-enhanced osseointegration of decellularized bone matrix in critical-size radial defects in rabbits. *Annals of translational medicine*. 2020; 8(5): 198. doi: 10.21037/atm.2020.01.53.
26. Turhan E, Akça MK, Bayar A, Songür M, Keser S, Doral MN. A comparison of the effects of platelet-rich plasma and demineralized bone matrix on critical bone defects: An experimental study on rats. *Turkish Journal of Trauma and Emergency Surgery*. 2017; 23(2): 91-99. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28467589>.

27. Singh R, Rohilla R, Gawande J, Sehgal PK. To evaluate the role of platelet-rich plasma in healing of acute diaphyseal fractures of the femur. *Chinese Journal of Traumatology*. 2017; 20(1): 39-44. <https://doi.org/10.1016/j.cjtee.2016.03.007>.
28. Malhotra R, Kumar V, Garg B, Singh R, Jain V, Coshic P, et al. Role of autologous platelet-rich plasma in treatment of long-bone non-unions: a prospective study. *Musculoskelet Surg*. 2015; 99(3): 243-248. doi: 10.1007/s12306-015-0378-8.
29. Samy AM. The role of platelet rich plasma in management of fracture neck femur: new insights. *Int Orthop*. 2016; 40(5): 1019-1024. doi: 10.1007/s00264-015-2844-1.
30. Namazi H, Mehbudi A. Investigating the effect of intra-articular PRP injection on pain and function improvement in patients with distal radius fracture. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2016; 102(1): 47-52. doi: 10.1016/j.otsr.2015.11.002.
31. DiMatteo B, Filardo G, Kon E, Marcacci M. Platelet-rich plasma: evidence for the treatment of patellar and Achilles tendinopathy a systematic review. *Musculoskeletal Surgery*. 2015; 99(1): 1-9. doi: 10.1007/s12306-014-0340-1.
32. Roh YH, Kim W, Park KU, Oh JH. Cytokine-release kinetics of platelet-rich plasma according to various activation protocols. *Bone Joint Research*. 2016; 5(2): 37-45. doi: 10.1302/2046-3758.52.2000540.
33. Cavallo C, Roffi A, Grigolo B, Mariani E, Pratelli L, Merli G, et al. Platelet-Rich Plasma: The Choice of Activation Method Affects the Release of Bioactive Molecules. *Biomed Research International*. 2016; 1-7. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27672658>.
34. You JS, Kim SG, Oh JS, Kim JS. Effects of Platelet-Derived Material (Platelet-Rich Fibrin) on Bone Regeneration. *Implant Dentistry*. 2019; 28(3): 244-255. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31124821>.
35. Kobayashi E, Flückiger L, Fujioka-Kobayashi M, Sawada K, Sculean A, Schaller B, et al. Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. *Clin Oral Investing*. 2016; 20(9): 2353-2360. <https://doi.org/10.1007/s00784-016-1719-1>.
36. Mosca MJ, Rodeo SA. Platelet-rich plasma for muscle injuries: game over or time out? *Curr Rev Musculoskelet Med*. 2015; 8(2): 145-153. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4596175>.
37. Marcuzzan S, Taschieri S, Weinstein RL, Del Fabbro M. Efficacy of platelet concentrates in bone healing: A systematic review on animal studies – Part B: Large-size animal models. *Platelets*. 2018; 29(4): 338-346. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29206070>.
38. Roffi A, Di Matteo B, Krishnakumar GS, Kon E, Filardo G. Platelet-rich plasma for the treatment of bone defects: from pre-clinical rational to evidence in the clinical practice. A systematic review. *International Orthopaedics*. 2017; 41(2): 221-237. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27888295>.
39. Le ADK, Enweze L, DeBaun MR, Dragoo JL. Platelet-Rich Plasma. *Clinics Sports Medicine*. 2019; 38(1): 17-44. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30466721>.

Сведения об авторах:

Бурькин К.И., аспирант кафедры травматологии, ортопедии и медицины катастроф, ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, г. Москва, Россия.

Паршиков М.В., д.м.н., профессор кафедры травматологии, ортопедии и медицины катастроф, ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, г. Москва, Россия.

Ярыгин Н.В., д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и медицины катастроф, ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, г. Москва, Россия.

Светлов Д.В., врач травматолог-ортопед, заведующий отделением травматологии и ортопедии, ГБУЗ «ГКБ имени В.П. Демикова ДЗМ», г. Москва, Россия.

Говоров М.В., врач травматолог-ортопед, ассистент кафедры травматологии, ортопедии и медицины катастроф, ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, г. Москва, Россия.

Чемянов И.Г., к.м.н., доцент кафедры травматологии ортопедии и медицины катастроф, ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, г. Москва, Россия.

Просвирин А.А., к.м.н., ассистент кафедры травматологии, ортопедии и медицины катастроф, ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, г. Москва, Россия.

Адрес для переписки:

Бурькин К.И., ул. Миклухо-Маклая, д. 29, корп. 1, кв. 306, г. Москва, Россия, 117485

Тел: +7 (919) 775-42-55

E-mail: bi.kirik@mail.ru

Статья поступила в редакцию: 28.05.2020

Рецензирование пройдено: 07.08.2020

Подписано в печать: 14.08.2020

Information about authors:

Burykin K.I., postgraduate at the department of traumatology, orthopedics and disaster medicine, A.I. Yevdokimov Moscow State Medical and Dental University, Moscow, Russia.

Parshikov M.V., MD, PhD, professor at department of traumatology, orthopedics and disaster medicine, A.I. Yevdokimov Moscow State Medical and Dental University, Moscow, Russia.

Yarygin N.V., MD, PhD, corresponding member of RAS, professor, head of department of traumatology, orthopedics and disaster medicine, A.I. Yevdokimov Moscow State Medical and Dental University, Moscow, Russia.

Svetlov D.V., traumatologist-orthopedist, head of department of traumatology and orthopedics of City Clinical Hospital named after V.P. Demikhov, Moscow, Russia.

Govorov M.V., assistant at department of traumatology, orthopedics and disaster medicine, A.I. Yevdokimov Moscow State Medical and Dental University, Moscow, Russia.

Chemyanov I.G., candidate of medical sciences, associate professor at department of traumatology of orthopedics and disaster medicine, A.I. Yevdokimov Moscow State Medical and Dental University, Moscow, Russia.

Prosvirin A.A., candidate of medical sciences, assistant at department of traumatology, orthopedics and disaster medicine, A.I. Yevdokimov Moscow State Medical and Dental University, Moscow, Russia.

Address for correspondence:

Burykin K.I., Miklukho-Maklaya St., 29, building 1, app. 306, Moscow, Russia, 117485

Tel: +7 (919) 775-42-55

E-mail: bi.kirik@mail.ru

Received: 28.05.2020

Review completed: 07.08.2020

Passed for printing: 14.08.2020