

ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОСТНОГО АУТОРЕГЕНЕРАТА ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

RATIONALE FOR THE USE OF BONE AUTOREGENERATE FOR STIMULATION OF REPAIR OSTEOGENESIS PROCESSES (AN EXPERIMENTAL STUDY)

Муханов М.Л. Mukhanov M.L.
Блаженко А.Н. Blazhenko A.N.
Афаунов А.А. Afaunov A.A.
Богданов С.Б. Bogdanov S.B.
Сотниченко А.С. Sotnichenko A.S.
Русинова Т.В. Rusinova T.V.
Алиев Р.Р. Aliev R.R.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

г. Краснодар, Россия

Kuban State Medical University,

Krasnodar, Russia

Локальная стимуляция репаративного остеогенеза представляется важной проблемой, решение которой позволит сократить сроки реабилитации и улучшить качество жизни пациентов. В настоящий момент в травматологии и ортопедии существует ряд методик, позволяющих повлиять на скорость консолидации переломов костей: применение взвеси аспирата костного мозга, обогащенной тромбоцитами плазмы, введение синтетических факторов роста.

Большинство современных методик локальной стимуляции репаративного остеогенеза дают относительно удовлетворительные результаты, однако они не лишены недостатков, а также имеют ряд ограничений в использовании и доступности. Кроме того, по данным специальной медицинской литературы, результаты применения существующих методик противоречивы с точки зрения их клинической и экономической эффективности.

Поэтому возникает необходимость разработки новых методов локальной стимуляции репаративного остеогенеза с использованием факторов роста в качестве дополнения к стандартным методам лечения переломов.

Цель – в условиях *in vitro* определить соотношение основных факторов роста в зоне активного репаративного остеогенеза и провести сравнительный анализ с известными методами локальной стимуляции репаративного остеогенеза.

Материалы и методы. Исследование было выполнено на лабораторных животных, сравнительному анализу были подвергнуты биологические среды, используемые для локальной стимуляции репаративного остеогенеза, а именно концентрат взвеси аспирата костного мозга (ВМАС), обогащенная тромбоцитами плазма (PRP), нативная плазма и аутогенерат. В результате экспериментального исследования получен костный аутогенерат по оригинальной методике. При помощи иммуноферментного

Local stimulation of reparative osteogenesis is an important problem in traumatology and orthopedics, the solution of which will reduce the time of rehabilitation and improve the quality of life of patients. Currently, in traumatology and orthopedics, there are a number of techniques that can affect the rate of bone fracture consolidation: the use of bone marrow aspirate suspension, platelet-enriched plasma, the introduction of synthetic growth factors.

Most modern methods of local stimulation of reparative osteogenesis give relatively satisfactory results. However, the proposed methods are not without drawbacks, and there are also a number of limitations in their use and accessibility. In addition, according to the special medical literature, the results of the application of existing methods are contradictory, and these contradictions relate to clinical and economic efficiency.

Therefore, there is a need to develop new treatment methods as an alternative or supplement to standard methods.

Objective – *in vitro*, to determine the ratio of the main growth factors in the zone of active reparative osteogenesis and to conduct a comparative analysis with known methods of local stimulation of reparative osteogenesis.

Materials and methods. The study was performed on laboratory animals. The biological media used for local stimulation of reparative osteogenesis, namely bone marrow aspirate concentrate (BMAC), platelet-rich plasma (PRP), native plasma and autogenerate were subjected to comparative analysis.

As a result of the experimental study, a bone autogenerate was obtained according to the original method. Using enzyme immunoassay, a

Для цитирования: Муханов М.Л., Блаженко А.Н., Афаунов А.А., Богданов С.Б., Сотниченко А.С., Русинова Т.В., Алиев Р.Р. ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОСТНОГО АУТОРЕГЕНЕРАТА ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ) // ПОЛИТРАВМА / POLYTRAUMA. 2021. № 4, С. 62-68.

Режим доступа: <http://poly-trauma.ru/index.php/pt/article/view/363>

DOI: 10.24412/1819-1495-2021-4-62-68

анализа проведено сравнение содержания известных факторов роста, содержащихся в биологических средах, способных повлиять на репаративный остеогенез, а именно взвесь аспирата костного мозга, обогащенной тромбоцитами плазмы и ауторегенерата.

Установлена оптимальная концентрация факторов роста, которая позволяет оказывать локальную стимуляцию репаративного остеогенеза, что в итоге позволит добиться консолидации перелома.

Заключение. Основываясь на результатах иммуноферментного и морфогистологического анализа биологических сред, применение ауторегенерата можно отнести к одному из наиболее безопасных и эффективных методов локальной стимуляции процессов репаративного остеогенеза благодаря таким преимуществам, как абсолютная биосовместимость, содержание цитокинов в оптимальном соотношении для локальной стимуляции репаративного остеогенеза.

Ключевые слова: репаративный остеогенез; консолидация переломов; ауторегенерат; факторы роста.

comparison was made of the content of known growth factors contained in biological media that can affect reparative osteogenesis, namely, a suspension of bone marrow aspirate, platelet-rich plasma and autogenerate.

The optimal concentration of growth factors has been established, which allows local stimulation of reparative osteogenesis, which will eventually allow for the consolidation of the fracture.

Conclusion. Based on the results of enzyme immunoassay and morphohistological analysis of biological media, the use of autogenerate can be attributed to one of the safest and most effective methods of local stimulation of the processes of reparative osteogenesis, due to the following advantages: absolute biocompatibility, cytokine content in an optimal ratio for local stimulation of reparative osteogenesis.

Key words: reparative osteogenesis; fracture consolidation; autogenerate; growth factors.

В настоящее время в связи с ростом уровня травматизма [1] и возрастающей частотой переломов, сопровождающихся дефектом костной ткани [2-4], возникает необходимость не только в сокращении сроков консолидации переломов [3], но и остеоиндуктивном материале, позволяющем выполнять замещение костных дефектов больших объемов.

В арсенале травматолога-ортопеда имеется ряд методов лечения переломов, сопровождающихся дефектом костной ткани, признаками замедленной консолидации или формирующегося ложного сустава. Эти методы могут быть использованы как самостоятельно, так и в сочетании, например, дистракционно-компрессионный остеосинтез [5, 6], а также ряд различных методов костной пластики, таких как аутологичные костные трансплантаты, аллотрансплантаты и заменители костных трансплантатов [7, 8].

Другим направлением оптимизации процессов репаративного остеогенеза является костно-тканевая инженерия — перспективное направление персонализированной медицины. Достижения тканевой инженерии применяются во множестве специальностей, в том числе и в травматологии и ортопедии, где для замещения дефектов костной ткани используют синтетические каркасы с нанесенными на них клетками и факторами роста. Однако в данном направлении не решено много вопросов эффективности, безопасности и стоимости, что не позволяет на данном этапе ши-

роко внедрить эти методы в практическую медицину [9, 10].

Наиболее широкое распространение получили методы локальной стимуляции репаративного остеогенеза с использованием факторов роста [2, 3, 11]. К ним относятся применение обогащенной тромбоцитами плазмы (platelet-rich plasma — PRP) [2], введение в зону перелома концентрата взвеси аспирата костного мозга (bone marrow aspirate concentrate — BMAC) [3, 11], использование факторов роста, полученных синтетическим путем, таких как костные морфогенетические белки (bone morphogenetic proteins — BMPs) [3], фактор роста фибробластов (fibroblast growth factor — FGF) [3] и др.

Большинство современных стратегий ускорения регенерации костной ткани дают относительно удовлетворительные результаты, что подтверждают противоречивые публикации об их клинической и экономической эффективности [13]. Кроме того, в настоящее время не существует гетерологичных или синтетических заменителей кости, которые обладали бы более высокими или даже одинаковыми биологическими или механическими свойствами по сравнению с костью. Поэтому существует необходимость разработки новых методов локальной стимуляции репаративного остеогенеза с использованием факторов роста в качестве дополнения к стандартным методам лечения переломов [2, 3, 14].

Цель — в условиях *in vitro* определить соотношение основных факторов роста в зоне активного репа-

ративного остеогенеза и провести сравнительный анализ с известными методами локальной стимуляции репаративного остеогенеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Настоящее исследование было выполнено на лабораторных животных: бараны породы «Романовская» — две головы в возрасте старше 1 года, массой 31,2 кг и 28,6 кг.

Все манипуляции с животными проводили согласно правилам, принятым Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследований и других научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123) Strasbourg, 1986), была проведена экспертиза исследования в независимом этическом комитете ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (протокол № 80 от 27.09.2019 г.).

В соответствии с дизайном исследования сравнительному анализу были подвергнуты биологические среды, взятые у лабораторных животных и используемые для локальной стимуляции репаративного остеогенеза, а именно концентрат взвеси аспирата костного мозга (BMAC), обогащенная тромбоцитами плазма (PRP), нативная плазма и ауторегенерат.

Получение ауторегенерата было выполнено по оригинальной методике следующим образом: после выполнения доступа при помощи долота произведена остеотомия в области гребня крыла подвздошной кости и сформирована костная

рана (рис. 1) длиной до 50,0 мм, шириной до 10,0 мм и глубиной до 30,0 мм ($15000 \text{ мм}^3 = 15,0 \text{ мл}$), в которой из гематомы в течение 5-7 суток формировался ауторегенерат, представляющий собой «организующийся» сгусток (рис. 2), часть которого была взята для проведения иммуноферментного и морфологического анализа с целью определения количества факторов роста и клеточного состава в образце регенерата.

Для получения красного костного мозга была выполнена пункция крыла подвздошной кости с забором красного костного мозга в объеме 15-20 мл, а также забор крови для приготовления обогащенной тромбоцитами плазмы и нативной плазмы крови, была выполнена венепункция с забором венозной крови в объеме 15-20 мл.

Обогащение плазмы тромбоцитами проводили при помощи настольной центрифуги Hettich Eba 20 по технологии «Плазмолифтинг» с применением пробирок, содержащих сепарационный гель.

Иммунологические и гистоморфологические исследования проводили в центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Осуществлялся иммуноферментный анализ на концентрацию следующих цитокинов: тромбоцитарный фактор роста АВ (Platelet Derived Growth Factor АВ (PDGFAB)), трансформирующий фактор роста b (Transforming Growth Factor Beta 1 (TGFb1)), костный морфогенетический белок 6 (Bone Morphogenetic Protein 6 (BMP6)), костный морфогенетический белок 7 (Bone Morphogenetic Protein 7 (BMP7)), инсулиноподобный фактор роста (Insulin Like Growth Factor 1 (IGF1)), фактор роста фибробластов (Fibroblast Growth Factor 1 (FGF1)) был проведен методом ELISA с помощью соответствующих тест-систем (Cloud-Clone Corp, США): SEA436Ov ELISA Kit For Platelet Derived Growth Factor AB, SEA124Ov ELISA Kit For Transforming Growth Factor Beta 1, SEA646Ov ELISA Kit for Bone Morphogenetic Protein 6, SEA799Ov ELISA Kit for Bone Morphogenetic Protein 7,

SEA050Ov ELISA Kit for Insulin Like Growth Factor 1, SEA032Ov ELISA Kit for Fibroblast Growth Factor Acidic в соответствии с протоколом фирмы-производителя на микропланшетном ридере Filter Max F5 (США).

По каждому биологическому образцу было выполнено по 4 измерения, данные представлены в виде медианы, первого и третьего квартиля (Me [Q1; Q3]).

Гистоморфологическую оценку тканей проводили по общепринятому алгоритму. Биологический материал фиксировали в течение 3-5 суток в 10 % растворе нейтрального забуференном формалине (Histolab, Швеция), промывали в проточной воде в течение 60 мин. Проводку материалов осуществляли по стандартной методике автоматическим методом на гистопротессоре Leica TP1020 (Германия). Парафиновые блоки с образцами исследуемых материалов готовили на модульной установке Leica EG1150H (Германия), для нарезки препаратов использовали ротационный микротом Leica RM2235 (Германия). Полученные срезы материала толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике. Микроскопию препаратов проводили при помощи микроскопа Olympus CX41 (Япония).

Статистическую обработку результатов исследования выполняли с помощью программы StatSoft 2009 (США). Поскольку выборка была небольшой и распределение отличалось от нормального, результаты представлены в виде медианы, первого и третьего квартиля (Me [Q1; Q3]). Достоверность различий оценивали с помощью U-критерия Манна–Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Впервые получены экспериментальные данные по количественному содержанию цитокинов: PDGFAB, TGFb, FGF1, IGF, BMP6 и BMP7 в костном ауторегенерате, которые отражают физиологическое соотношение факторов, участвующих в локальной стимуляции репаративного остеогенеза, что может быть использовано в терапевтических и диагностических целях. Кроме того, проведено опре-

Рисунок 1
Остеотомия крыла подвздошной кости
Figure 1
Osteotomy of the iliac wing

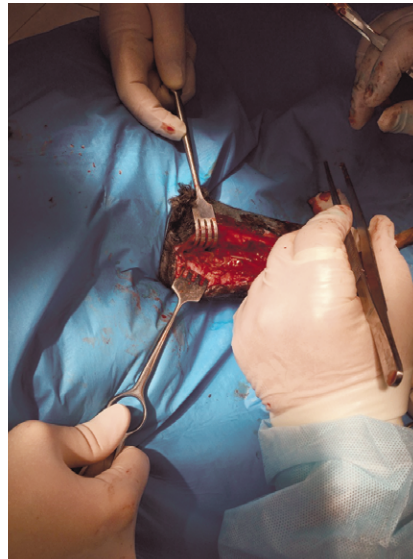
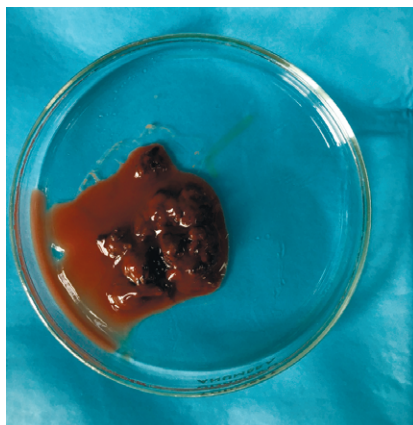


Рисунок 2
Ауторегенерат, полученный из крыла подвздошной кости
Figure 2
Autoregenerate obtained from the iliac wing



деление концентрации соответствующих показателей в плазме крови, в плазме, обогащенной тромбоцитами, и взвеси аспирата костного мозга (ВМАС). Полученные результаты представлены графически в таблице.

Из полученных данных видно, что в костном ауторегенерате преобладают такие цитокины, как фактор роста фибробластов 1 – FGF1 ($p = 0,026$; $p = 0,001$; $p = 0,009$ в отношении ВМАС, PRP, нативной плазмы соответственно) и костный морфогенетический белок 7 – BMP7 ($p = 0,043$; $p = 0,009$; $p = 0,009$ в отношении

Таблица

Содержание цитокинов, регулирующих остеосинтез и репарацию, в различных биологических образцах барана (Me [Q₁; Q₃])

Table

The content of cytokines regulating osteosynthesis and repair in various biological samples of sheep (Me [Q₁; Q₃])

Биологические образцы Biological samples	Костный ауторегенерат Bone regenerate (n = 4)	Взвесь аспирата костного мозга (ВМАС) Bone marrow aspiration concentrate (ВМАС) (n = 4)	Плазма, обогащенная тромбоцитами Platelet-rich plasma (PRP) (n = 4)	Плазма крови Blood plasma (n = 4)
Инсулиноподобный фактор роста (IGF1), нг/мл Insulin-like growth factor (IGF1), ng/ml	17.2 [16.6; 17.7]	40.9* [37.4; 43.0]	6.7# [5.7; 9.5]	0^
Фактор роста фибробластов (FGF1), пг/мл Fibroblast growth factor (FGF1), pg/ml	8.96 [8.15; 9.15]	6.11* [5.90; 6.74]	0#	3.07^ [2.87; 3.65]
Трансформирующий фактор роста b (TGFb), пг/мл Transforming growth factor b (TGFb), pg/ml	16.66 [15.83; 22.89]	34.74* [21.67; 46.82]	0#	16.16 [0; 32.69]
Тромбоцитарный фактор роста АВ (PDGFAB), нг/мл Platelet-derived growth factor АВ (PDGFAB), ng/ml	2.67 [2.56; 5.30]	2.52 [2.01; 2.72]	7.22# [4.45; 9.56]	3.05 [1.47; 4.37]
Костный морфогенетический белок 6 (BMP6), пг/мл Bone morphogenetic protein 6 (BMP6), pg/ml	57.30 [53.55; 59.30]	96.50* [88.85; 105.95]	23.15# [22.60; 24.31]	26.02^ [22.56; 29.97]
Костный морфогенетический белок 7 (BMP7), пг/мл Bone morphogenetic protein 7 (BMP7), pg/ml	1736.50 [1658.00; 1825.00]	1086.00* [1016.25; 1150.25]	300.00# [261.25; 342.00]	366.50^ [297.50; 09.75]

Примечание: * – значимость различий между ауторегенератом и ВМАС – $p < 0,05$; # – значимость различий между ауторегенератом и PRP – $p < 0,05$; ^ – значимость различий между ауторегенератом и плазмой крови – $p < 0,05$.

Note: * – the significance of the differences between autoregenerate and ВМАС – $p < 0.05$; # – significance of differences between autoregenerate and PRP – $p < 0.05$; ^ – the significance of the differences between autoregenerate and blood plasma – $p < 0.05$.

ВМАС, PRP, нативной плазмы соответственно) по сравнению со всеми исследуемыми биологическими образцами, что обуславливает ключевую роль этих факторов в формировании соединительной ткани в ходе репаративного остеогенеза. Остальные показатели в ауторегенерате значимо разнонаправленно отличаются по отношению к другим исследуемым биологическим образцам, что демонстрирует специфичность функций всех изучаемых цитокинов в поддержании гомеостаза на тканевом и системном уровнях. Следует отметить, что обогащенная тромбоцитами плазма содержит большое количество фактора роста тромбоцитов АВ – PDGFAB ($p = 0,07$; $p = 0,012$; $p = 0,043$ соответственно для ВМАС, PRP, нативной плазмы), что как минимум

в 2 раза выше в сравнении с другими биологическими средами. Во взвеси аспирата костного мозга преобладает концентрация следующих цитокинов: TGFb ($p = 0,048$; $p = 0,001$; $p = 0,048$ в отношении ВМАС, PRP, нативной плазмы соответственно) и BMP6 ($p = 0,012$; $p = 0,041$; $p = 0,033$ в отношении ВМАС, PRP, нативной плазмы соответственно).

Для визуализации и сравнения профилей цитокинов в изучаемых биологических образцах значение концентраций цитокинов в костном ауторегенерате было взято за 100 процентов, и построена диаграмма (рис. 3).

Анализ диаграммы показал, что профили цитокинов в плазме и плазме, обогащенной тромбоцитами, достаточно близки по сравне-

нию с данными для костного мозга, за исключением PDGFAB, возрастание концентрации которого, по-видимому, объясняется высоким содержанием активированных тромбоцитов. Полученные данные свидетельствуют о малой роли фактора роста тромбоцитов и трансформирующего фактора роста в репарации костной ткани и о нецелесообразности применения плазмы, обогащенной тромбоцитами, при лечении дефектов костной ткани. Наиболее близкой к ауторегенерату по содержанию факторов роста является взвесь красного костного мозга, при этом относительно высокое содержание IGF1 и TGFb может быть обусловлено процессами усиленного образования костного матрикса за счет стимуляции синтеза коллагена.

Таким образом, в ауторегенерате, по своей сути представляющем организуемую гематому в области перелома, в ходе данного эксперимента нами выявлено оптимальное соотношение основных цитокинов, необходимых для оптимизации процессов репаративного остеогенеза: FGF1 – 8,96 пг/мл, BMP7 – 1736,5 пг/мл, IGF1 – 17,2 нг/мл, TGFb – 16,66 пг/мл, BMP6 – 57,3 пг/мл, PDGF – 2,67 нг/мл; данные представлены на диаграмме (рис. 3).

В ходе гистологического анализа ауторегенерата было обнаружено, что образцы были имbibированы фибрином, в инфильтрате выявлялись клетки мононуклеарного ряда, также обнаруживалось большое количество пролиферирующих фибробластов и новообразованных тонкостенных капилляров по всей плоскости среза с формированием грануляционной ткани, что может являться следствием большого содержания фактора роста фибробластов в испытуемых образцах (рис. 4а, 4б).

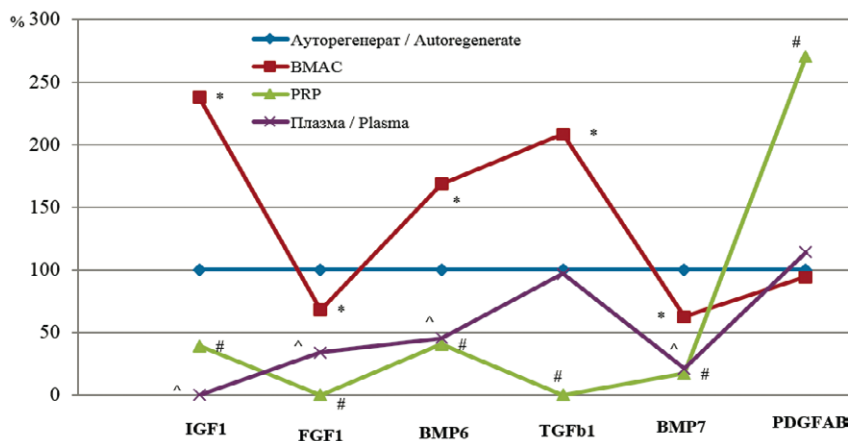
Данные морфологического анализа свидетельствуют о высокой репаративной активности в зоне получения ауторегенерата и о том, что его трансплантация будет способствовать стимуляции остеогенеза. На основании иммуноферментного и морфогистологического анализа ауторегенерата можно заклю-

Рисунок 3

Сравнительный анализ профиля цитокинов в костном ауторегенерате, красном костном мозге (ВМАС), плазме, обогащенной тромбоцитами (PRP), и плазме крови (в процентах, относительно значений для костного ауторегенерата)

Figure 3

Comparative analysis of the cytokine profile in bone autoregenerate, red bone marrow (ВМАС), platelet-rich plasma (PRP) and blood plasma (in percent, relative to values for bone autoregenerate)



Примечание: *, #, ^ – значимость различий – $p < 0,05$ во всех биологических образцах по отношению к показателям ауторегенерата.
Note: *, #, ^ – the significance of the differences – $p < 0.05$ in all biological samples in relation to the autoregenerate indicators.

чить, что он является эффективным и перспективным средством локальной стимуляции репаративного остеогенеза. Поэтому необходимо его дальнейшее изучение на экспериментальных моделях (животных) и оценка возможностей практического применения полученных результатов.

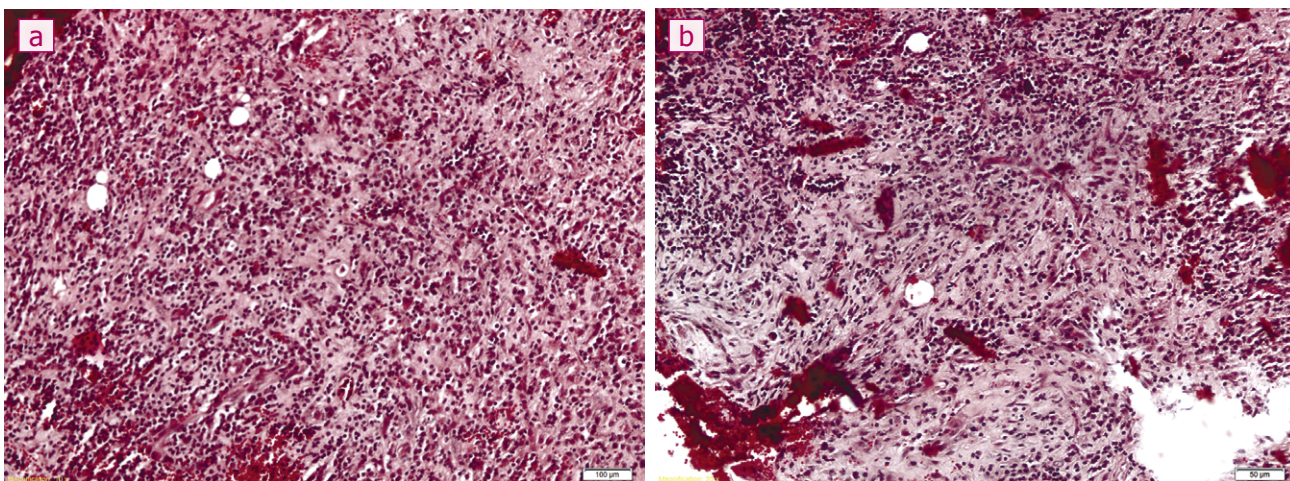
Таким образом, в результате проведенного исследования было установлено отличие ауторегенерата, получаемого по оригинальной методике, от взвеси аспирата костного мозга (ВМАС) и существенное отличие от обогащенной тромбоцитами плазмы крови (PRP), являющихся наиболее широко распространенными

Рисунок 4

Гистологическое исследование. Фрагмент регенерата, полученного на 7-е сутки: а) увеличение в $\times 10$; б) увеличение $\times 20$

Figure 4

Histological examination. A fragment of the regenerate obtained on 7th day: а) an increase $\times 10$; б) an increase $\times 20$



способами локальной стимуляции репаративного остеогенеза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время в травматологии и ортопедии применяется множество методик, позволяющих локально стимулировать репаративную регенерацию костной ткани, из которых А-PRP-терапия является наиболее распространенной, доступной и безопасной. С тромбоцитами связывают ряд общих биологических эффектов, возникающих благодаря известным факторам роста (трансформирующий фактор роста β – TGF- β , тромбоцитарный фактор роста – PDGF, IGF-II, фактор роста эндотелия сосудов – VEGF, эпидермальный фактор роста – EGF, фактор роста эндотелиальных клеток – ESGF, инсулиноподобный фактор роста – IGF-I, фактор роста фибробластов – FGF), находящимся в α -гранулах; тромбоциты включают ионы K⁺, Ca⁺⁺, АТФ, АДФ, цитокины (серотонин, гистамин, допамин, простагландины), факторы свертывания, хемокины, кислотные гидролазы, эластазы, лизоцим, катепсин Д и Е, протеазы, а также антибактериальные и фунгицидные белки.

Однако по данным, представленным в нашем исследовании (рис. 3), обогащенная тромбоцитами плазма оказывает стимулирующее влияние на репаративный остеогенез, но не обладает выраженными остеиндуктивными свойствами,

а действие может быть объяснено природной способностью тромбоцитов влиять на процессы заживления, стимулируя регенеративный потенциал костной ткани за счет неспецифических факторов роста.

По данным нашего исследования, наибольший потенциал стимуляции репаративного остеогенеза показали красный костный мозг и ауторегенерат, полученный по оригинальной методике. На основании данных иммуноферментного анализа были определены качественные и количественные показатели факторов роста, необходимые для оптимизации процессов репаративного остеогенеза. Причем показатели относительно качественных результатов, полученных нами, совпадают с результатами, опубликованными и другими исследователями [15], относительно значения для регенерации костной ткани таких цитокинов, как TGF, представляющих собой большую группу белков, среди которых TGF-P1 и BMPs [16, 17].

Таким образом, применение ауторегенерата с целью оптимизации процессов репаративного остеогенеза можно отнести к одному из наиболее безопасных методов локальной стимуляции процессов остеогенеза на основе следующих преимуществ: абсолютная биосовместимость; минимальный риск возникновения инфекции; содержание цитокинов в оптимальном соотношении для локальной стиму-

ляции репаративного остеогенеза. Возможности применения данной технологии в клинической медицине, а именно в травматологии и ортопедии, требуют дальнейших исследований, направленных на создание протоколов выполнения предложенной процедуры.

ВЫВОДЫ:

Основываясь на результатах сравнительного иммуноферментного анализа ауторегенерата, в ходе эксперимента нам удалось определить оптимальную концентрацию основных факторов роста, стимулирующих репаративный остеогенез: FGF1 – 8,96 пг/мл, BMP7 – 1736,5 пг/мл, IGF1 – 17,2 нг/мл, TGFb – 16,66 пг/мл, BMP6 – 57,3 пг/мл, PDGF – 2,67 нг/мл.

Основываясь на результатах иммуноферментного и морфогистологического анализа ауторегенерата, можно заключить, что он является эффективным и перспективным средством локальной стимуляции репаративного остеогенеза.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-415-233004/19(20) «р_мол_а» от 22.04.2019 г.

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

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES:

- Alekseenko SN, Redko AN, Karipidi RK, Zakharchenko Yul. Primary disability of the adult population of the Krasnodar territory dueto road accidents // *Bulletin of the All-Russian Society of Specialists in Medical and Social Expertise, Rehabilitation and Rehabilitation Industry*. 2017; (4): 44-48. Russian (Алексеенко С.Н., Редько А.Н., Карипиди Р.К., Захарченко Ю.И. Первичная инвалидность взрослого населения краснодарского края вследствие дорожно-транспортных происшествий // Вестник Всероссийского общества специалистов по медико-социальной экспертизе, реабилитации и реабилитационной индустрии. 2017. № 4. С. 44-48.)
- Blazhenko AN, Rodin IA, Ponkina ON, Mukhanov ML, Samoylova AS, Verevkin AA, et al. The effect of A-PRP therapy on the reparative regeneration of bone tissue in fresh fractures of limb bones. *Innovative Medicine of the 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.)
- Sadykov RI, Akhtyamov IF, Local factors of reparative osteogenesis stimulation (literature review). *Department of Traumatology and Orthopedics*. 2020; (3): 23-30. Russian (Садыков Р.И., Ахтямов И.Ф., Локальные факторы стимуляции репаративного остеогенеза (обзор литературы) //Кафедра травматологии и ортопедии. 2020. № 3. С. 23-30.)
- Shastov AL. The problem of replacement of post-traumatic defects of long bones in the domestic traumatological and orthopedic practice (literature review). *Genius of Orthopedics*. 2018; 24(2): 252-257. Russian (Шастов А.Л. Проблема замещения посттравматических дефектов длинных костей в отечественной травматолого-ортопедической практике (обзор литературы) //Гений ортопедии. 2018. Т. 24, № 2. С. 252-257.)
- Aronson J. Limb-lengthening, skeletal reconstruction, and bone transport with the Ilizarov method. *J Bone Joint Surg Am*. 1997; 79(8): 1243-1258.
- Green SA, Jackson JM, Wall DM, Marinow H, Ishkanian J. Management of segmental defects by the Ilizarov intercalary bone transport method. *Clin Orthop Relat Re*. 1992; 28: 136-142.

7. Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E. Bone substitutes: an update. *Injury*. 2005; 36 (Suppl 3): 20-27.
8. Giannoudis PV, Einhorn TA. Bone morphogenetic proteins in musculoskeletal medicine. *Injury*. 2009; 40 (Suppl 3): 1-3.
9. Salgado AJ, Coutinho OP, Reis RL. Bone tissue engineering: state of the art and future trends. *Macromol Biosci*. 2004; 4(8): 743-765. doi: 10.1002/mabi.200400026.
10. Rose FR, Oreffo RO. Bone tissue engineering: hope vs hype. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002; (2): 1-7. doi: 10.1006/bbrc.2002.6519.
11. Korzh NA, Vorontsov PM, Vishnyakova IV, SamoiloVA EM. Innovative methods for optimizing bone regeneration: mesenchymal stem cells (message 2) (literature review) *Orthopedics, Traumatology and Prosthetics*. 2018; (1): 105-116. Russian (Корж Н.А., Воронцов П.М., Вишнякова И.В., Самойлова Е.М. Инновационные методы оптимизации регенерации кости: мезенхимальные стволовые клетки (сообщение 2) (обзор литературы) //Ортопедия, травматология и протезирование. 2018. № 1. С. 105-116.)
12. Akhtyamov IF, Zhitlova EA, Tsyplakov DE, Boychuk SV, Shakirova FV, Korobeynikova DA. X-ray morphological parallels of the osteoregenerative process when using a drug based on lanthanide ethidronates. *Polytrauma*. 2017; (4): 16-22. Russian (Ахтямов И.Ф., Житлова Е.А., Цыплаков Д.Э., Бойчук С.В., Шакирова Ф.В., Коробейникова Д.А. Рентгеноморфологические параллели остеорегенеративного процесса при использовании препарата на основе этидронатов лантаноидов //Политравма. 2017. № 4. С. 16-22.)
13. PiuZZi NS, Dominici M, Long M, Pascual-Garrido C, Rodeo S, Huard J, et al. Proceedings of the signature series symposium «cellular therapies for orthopaedics and musculoskeletal disease proven and unproven therapies-promise, facts and fantasy», international society for cellular therapies, Montreal, Canada, May 2, 2018. *Cytotherapy*. 2018; 20(11): 1381-1400. doi: 10.1016/j.jcyt.2018.09.001.
14. Talashova IA, Osipova NA, Kononovich NA. Comparative quantitative assessment of the reparative process during implantation of biocompositional materials in bone defects. *Genius of Orthopedics*. 2012; (2): 68. Russian (Талашова И.А., Осипова Н.А., Кононович Н.А. Сравнительная количественная оценка репаративного процесса при имплантации биоконпозиционных материалов в костные дефекты //Гений ортопедии. 2012. № 2. С. 68.)
15. Pavlova LA, Pavlova TV, Nesterov AV. Modern understanding of osteoinductive mechanisms of bone tissue regeneration. Review of the state of the problem. *Actual Problems of Medicine*. 2010; 10(81): 5-11. Russian (Павлова Л. А., Павлова Т. В., Нестеров А. В. Современное представление об остеоиндуктивных механизмах регенерации костной ткани. Обзор состояния проблемы //Актуальные проблемы медицины. 2010. № 10(81). С. 5-11.)
16. Andrades JA, Han B, Nimni ME, Ertl DC, Simpkins RJ, Arrabal MP, et al. A modified rhTGF-beta1 and rhBMP-2 are effective in initiating a chondro-osseous differentiation pathway in bone marrow cells cultured in vitro. *Connect Tissue Res*. 2003; 44(3-4): 188-97. doi: 10.1080/03008200390229912.
17. Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA. The role of growth factors in the repair of bone. Biology and clinical applications. *J Bone Joint Surg Am*. 2002; 84(6): 1032-1044. doi: 10.2106/00004623-200206000-00022.

Сведения об авторах:

Муханов М.Л., к.м.н., доцент кафедры ортопедии, травматологии и ВПХ, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар, Россия.

Блаженко А.Н., д.м.н., доцент, профессор кафедры ортопедии, травматологии и ВПХ, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар, Россия.

Афаунов А.А., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой ортопедии, травматологии и ВПХ, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар, Россия.

Богданов С.Б., д.м.н., доцент, профессор кафедры ортопедии, травматологии и ВПХ, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар, Россия.

Сотниченко А.С., к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар, Россия.

Русинова Т.В., к.б.н., научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар, Россия.

Алиев Р.Р., врач травматолог-ортопед, отделение травматологии и ортопедии, ГБУЗ КБСМП Минздрава Краснодарского края, г. Краснодар, Россия.

Адрес для переписки:

Муханов М.Л., ул. Артышкова В.Д., 3-128, г. Краснодар, Россия, 350016
Тел: +7 (961) 509-15-81
E-mail: ortotrauma@yandex.ru

Статья поступила в редакцию: 07.11.2021

Рецензирование пройдено: 16.11.2021

Подписано в печать: 01.12.2021

Information about authors:

Mukhanov M.L., candidate of medical sciences, associate professor at department of traumatology, orthopedics and military field surgery, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia.

Blazhenko A.N., MD, PhD, associate professor, professor at department of traumatology, orthopedics and military field surgery, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia.

Afaunov A.A., MD, PhD, professor, chief of department of traumatology, orthopedics and military field surgery, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia.

Bogdanov S.B., MD, PhD, associate professor, professor at department of traumatology, orthopedics and military field surgery, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia.

Sotnichenko A.S., candidate of medical sciences, associate professor at department of pathological anatomy, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia.

Rusinova T.B., candidate of biological sciences, researcher of central research laboratory, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia.

Aliev R.R., traumatologist-orthopedist, department of traumatology and orthopedics, Clinical Hospital of Emergency Medical Care, Krasnodar, Russia.

Address for correspondence:

Mukhanov M.L., Artyushkova V.D. St., 3-128, Krasnodar, Russia, 350016
Tel: +7 (961) 509-15-81
E-mail: ortotrauma@yandex.ru

Received: 07.11.2021

Review completed: 16.11.2021

Passed for printing: 01.12.2021