

# ЛИОФИЛИЗИРОВАННЫЕ АЛЛОГЕННЫЕ ФАКТОРЫ РОСТА В ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ КАК ПЕРСПЕКТИВНОЕ НАПРАВЛЕНИЕ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ

**LYOPHILIZED ALLOGENIC GROWTH FACTORS IN TRAUMATOLOGY AND ORTHOPEDICS AS A PROMISING DIRECTION OF REGENERATIVE MEDICINE**

**Самодай В.Г. Стариков А.О. Калашников П.И.**  
**Samoday V.G. Starikov A.O. Kalashnikov P.I.**

ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко  
Минздрава России,  
г. Воронеж, Россия

Voronezh State Medical University  
named after N.N. Burdenko,  
Voronezh, Russia

В последние годы проблема высокоэнергетической травмы в мировой практике принимает угрожающие масштабы. При сочетанной травме скелетные повреждения составляют 93 %, в 50 % случаев происходит замедленная консолидация переломов и образование псевдоартрозов. Лечение и реабилитация пациентов с медленно консолидирующимися переломами и ложными суставами часто занимает не один год, что приводит к значительным экономическим затратам. В результате возникает потребность в развитии новых технологий, позволяющих нормализовать регенерацию костной ткани.

**Цель исследования** – разработать методику нормализации остеогенеза при переломах длинных трубчатых костей с использованием комплекса аллогенных лиофилизированных факторов роста в эксперименте.

**Методы исследования.** Для решения поставленных задач в работе используется экспериментальный метод моделирования перелома диафиза бедренной кости у крыс (закрытая остеоклазия). Также используются морфологические, лучевые (рентгенография зоны повреждения), гистологические (с различными типами окраски) методы исследования. Авторами планируется в дальнейшем использовать биохимические и иммуногистохимические методы. Полученные данные подвергнуты статистическому анализу с помощью пакета программ с использованием параметрических критериев.

**Результаты.** Аллогенная богатая тромбоцитами плазма в лиофилизированном виде способна стимулировать репаративный остеогенез при переломах костей. На это указывает анализ R-графических признаков, полученных в эксперименте, анализ гистологических данных, а также статистическая обработка полученного материала. Сроки консолидации в экспериментальной группе животных сократились примерно на 10-12 дней. Также проведенный эксперимент с применением аллогенного лиофилизата факторов роста не выявил каких-либо побочных эффектов. Можно констатировать факт отсутствия реакции со стороны иммунной системы в ответ на введение лиофилизированных тромбоцитарных факторов роста, полученных из аллогенной крови.

**Заключение.** Статистическая обработка полученных результатов позволяет считать, что применение комплекса аутогенных лиофилизированных тромбоцитарных факторов при повреждениях костной ткани эффективно.

**Ключевые слова:** факторы роста; PDGF; репаративный остеогенез; тромбоцитарные факторы роста.

In recent years, the problem of high-energy trauma in world practice has assumed an alarming scale. In a combined trauma, skeletal lesions account for 93 %; 50 % of cases are associated with delayed consolidation of fractures, and the formation of pseudoarthrosis. Therapy and rehabilitation for patients with false joints takes one year or more, which leads to significant economic costs. As a result, there is a need for the development of new technologies that allow us to normalize the regeneration of bone tissue.

**Objective** – to develop a technique for normalizing osteogenesis in fractures of long tubular bones using a complex of allogenic lyophilized growth factors in an experiment with laboratory rats.

**Methods.** To solve the tasks in this work, an experimental method was used to model the fracture of the femoral diaphysis in rats (closed osteoclasia). Morphological, radiologic (X-ray of the lesion zone) and histological (with different types of staining) methods of investigation were also used. The authors plan to further use biochemical and immunohistochemical methods. The data obtained were subjected to statistical analysis using a software package using parametric criteria.

**Results.** Allogenic platelet rich plasma in lyophilized form can stimulate reparative osteogenesis in bone fractures. This is indicated by the analysis of R-graphic features obtained in the experiment, the analysis of histological data, as well as the statistical processing of the obtained material. The terms of consolidation in the experimental group of animals decreased by approximately 10-12 days. Also, an experiment using an allogenic lyophilisate of growth factors did not reveal any side effects. We can state the fact that there is no reaction from the immune system in response to the introduction of allogenic lyophilized growth factors.

**Conclusion.** Statistical processing of the obtained results suggests that the use of a complex of autogenous lyophilized platelet factors for bone damage is effective.

**Key words:** growth factors; PDGF; reparative osteogenesis, platelet growth factors.



**Для цитирования:** Самодай В.Г. Стариков А.О. Калашников П.И. ЛИОФИЛИЗИРОВАННЫЕ АЛЛОГЕННЫЕ ФАКТОРЫ РОСТА В ТРАВМАТОЛОГИИ И ОРТОПЕДИИ КАК ПЕРСПЕКТИВНОЕ НАПРАВЛЕНИЕ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ //ПОЛИТРАВМА / POLYTRAUMA. 2019. № 4, С. 15-28. Режим доступа: <http://poly-trauma.ru/index.php/pt/article/view/188>

В последние годы проблема высокоэнергетической травмы во всем мире принимает угрожающие масштабы. Это связано с ускоренной урбанизацией, развитием технического прогресса и увеличением в связи с этим количества техногенных катастроф, а также с все большим преобладанием в структуре травматизма высокоэнергетической травмы.

При политравме, определенной как сочетанная травма, скелетные повреждения встречаются в 93 % случаев [1], в половине (50 %) случаев происходит замедленная консолидация, а затем и образование псевдоартрозов [2-4]. Несмотря на огромный вклад сил и средств в профилактику травматизма, тенденции к снижению числа пациентов с замедленной консолидацией и образованием псевдоартрозов не наблюдается [5]. В такой ситуации остается актуальным вопрос о способах борьбы с осложнениями, неизбежно возникающими в результате лечения сочетанных травм.

Лечение пациентов с ложными суставами и возврат их к нормальному образу и ритму жизни занимает от одного года и более, что, естественно, приводит к большим экономическим затратам [6]. В результате возникает потребность в развитии новых технологий, позволяющих нормализовать регенерацию костной ткани.

В настоящее время активно изучаются именно эндогенные факторы, влияющие на репаративный процесс. Эти факторы находятся в гармонии между собой, в уникальном природном соотношении. Предложение использования Богатой тромбоцитами плазмы (БоТП) в 1965 г. Marshall R. Urist и открытие в 1986 г. факторов роста (Рита Леви-Монтальчини, Стэнли Козн), участвующих в регенерации тканей, позволили сделать новый шаг в развитии лечения поврежденных, причем как мягких структур, так и костной ткани.

Известно, что тромбоциты играют важную роль в заживлении поврежденных тканей организма, высвобождая при их адгезии и разрушении из альфа-гранул факторы роста [7, 8], которые стимулируют

гистогенез, хемотаксис и дифференцировку клеток [9].

Как правило, для PRP (Platelet Rich Plasma) терапии используется именно аутокровь. Однако использование данного метода лечения ограничено у пациентов, ослабленных соматической патологией и тяжестью состояния. Часто нарушение регенеративной способности встречается именно у таких пациентов.

Одна из главных проблем в использовании аутоБоТП — невозможность длительного хранения и заготовки «про запас». Срок хранения тромбоцитов составляет не более 3 дней. Увеличение этого срока провоцирует выброс провоспалительных цитокинов и других нежелательных для терапии веществ [10, 11].

Основные проблемы применения аутоБоТП заключаются в ограниченных сроках хранения, времени приготовления от момента взятия цельной крови до введения пациенту, стоимости производства плазмы. По нашему мнению, поиск пути решения данных проблем начинается с изучения действия PRP, полученной из аллогенной крови.

На кафедре травматологии и ортопедии Воронежского государственного медицинского университета им. Н.Н. Бурденко с 2005 года ведется работа по изучению проблем, связанных с замедленной консолидацией переломов и псевдоартрозами, а также исследование методов нормализации репаративного остеогенеза [12-18].

Сейчас по многим проблемам трансплантологии ведутся дискуссии, и до сих пор остается открытым вопрос о развитии иммунного ответа на введение аллогенного БоТП или возникновении спонтанной трансплантационной толерантности. Тромбоцит — клеточная структура, соответственно, введение аллоБоТП будет подчиняться всем законам и принципам трансплантологии и иммунологии.

Иммунный гомеостаз достигается путем непрерывного взаимодействия системного анализа и предыдущего опыта организма. Установлено, что аллоантигены не распознаются системой врожденно-го иммунитета [19].

Активация прямого иммунитета возникает сразу после трансплантации. Донорские лейкоциты-пассажиры из трансплантата мигрируют в лимфоцитарные органы и созревают, приобретая функции донорспецифических антигенпрезентирующих клеток (АПК). Доказано, что большинство иммунных процессов связаны с наличием иммунокомпетентных клеток — лейкоцитов. Трансфузии тромбоцитов сами по себе не могут вызвать выработку НЛА антител, так как они не содержат антигенов 2 класса, необходимых для Т-хелперной активации В-клеток и продукции антител [20].

Существует процесс лейкодеплекции, применяемый сегодня в процессе приготовления тромбоцитарных концентратов. Фильтры в аппаратах афереза препятствуют появлению лейкоцитов в концентрате, что делает применение аллоБоТП еще более привлекательным с позиции иммунного ответа [21].

При реализации непрямого пути в АПК реципиента происходит процессинг донорских белков, синтез которых контролируется минорными генами гистосовместимости. Как известно, активация непрямого пути представляет ведущую роль в развитии хронического отторжения. Для второго пути сенсibilизации реципиента необходима антигенная презентация посредством клеток, экспрессирующих НЛА 2 класса, которого в тромбоцитах нет [10, 20].

В доступной мировой литературе уже есть информация о применении аллоБоТП в направленной регенерации тканей [23-26]. Исследована эффективность комбинации аллогенной богатой тромбоцитами плазмы с коллагеном при лечении дефектов бедренной кости у крыс [27].

Использование аллоБоТП значительно упрощает схему приготовления и применения PRP, так как используется донорская кровь. Но проблема хранения все также актуальна.

Одним из перспективных методов сохранения функциональности факторов роста является сублимационное высушивание. Лиофилизация — современный метод сухого высушивания веществ, при кото-

ром субстанция замораживается и в вакуумных условиях возгоняется растворитель. Из-за отсутствия воздействия высоких температур, белок не денатурирует и сохраняется без потери своей структурной и функциональной целостности. Лиофилизированные ткани и препараты при увлажнении восстанавливают свои первоначальные свойства [28]. На кафедре травматологии и ортопедии ВГМУ имени Н.Н. Бурденко в 2012 году разработана «Технология лиофилизации обогащенной тромбоцитами плазмы с сохранением жизнеспособности факторов TGF, PDGF, VEGF» [18]. Доказано, что при лиофилизации белковая структура факторов роста сохраняется. В лиофилизированной плазме концентрация факторов роста почти такая же, как в аутоPRP [4]. Мы предполагаем, что аллоЛТФР (лиофилизированные тромбоцитарные факторы роста, полученные из аллогенной крови) способны стимулировать остеогенез также, как и аутоPRP, и сохраняются неограниченно долго. В нашем эксперименте лиофилизат хранился при комнатной температуре  $-26^{\circ}\text{C}$  в течение 16 дней. Применять лиофилизат возможно в совершенно любой форме: гель, порошок или раствор, что делает процедуру не только эффективной, но и простой.

За рубежом предложен способ приготовления аллоЛТФР [29], однако использование в практике данной разработки невозможно, так как отсутствует информация о проведении исследования и наличии доказательной базы по безопасности препарата.

**Цель исследования** — разработать методику стимуляции остеогенеза при переломах длинных трубчатых костей с использованием комплекса аллогенных лиофилизированных факторов роста в эксперименте.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проводили на базе НИИ ЭБМ ВГМУ им. Н.Н. Бурденко на кафедре травматологии и ортопедии в 2018-2019 годах в два этапа.

Протокол эксперимента, содержания и выведения животных из

опыта был составлен в соответствии с принципами биоэтики и правилами лабораторной практики, представленными в «Руководстве по содержанию и использованию лабораторных животных» (1996 г.) и приказе МЗ РФ № 266 от 19.06.2003 г. Все манипуляции проводились с соблюдением правил гуманного обращения с животными (Report of the AVMA Panel on Euthanasia JAVMA, 2001 г.), в соответствии с требованиями «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Директива 86/609 ЕЕС). Копии всех материалов хранятся у авторов. Протокол исследования одобрен этическим комитетом ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко г. Воронеж (протокол № 3 от 15 ноября 2018 года).

Для проведения I этапа эксперимента нужен подсчет концентрации тромбоцитов в используемой плазме у лабораторных животных. В среднем у лабораторных крыс, участвующих в I этапе эксперимента (по нашим лабораторным данным) в крови содержится  $5,0-8,5 \times 10^8$  тромбоцитов/мл. При приготовлении аллоЛТФР их концентрация увеличивается примерно в 3 раза. Известно, что в каждом тромбоците содержится 1200 молекул PDGF массой 26-30 кДа [30]. Рассчитав массу PDGF в 1 мл цельной крови, получаем  $15,6 \times 10^{12} - 30,6 \times 10^{12}$  кДа. Известно, что для стимуляции направленного действия в регенерации достаточно содержания PDGF 5-20 нг/мл [31]. Для доказательства эффективности нашей методики требуется перевести кДа в нг. Известно, что 1 кДа равен  $1,66043 \pm 0,0031 \times 10^{-12}$  нг. [32]. Тогда выходит, что в 1 мл цельной крови получается концентрация PDGF 25,9-50,8 нг/мл. И, соответственно, из 0,5 мл можно получить 12,95-22,415 нг PDGF. Таким образом, можно сделать вывод, что объема 0,5 мл цельной крови, используемой для приготовления ЛТФР, достаточно для влияния на репаративный остеогенез.

Для I (первого) этапа исследования (забор крови у животных и приготовление лиофилизата ал-

лоБоТП) было взято 5 конвекционных нелинейных стоковых крыс-самцов 10-месячного возраста. Манипуляции производили под ингаляционным наркозом раствором изофлурана с обеспечением дополнительного поступления кислорода для предотвращения удушья. После наступления хирургической стадии наркоза выстригали шерсть в области предполагаемой пункции и дезинфицировали кожу спиртовым раствором хлоргексидина. Пальпаторно определяли сердечный толчок и осуществляли взятие крови пункцией сердца с использованием вакуумных контейнеров, содержащих 3,8% цитрат натрия [33]. Итого в эксперименте использовалось 30 мл цельной крови, разделенной на 5 стерильных пробирок, по 6 мл соответственно каждой группе.

Далее из полученной цельной крови получали БоТП по методу Messora [34]. Пронумерованные пробирки одновременно центрифугировали с моментом 160 g в течение 20 минут (рис. 1). Отделившаяся плазма была отобрана в пустые стерильные пробирки. Повторное центрифугирование пробирок проводили с моментом 400 g в течение 15 минут (рис. 2). Отбирали нижнюю фракцию, где концентрация тромбоцитов составляла от  $15,0-29,0 \times 10^8$  тромбоцитов/мл. Полученный в результате центрифугирования тромбоцитарный концентрат быстро замораживали в холодильной камере при температуре  $-40^{\circ}\text{C}$ . После чего подвергали сублимационной сушке в лиофильной камере ЛС-1000 в течение минимум пяти минут в диапазоне температур от  $2^{\circ}\text{C}$  до  $30^{\circ}\text{C}$  (рис. 3). Полученный лиофилизат (5 пробирок) стерилизовали в озоновой камере «Орион» с экспозицией не менее 140 минут, далее его помещали в стерильный герметичный контейнер, хранили в сухих условиях.

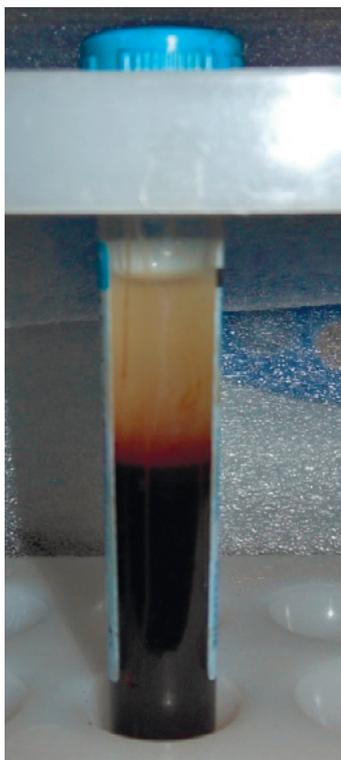
Во II (втором) этапе эксперимента участвовали 10 подгрупп лабораторных животных, в которые входили нелинейные конвекционные крысы 5-6-месячного возраста, весом в 450-550 г, самцы, по 12 крыс в подгруппе (табл. 1).

1 группа — экспериментальная (60 крыс) — с оценкой остеогенеза

Таблица 1  
Характеристика исследуемых групп лабораторных животных  
Table 1  
Characteristics of studied groups of laboratory animals

Характеристика групп Characteristics of groups	Номер подгруппы Number of subgroup	Сроки оценки остеогенеза после остеоклазии Terms of estimation of osteogenesis after osteoclastosis	Кол-во животных Amount of animals
Экспериментальная группа Experimental group	1.1	5-е сутки / 5 <sup>th</sup> day	12
	1.2	14-е сутки / 14 <sup>th</sup> day	12
	1.3	21-е сутки / 21 <sup>st</sup> day	12
	1.4	32-е сутки / 32 <sup>nd</sup> day	12
	1.5	44-е сутки / 44 <sup>th</sup> day	12
Контрольная группа Control group	2.1	5-е сутки / 5 <sup>th</sup> day	12
	2.2	14-е сутки / 14 <sup>th</sup> day	12
	2.3	21-е сутки / 21 <sup>st</sup> day	12
	2.4	32-е сутки / 32 <sup>nd</sup> day	12
	2.5	44-е сутки / 44 <sup>th</sup> day	12

**Рисунок 1**  
Результаты центрифугирования  
пробирки с моментом 160gv  
течение 20 минут  
Figure 1  
Results of test tube  
centrifugation with moment of  
160gb during 20 minutes



**Рисунок 2**  
Результат повторного  
центрифугирования с моментом  
400 gv течение 15 минут  
Figure 2  
Result of recurrent centrifugation  
with moment of 400 gb during 15  
minutes



**Рисунок 3**  
Лиофилизированные  
аллогенные факторы роста,  
полученные из аллогенной  
крови  
Figure 3  
Lyophilized allogenic growth  
factors of allogenic blood



на 5-е сутки (12 крыс) (в дальнейшем авторы планируют использовать эту подгруппу для гистохимического анализа, так как в данный срок признаки костеобразования не видны, а иммуногенные процес-

сы протекают в полном объеме), на 14-е сутки (12 крыс), на 21-е сутки (12 крыс), на 32-е сутки (12 крыс), на 44-е сутки (12 крыс);

2 группа – контрольная (60 крыс) – 5 подгрупп по 12 осо-

бей животных (соответственно аналогичным срокам экспериментальных подгрупп).

До начала эксперимента производили наблюдение за животными в течение 2 недель. Животных поме-

щали в небольшую клетку с ограниченной площадью для перемещения. Кормление животных производили по имеющимся стандартам, одинаково в обеих группах. Все манипуляции проводили под наркозом, экспозицией изофлурана. Производили ручную остеоклазию правой бедренной кости, формируя закрытый перелом с-н/3 бедра. АллоЛТФР из каждой пробирки разводили в 6 мл 0,9 % NaCl и полученный раствор вводили в область перелома в объеме 0,25 мл на первые и вторые сутки после остеоклазии. В контрольной группе использовался раствор 0,9 % NaCl в объеме 0,25 мл аналогично экспериментальной группе. Перед выведением животных из эксперимента были выполнены рентгеновские снимки в одной проекции с использованием стационарной ветеринарной рентгенологической системы HF-525plus EcoRay в режиме 30 mA 0.07 kV с экспозицией в 1 сек. Во время рентгенографии животные находились в наркозе, снимки выполняли в положении животного на спине, исследуемую конечность вытягивали вдоль туловища (рис. 4). Группы были выведены из эксперимента путем применения летальной экспозиции изофлурана. Производили экзартикуляцию конечности в тазобедренном суставе. Фрагмент кости вместе с костной мозолью фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, после чего погружали в декальцинирующую среду. Далее проводили стандартную процедуру проводки и заливали материал в парафин. Парафиновые среды толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином эозином и по методике Массона. Микроскопию проводили на световом микроскопе с установленным на нем оборудованием для проведения микрофотографии. Полученную в результате микроскопии информацию обрабатывали на персональном компьютере с использованием программы ImageG, при помощи этой же программы проводили морфометрию.

Для количественной и качественной оценки репаративного остеогенеза были подсчитаны площади соединительнотканного компонента гиалинового хряща и компактной

костной ткани для оценки динамики по абсолютным и относительным показателям. Также был произведен подсчет общего числа хондроцитов и остеоцитов, обнаруженных в ткани исследуемых костных мозолей. Для информационной интерпретации полученных результатов проведен морфолого-статистический анализ на ПЭВМ с помощью пакетов программ Statistica 8.0, SSPS 13, с использованием пара-

генологических признаков начала консолидации перелома в обеих группах нет. На 14-е сутки (рис. 5) на рентгенографическом исследовании поврежденного бедра отличий между экспериментальной группой и группой контроля также нет. Однако видно, что репаративный процесс уже начался, линия перелома еще прослеживается, края отломков сглажены. Контуры кортикального слоя прерывистые, что гово-

#### Рисунок 4

**Рентгенография животных в положении на спине, исследуемую конечность вытягивали вдоль туловища**

#### Figure 4

**X-ray imaging of animals in supine position; an examined limb was stretched along the body**



метрических критериев. Данные представлены в виде среднего значения (M) и стандартной ошибки средней (m). Значимость различий оценивали по критерию Стьюдента, считая статистически достоверным значение  $p < 0,05$ .

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рентгенографическом исследовании, выполненном в обеих группах на 5-е сутки, наблюдается схожая картина. Линия перелома прослеживается четко, края отломков заострены. Признаки образования костной мозоли не визуализируются. В связи с этим можно констатировать, что рент-

рит о гипертрофии надкостницы и начале формирования периостальной мозоли.

Рентгенографическое исследование на 21-е сутки эксперимента (рис. 6), показало, что, несмотря на значительное смещение отломков, наблюдается усиление регенерации тканей в области перелома в экспериментальной группе. Линия перелома в этой группе не прослеживается. Видна периостальная реакция. Однако у контрольной группы линия перелома еще прослеживается, разряженность костной ткани в зоне перелома указывает на остеопению.

На 32-е сутки на рентгенограммах (рис. 7) определяется выраженная

костная мозоль перелома у животных экспериментальной группы. В контрольной группе рентгенологическая картина практически полностью соответствует той, что наблюдалась у экспериментальной группы на 21-й день, что указывает на отставание процесса регенерации примерно на 10-12 дней.

На 44-е сутки на рентгенограммах у животных экспериментальной группы произошло полное сращение перелома (рис. 8). Линия перелома не различима. Явные признаки сформированной парасальской мозоли. У животных контрольной группы наблюдается картина продолжающегося формирования костной мозоли. Рентгенологическая картина соответствует картине консолидации перелома у животных экспериментальной группы на 32-й день.

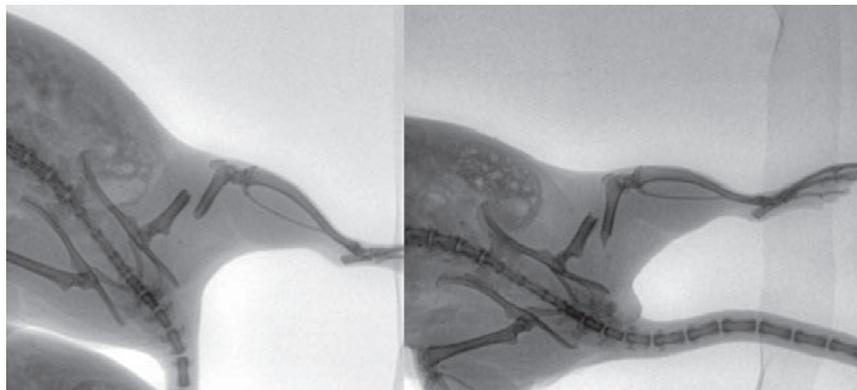
Количественный анализ тканевого состава костной мозоли осуществлялся путем подсчета абсолютного и относительного показателей площади соединительной, хрящевой и костной ткани, общего числа хондроцитов и остеоцитов. У животных контрольной группы на 14-е сутки в тканевом составе костной мозоли выявлено преобладание плотной волокнистой соединительной ткани (ПВСТ), костная ткань отсутствовала (табл. 2, 3, рис. 9).

Показатели тканевого состава костной мозоли в экспериментальной группе на 14-е сутки отличались от данных контрольной: абсолютное и относительное количество ПВСТ было достоверно ниже, а площадь хрящевой и костной ткани увеличилась (табл. 2). Общее число хондроцитов и остеоцитов достоверно увеличилось в сравнении с контрольной группой (табл. 3, рис. 10).

В микропрепаратах области консолидации, изъятых у животных контрольной группы на 21-е сутки, были обнаружены незначительные фрагменты компактной костной ткани, в центре виден деятельный красный костный мозг, у одного из краев располагается костная мозоль, состоящая большей частью из ПВСТ с единичными полнокровными сосудами капиллярного типа, расположенными поверхностно (рис. 11).

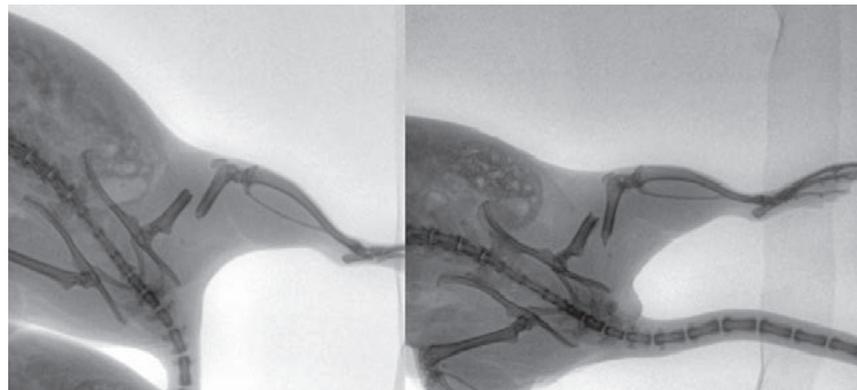
**Рисунок 5**  
Рентгенография поврежденного бедра на 14-е сутки: (слева) контрольная группа, (справа) экспериментальная

**Figure 5**  
X-ray imaging of injured femur on the day 14: (to the left) control group, (to the right) experimental group



**Рисунок 6**  
Рентгенография перелома на 21-е сутки: (слева) группа контроля, (справа) экспериментальная группа

**Figure 6**  
X-ray imaging of fracture on the day 21: (to the left) control group, (to the right) experimental group



**Рисунок 7**  
Рентгенография на 32-е сутки эксперимента: (слева) группа контроля, (справа) экспериментальная группа

**Figure 7**  
X-ray imaging on the day 32 of the experiment: (to the left) control group, (to the right) experimental group

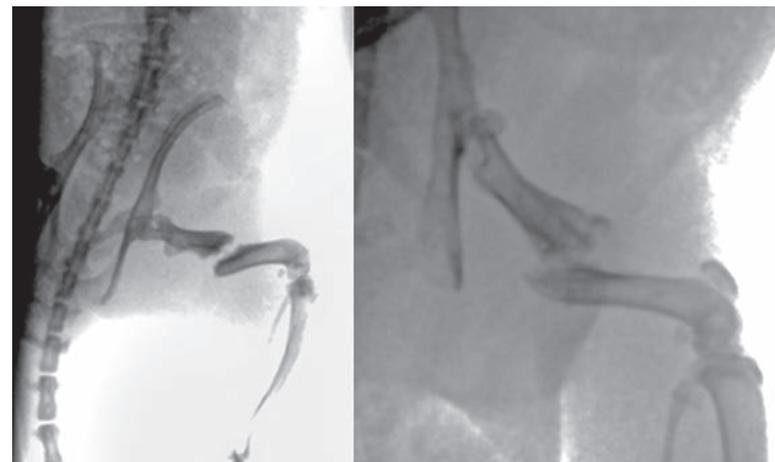


Таблица 2  
Соотношение тканевых компонентов и их площадь в мкм  
Table 2  
Ratio of tissue components and their square,  $\mu\text{m}$

		Контроль / Control	Эксперимент / Experiment
14-е сутки 14 <sup>th</sup> day	Площадь соединительной ткани (мкм) Square of connective tissue ( $\mu\text{m}$ )	427.81 97 %	286 84 %
	Площадь гиалинового хряща (мкм) Square of hyaline cartilage ( $\mu\text{m}$ )	11.03 3 %	41.7 12 %
	Площадь костной ткани (мкм) Square of bone tissue ( $\mu\text{m}$ )	0	13.64 4 %
21-е сутки 21 <sup>st</sup> day	Площадь соединительной ткани (мкм) Square of connective tissue ( $\mu\text{m}$ )	341.5 53 %	204.875 32 %
	Площадь гиалинового хряща (мкм) Square of hyaline cartilage ( $\mu\text{m}$ )	195.2917 30 %	237.7083 37 %
	Площадь костной ткани (мкм) Square of bone tissue ( $\mu\text{m}$ )	110.9583 17 %	196.4167 31 %
32-е сутки 32 <sup>nd</sup> day	Площадь соединительной ткани (мкм) Square of connective tissue ( $\mu\text{m}$ )	259.43 44 %	197.98 32 %
	Площадь гиалинового хряща (мкм) Square of hyaline cartilage ( $\mu\text{m}$ )	191.97 33 %	211.35 35 %
	Площадь костной ткани (мкм) Square of bone tissue ( $\mu\text{m}$ )	137.62 23 %	201.2 33 %
44-е сутки 44 <sup>th</sup> day	Площадь соединительной ткани (мкм) Square of connective tissue ( $\mu\text{m}$ )	237.875 40 %	187.7083 32 %
	Площадь гиалинового хряща (мкм) Square of hyaline cartilage ( $\mu\text{m}$ )	184 31 %	183.5833 32 %
	Площадь костной ткани (мкм) Square of bone tissue ( $\mu\text{m}$ )	169.5 29 %	209.1667 36 %

Таблица 3  
Количество клеток в поле зрения (усл. ед.)  
Table 3  
Number of cells per field of vision (CU)

		Контроль / Control	Эксперимент / Experiment
5-е сутки 5 <sup>th</sup> day	Кол-во хондроцитов / Amount of chondrocytes	0	0
	Кол-во остеоцитов / Amount of osteocytes	0	0
14-е сутки 14 <sup>th</sup> day	Кол-во хондроцитов / Amount of chondrocytes	8.34	67.9
	Кол-во остеоцитов / Amount of osteocytes	0	9.34
21-е сутки 21 <sup>st</sup> day	Кол-во хондроцитов / Amount of chondrocytes	220.7917	1863.125
	Кол-во остеоцитов / Amount of osteocytes	66.66667	188.3333
32-е сутки 32 <sup>nd</sup> day	Кол-во хондроцитов / Amount of chondrocytes	974.56	1234.83
	Кол-во остеоцитов / Amount of osteocytes	101.39	279.22
44-е сутки 44 <sup>th</sup> day	Кол-во хондроцитов / Amount of chondrocytes	1243.708	385.0833
	Кол-во остеоцитов / Amount of osteocytes	129.0833	519.375

Также был проведен количественный анализ тканевого состава костной мозоли путем подсчета абсолютного и относительного показателей площади соединительной, хрящевой и костной ткани, а также общего количества хондроцитов и остеоцитов. В тканевом составе костной мозоли преобладала ПВСТ, на втором месте по отношению к общей площади была хрящевая ткань, костная ткань

визуализируется в виде небольших островков рыхлых мелких костных балок (табл. 2, 3).

В микропрепаратах, полученных от животных экспериментальной группы на 21-е сутки наблюдения, видны фрагменты компактной костной ткани. В толще ПВСТ видны крупные островки гиалинового хряща, покрытые широкой надхрящницей с большим количеством хондробластов. Примерно в

половине исследуемых препаратов видны участки формирующихся костных балок (рис. 12).

Также от данных в контрольной группе отличались абсолютные и относительные показатели тканевого состава костной мозоли: абсолютное и относительное количество ПВСТ было достоверно ниже, однако соотношение хрящевой и костной ткани было практически одинаковым. Общее число хон-

дроцитов и остеоцитов было также достоверно выше аналогичных показателей в группе временного контроля (табл. 2, 3).

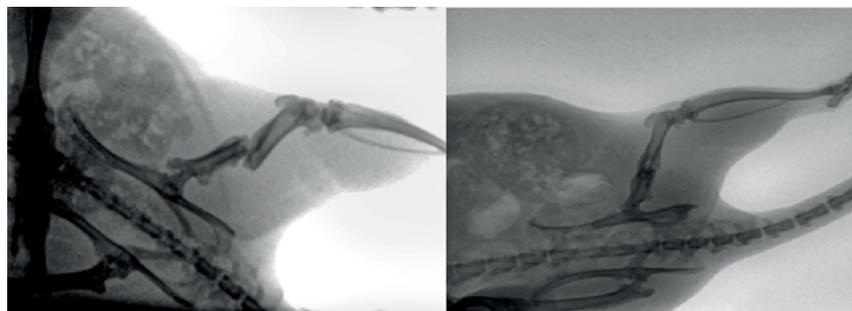
Таким образом, на 21-е сутки наблюдения животных как контрольной, так и экспериментальной группы были обнаружены признаки формирования костной мозоли, однако в группе животных, которым не было произведено введение аллоЛТФР, она состояла преимущественно из ПВСТ с небольшим количеством мелких островков хрящевой ткани и единичными очажками костеобразования. В экспериментальной группе животных

**Рисунок 8**

**Рентгенография на 44-е сутки эксперимента: (слева) группа контроля, (справа) экспериментальная группа**

**Figure 8**

**X-ray imaging on the day 44 of the experiment: (to the left) control group, (to the right) experimental group**

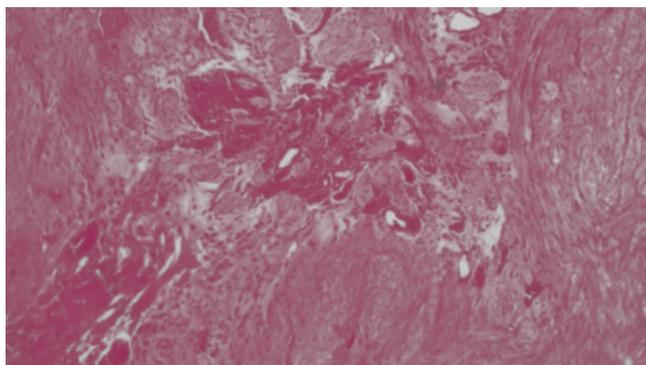


**Рисунок 9**

**Зона перелома бедра крысы спустя 14 суток с момента остеоклазии. Контрольная подгруппа № 2.2, окраска гематоксилином-эозином, (x 100). Обширные поля грубоволокнистой соединительной ткани.**

**Figure 9**

**The rat's hip fracture site in 14 days after osteoclasia. The control subgroup No.2.2, hematoxylin and eosin staining (x 100). Extensive fields of rough connective tissue.**

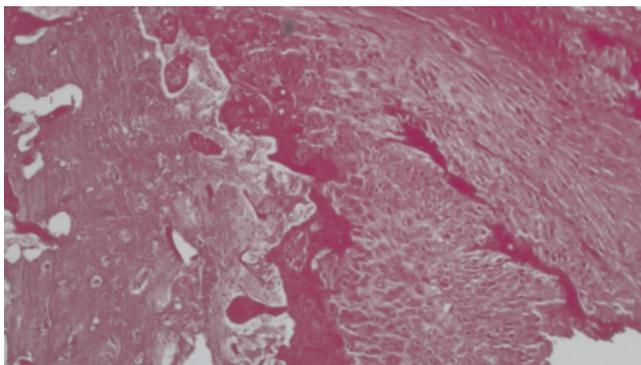


**Рисунок 10**

**Зона перелома бедра крысы спустя 14 суток с момента остеоклазии. Экспериментальная подгруппа № 1.2, окраска гематоксилином-эозином, (x 100). Широкая полоса соединительной ткани и островки формирования хряща.**

**Figure 10**

**The rat's hip fracture site in 14 days after osteoclasia. The experimental subgroup No.1.2, hematoxylin and eosin staining (x 100). A wide strip of connective tissue, and signs of cartilage formation.**



были более выражены признаки костеобразования, преимущественно на месте вновь образованной хрящевой ткани (рис. 9, 10).

При количественном анализе абсолютного и относительного показателей тканевого состава костной мозоли контрольной группы на 32-е сутки преобладала плотная волокнистая соединительная ткань, чуть меньше по отношению к общей площади занимала хрящевая ткань, а костная ткань была в виде небольших островков, рыхлых мелких костных балок (табл. 2, 3, рис. 13).

При сравнении абсолютных и относительных показателей тканевого состава костной мозоли в

экспериментальной группе отмечается достоверное снижение объема ПВСТ, показатели хрящевой и костной ткани достоверно выше. Также достоверно увеличилось количество хондроцитов и остеоцитов (табл. 2, 3, рис. 14).

В микропрепаратах, полученных из материала контрольной группы животных на 44-е сутки наблюдения, видно, что в толще соединительной ткани имеются крупные островки хрящевой ткани, покрытые относительно широкой надкостницей. Пространство между костными балками заполнено преимущественно рыхлой волокнистой соединительной тканью (рис. 15).

В микропрепаратах, полученных от животных экспериментальной группы на 44-е сутки наблюдения отмечается гиалиновый матрикс — слабо выраженный, оптически плотный, с большим числом хондроцитов, у одного конца которого видны признаки формирования новых хондроцитов из хондробластов, а с другой стороны хондроциты подвергаются преобразованию в остеоциты (рис. 16).

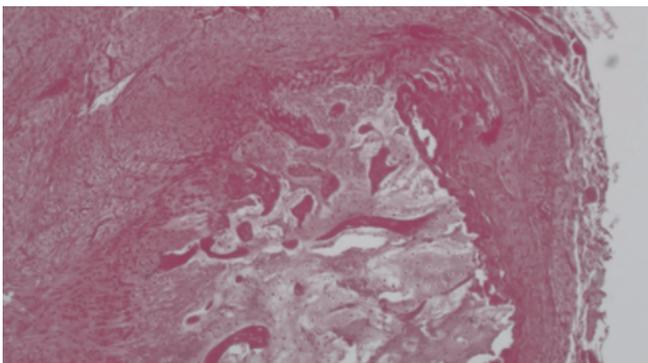
При проведении количественного анализа и определении относительных показателей было обнаружено, что площадь соединительной ткани у контрольных животных была выше, чем в экспериментальной группе, в то время как количество

**Рисунок 11**

Зона перелома бедра крысы спустя 21 сутки с момента остеоклазии. Контрольная подгруппа № 2.3, окраска гематоксилином-эозином, (x 100). Широкая надкостница и мелкие островки молодой хрящевой ткани

**Figure 11**

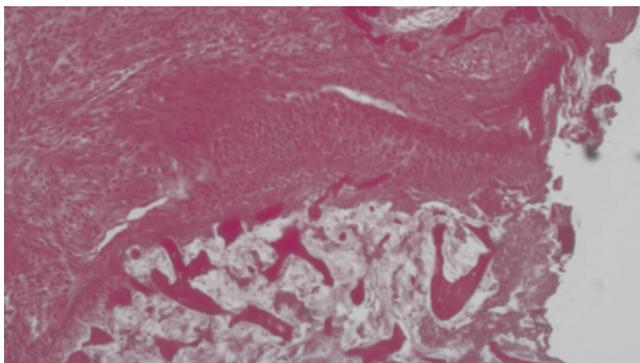
The rat's hip fracture site in 21 days after osteoclasia. The control subgroup No.2.3, hematoxylin and eosin staining (x 100). Wide periosteum, and small islets of new cartilaginous tissue

**Рисунок 12**

Зона перелома бедра крысы спустя 21 сутки с момента остеоклазии. Экспериментальная подгруппа № 1.3, окраска гематоксилином-эозином, (x 100). Крупные островки гиалинового хряща и признаки начинающегося костеобразования.

**Figure 12**

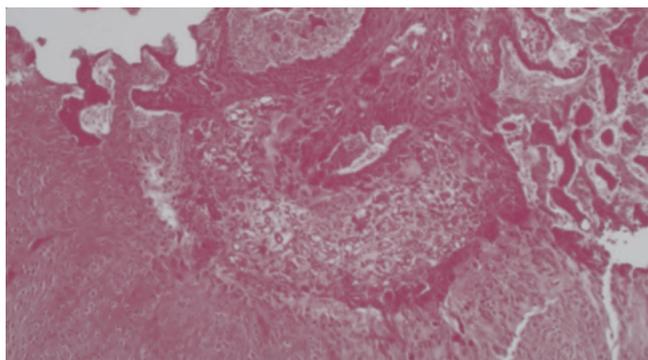
The rat's hip fracture site in 21 days after osteoclasia. The experimental subgroup No.1.3, hematoxylin and eosin staining (x 100). Big islets of hyaline cartilage and signs of bone formation.

**Рисунок 13**

Зона перелома бедра крысы спустя 32 дня с момента остеоклазии. Контрольная подгруппа № 2.4, окраска гематоксилином-эозином, (x 100). Островки хрящевой ткани со «щелями» в центре, довольно большое количество соединительной ткани вокруг

**Figure 13**

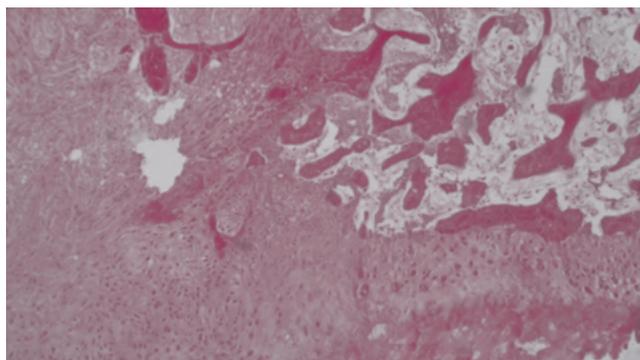
The rat's hip fracture site in 32 days after osteoclasia. The control subgroup No.2.4, hematoxylin and eosin staining (x 100). Islets of cartilaginous tissue with "crevices" in the center; quite high amount of connective tissue around

**Рисунок 14**

Зона перелома бедра крысы спустя 32 дня с момента остеоклазии. Экспериментальная подгруппа № 1.4, окраска гематоксилином-эозином, (x 100). Хрящевая ткань в виде «полоски» формирование кости как из хряща, так и из соединительной ткани

**Figure 14**

The rat's hip fracture site in 32 days after osteoclasia. The experimental subgroup No.1.4, hematoxylin and eosin staining (x 100). Cartilaginous tissue in view of "a strip". The bone forms both from cartilage and connective tissue



хрящевой ткани было примерно одинаковым. Однако площадь костной ткани в группе эксперимента была достоверно выше (табл. 2, 3).

Таким образом, можно сделать выводы, что морфологическая картина, а также количественная оценка тканевого состава костной мозоли у животных контрольной группы на 44-е сутки эксперимента сходна с таковыми у животных

экспериментальной группы на 21-е сутки наблюдения (табл. 2, 3)

При проведении количественного анализа у животных экспериментальной группы на 44-е сутки и определении относительных показателей площади основных тканевых компонентов, входящих в состав костной мозоли, соотношение соединительной, хрящевой и костной ткани было примерно одинаковым, причем площадь костной

ткани была достоверно выше, чем у животных из группы временного контроля. Общее число хондроцитов и остеоцитов здесь имеет достоверную двунаправленную динамику по сравнению с общим числом этих клеток у животных контрольной группы, что указывает на терминальную фазу регенеративного процесса в костной ткани (табл. 2, 3)

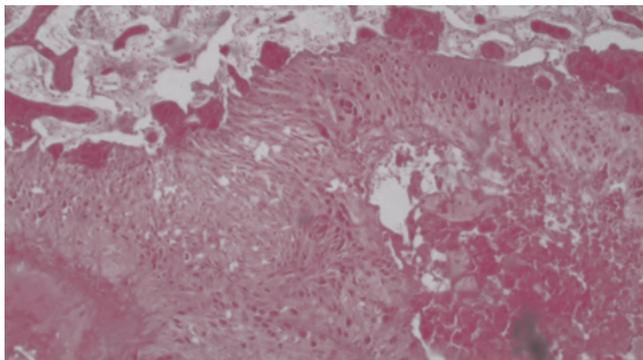
Таким образом, на 44-е сутки эксперимента были выявлены призна-

### Рисунок 15

Зона перелома бедра крысы спустя 44 дня с момента остеоклазии. Контрольная подгруппа № 2.5, окраска гематоксилином-эозином, (x 100). «Полоска хряща» с признаками костеобразования с одной из сторон

### Figure 15

The rat's hip fracture site in 44 days after osteoclasia. The control group No. 2.5, hematoxylin and eosin staining (x 100). "A strip of cartilage" with signs of bone formation on one side

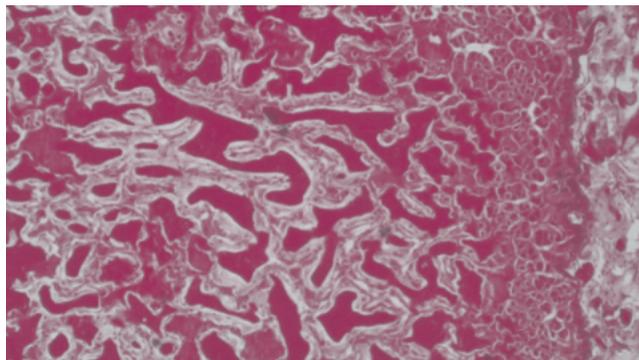


### Рисунок 16

Зона перелома бедра крысы спустя 44 дня с момента остеоклазии. Экспериментальная подгруппа № 1.5, окраска гематоксилином-эозином, (x 100). Активное костеобразование на месте тонкой полоски хряща

### Figure 16

The rat's hip fracture site in 44 days after osteoclasia. The experimental subgroup No.1.5, hematoxylin and eosin staining (x 100). Active bone formation in site of a thin strip of cartilage



ки формирования костной ткани, которых не было в костной мозоли по сравнению с контрольной группой животных, о чем свидетельствует наличие большого количества участков костеобразования как на месте хряща, так и из соединительной ткани. Также в группе животных, получавших аллоЛТФР, было обнаружено большое число сосудов в толще костной мозоли, которые, вероятно, усиливали трофику и способствовали более скорому костеобразованию.

По полученным данным можно констатировать достоверность изменения площади каждой из стромальных тканей по отношению к предыдущему сроку на уровне  $p < 0,05$ .

Так, для соединительной ткани (контроль) изменения площади соединительной ткани являются достоверными и динамичными на сроках от 5-х до 14-х суток и от 14-х до 21-х суток, а также от 21-х к 32-м суткам. Изменения площади соединительной ткани на 44-е сутки относительно показателей 32-х суток есть, но они не являются достоверно значимыми ( $p > 0,05$ ). По изменению площади соединительной ткани (эксперимент) достоверно значимые изменения прослеживаются только между показателями от 14-х к 21-м суткам, по всем остальным срокам изменение площади соединительнотканного

компонента было незначительным и недостоверным).

Изменение площади гиалиновой хрящевой ткани у контрольных групп животных носило достоверный характер по срокам от 14-х до 21-х суток, по всем остальным срокам изменение площади было однонаправленным и проявляло тенденцию к снижению без достоверных изменений относительно предыдущего срока наблюдения. Площадь гиалинового хряща для экспериментальной группы животных показывала достоверно значимые изменения по срокам от 14-х к 21-м и от 32-х к 44-м суткам, тогда как изменение площади гиалинового хряща с 5-14-х и 21-х суток по 32-е было незначительное ( $p > 0,05$ )

Изменение площади костной ткани в контрольной группе животных носило достоверный характер по всем срокам наблюдения. В экспериментальной группе животных достоверные изменения площади костной ткани выявлены на сроке 21-х суток относительно 14-х суток. В дальнейшем изменения площади костного компонента были незначительны и недостоверны на фоне общей тенденции повышения относительно предыдущих сроков. О выраженных достоверных изменениях площади костной ткани можно говорить по всем срокам наблюдения относительно 14-х суток эксперимента ( $p < 0,05$ ).

Площадь первичной хрящевой мозоли, образованной хондроцитами и остеоцитами в экспериментальной группе достоверно больше относительно контрольной группы на 14-е сутки эксперимента, а затем снижается в хронодинамике наблюдения до минимальных значений к 21-м суткам, оставаясь достоверно ниже таковых значений в контроле (рис. 17).

Таким образом, скорость образования хрящевой мозоли, состоящей из зрелых хондроцитов, наиболее выражена в первые сроки наблюдения в экспериментальной группе в сравнении с контролем ( $p < 0,05$ ).

Общая площадь гиалинового хряща в зоне сращения достоверно повышалась спустя 21 сутки и была максимальной, постепенно уменьшаясь в объеме к концу эксперимента, оставаясь только в виде небольших островков. Показатели контрольной группы имели сходную динамику, но с отставанием приблизительно на десять дней ( $p < 0,05$ ) (рис. 18).

Процесс формирования кости на месте первичной костной мозоли у животных экспериментальной группы начинался на 21-е сутки наблюдения, имея небольшую площадь в виде островков в толще гиалинового хряща, тогда как в контрольной группе этот процесс был практически не заметен ( $p < 0,05$ ).

Начиная с 21-х суток у животных экспериментальной группы число хондроцитов в поле зрения достоверно снижалось. Динамика изменения числа хондроцитов контрольной группы полностью повторяла опыт с незначительным отставанием.

**ВЫВОДЫ:**

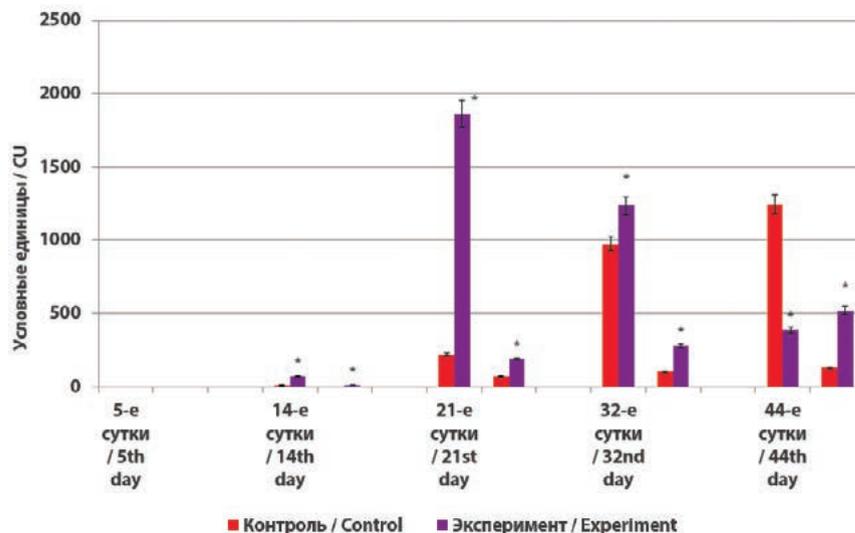
1. Адлогенная богатая тромбоцитами плазма в лиофилизированном виде способна стимулировать репаративный остеогенез. На это указывает анализ R-графических признаков, полученных в эксперименте в результате сравнения полученных данных в контрольной и экспериментальной группах животных. Рентгенологические и морфологические признаки остеогенеза в экспериментальной группе опережают картину регенерации в контрольной группе примерно на 10-12 дней. Это

**Рисунок 17**

Количество хондроцитов и остеоцитов в хронодинамике эксперимента.

**Figure 17**

The amount of chondrocytes and osteocytes in time course of the experiment.



**Примечание:** \* на графике это обозначение достоверности изменений относительно контрольной группы по тому же сроку при  $p < 0,05$ .

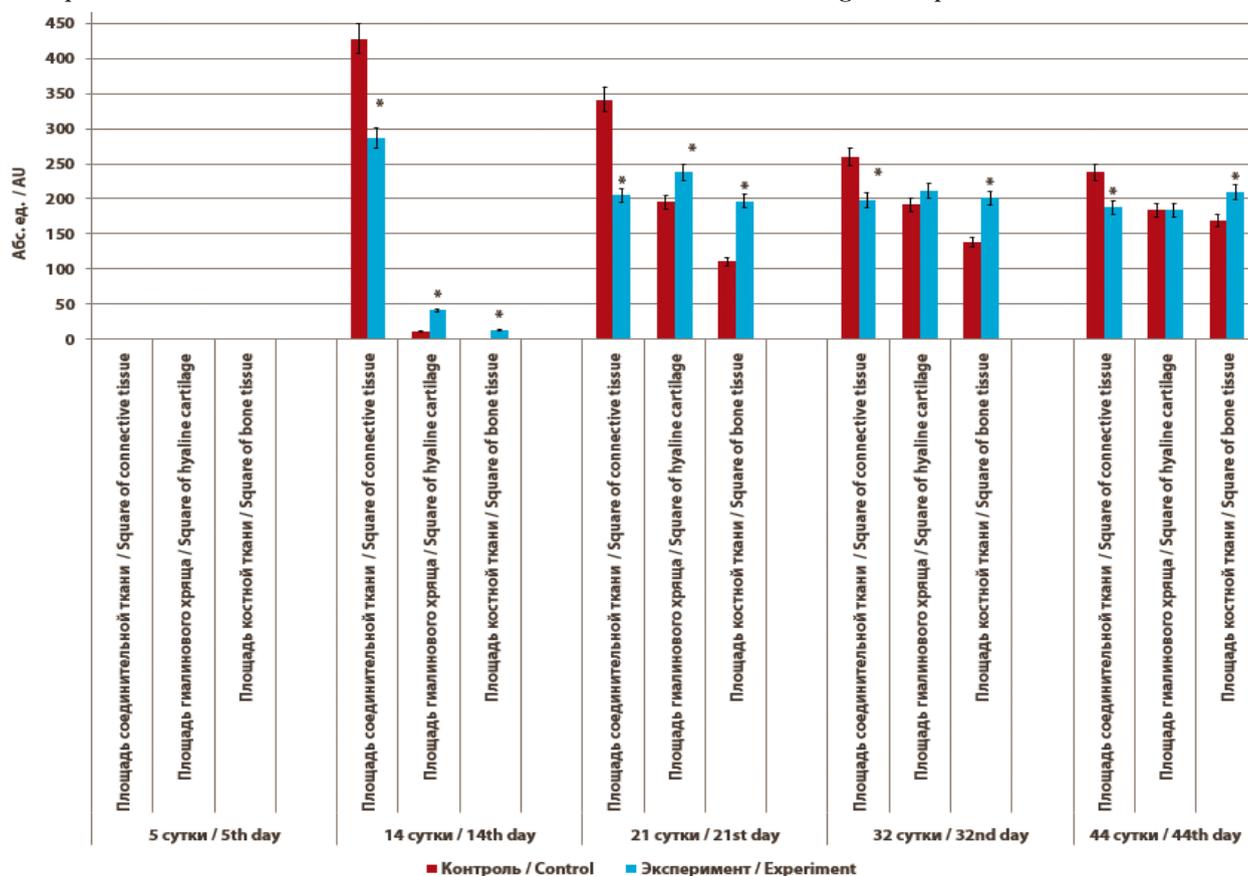
**Note:** \* - reliability of changes in relation to the control group;  $p < 0.05$ .

**Рисунок 18**

Площадь соединительной и костной ткани области сращения перелома в хронодинамике эксперимента.

**Figure 18**

The square of connective and bone tissue in site of fracture union during the experiment.



**Примечание:** \* на графике это обозначение достоверности изменений относительно контрольной группы по тому же сроку при  $p < 0,05$ .

**Note:** \* - reliability of changes in relation to the control group;  $p < 0.05$ .

указывает на стимулирующее влияние аллоЛТФР на регенеративную способность костной ткани.

2. Одно из главных преимуществ использования аллоБоТП — возможность длительного хранения и заготовки «про запас». Это позволит применять препарат повсеместно по мере надобности в любом медицинском учреждении и даже амбулаторно.
3. Получение аллоБоТП достаточно простой технологический процесс, не требующий крупных затрат на оборудование и хранение препарата.
4. АллоЛТФР не просто способны нормализовать остеогенез, также как и традиционная аутоPRP, но могут быть исполь-

зованы у пациентов, ослабленных соматической патологией и тяжестью состояния, так как для приготовления препарата используется исключительно донорская кровь.

5. Лиофилизат можно использовать не только в виде порошка или геля, но и инъекционно в растворе. Это является наиболее удобным и малоинвазивным способом доставки препарата к месту повреждения или формирующегося псевдоартроза и делает процедуру не только эффективной, но и простой.
6. Проведенный эксперимент с применением аллогенного лиофилизата факторов роста клинически, рентгенологически и морфологически не выявил каких-ли-

бо побочных эффектов. Можно констатировать факт отсутствия реакции со стороны иммунной системы в ответ на введение аллоЛТФР.

7. Проведенная статистическая обработка результатов исследований позволяет считать эффективность использования комплекса аутогенных лиофилизированных тромбоцитарных факторов доказанной.

#### **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. Sokolov VA. Multiple and associated injuries. M.: GEOTAR-Media. 2006. 512 p. Russian (Соколов В.А. Множественные и сочетанные травмы. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2006. 512 с.)
2. Metsemakers WJ, Handojo K, Reynders P, Sermon A, Vanderschot P, Nijs S. Individual risk factors for deep infection and compromised fracture healing after intramedullary nailing of tibial shaft fractures: a single centre experience of 480 patients. *Injury*. 2015; 46(4): 740-745.
3. Šmejkal K, Lochman P, Trlica J, Novotný P, Šimek J, Dědek T. Impaired healing after surgery for femoral fractures. *Acta Chir.Orthop Traumatol Cech*. 2015; 82(5): 358-363.
4. Märdian S, Rau D, Schwabe P, Tsiilonis S, Simon P. Operative therapy of fractures of the distal femur. Predictive factors for a complicated course. *Orthopadie*. 2016; 45(1): 32-37.
5. Balayan VD. Treatment of false joints of long tubular bones of extremities with the use of stimulation of bone formation under conditions of stable fixation: Abstract of the dissertation for the academic degree of Candidate of Medicine. Saratov, 2011. 25 p. Russian (Балаян В.Д. Лечение ложных суставов длинных трубчатых костей конечностей с использованием стимуляции костеобразования в условиях стабильной фиксации: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Саратов, 2011. 25 с.)
6. Tay WH, de Steiger R, Richardson M, Gruen R, Balogh ZJ. Health outcomes of delayed union and nonunion of femoral and tibial shaft fractures. *Injury*. 2014; 45(10): 1653-1658.
7. Zotikov EA, Babaeva AG, Golovkina LL. Platelets and antiplatelet antibodies. M.: Monolit, 2003. 128 p. Russian (Зотиков Е.А., Бабаева А.Г., Головкина Л.Л. Тромбоциты и антитромбоцитарные антитела. М.: Монолит, 2003. 128 с.)
8. Harmon K, Hanson R, Bowen J, Greenberg S, Magaziner E, Vandenbosch J, et al. Guidelines for the use of platelet rich plasma. URL: <https://www.scribd.com/document/159334949/206-ICMS-Guidelines-for-the-Use-of-Platelet-Rich-Plasma-Draftob-oas-bonasdandbowndoww>.
9. Clinical Indications and Treatment Protocols with Platelet-Rich Plasma in Dermatology. Conde Montero E: PRP in wound healing; in Alves R, Grimalt R (eds). Barcelona, Ediciones Mayo, 2016. P. 59-72.
10. Cognasee F, Hamzen-Cognasse H, Lafarge S, Acquart S, Chavarin P, Courbil R, et al. Donor platelets stored for at least 3 days can elicit activation marker expression by the recipient is blood mononuclear cells: an in vitro study. *Transfusion*. 2009; 49(1): 91-98.
11. Korotkich NN, Aralova MV, Ostroushko AP, Shipilova VV et al. Immuno-biological rationale for the use of platelet-rich donor plasma for the regional treatment of wounds. *Herald of Experimental and Clinical Surgery*. 2017; 10(2): 111-115. Russian (Коротких Н.Н., Аралова М.В., Остроушко А.П., Шипилова В.В. Иммунобиологическое обоснование применения обогащенной тромбоцитами донорской плазмы для регионального лечения ран // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. 2017. Т. 10, № 2. С. 111-115.)
12. A method for producing platelet-rich autoplasm: pat. No. 2305563 RF, МРКА61М 1/36, А61К 35/16, А61К 35/14. /V.L. Brekhov; applicant and patent holder Samoday V.G. – No. 2005125929/15; application. 15.08.2005; publ. 20.02.2007, Bul. No. 25. – 3 p. Russian (Способ получения богатой тромбоцитами аутоплазмы: пат. № 2305563 РФ, МПК А61М 1/36, А61К 35/16, А61К 35/14. /В.Л. Брехов; заявитель и патентообладатель Самодай В.Г. № 2005125929/15; заявл. 15.08.2005; опубл. 20.02.2007, Бюл. № 25. – 3 с.)
13. Samoday VG et al. The use of platelet-enriched autoplasm for treatment of pseudoarthrosis and infected defects of bone tissue. Actual issues of tissue and cellular transplantology: materials of 3<sup>rd</sup> All-Russian international symposium. Moscow, 25-26 April 2007. 148-150. Russian (В.Г. Самодай и др. Использование богатой тромбоцитами аутоплазмы в лечении псевдоартрозов и инфицированных дефектов костной ткани //Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии: матер. III Всерос. симпозиума с международн. участ., г. Москва, 25-26 апреля 2007 г. М., 2007. С. 148-150.)
14. Samoday VG, Brekhov VL, Gaydukov VE, Rylkov MI, Fedorishchev AP. The use of platelet-rich autoplasm in the surgical treatment of bone defects with a violation of bone continuity. *Scientific Medical Herald of Central Black Earth Region*. 2007; (30): 175-180. Russian

- (Самодай В.Г., Брехов В.Л., Гайдуков В.Е., Рыльков М.И., Федоричев А.П. Использование богатой тромбоцитами аутоплазмы в хирургическом лечении дефектов костной ткани с нарушением непрерывности кости //Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья. 2007. № 30. С. 175-180.)
15. Samoday VG, Brekhov VL, Gaydukov VE. The use of platelet-rich autoplasm (BTPP) in the surgical treatment of bone defects with a violation of bone continuity. *Systemic Analysis and Management in Biomedical Systems*. 2007; 6 (2): 493-495. Russian (Самодай В.Г., Брехов В.Л., Гайдуков В.Е. Использование богатой тромбоцитами аутоплазмы (БОТП) в хирургическом лечении дефектов костной ткани с нарушением непрерывности кости //Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2007. Т. 6, № 2. С. 493-495.)
  16. Ryabinin SV, Samoday VG. Comparative clinical analysis of viscosupplementary and traditional methods of treatment of osteoarthritis of knee joints. *Medical Board*. 2017; (20): 131-133. Russian (Рябинин С.В., Самодай В.Г. Сравнительный клинический анализ вискозапплементарных и традиционного методов лечения остеоартроза коленных суставов //Медицинский совет. 2017. № 20. С.131-133.)
  17. Poleskiy MG, Samoday VG, Ryabinin SV. Experimental substantiation of the use of a lyophilizate of a complex of autologous platelet growth factors (autoltrf) for the treatment of patients with false joints of the tubular bones of the lower limb. *Herald of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2016; (1): 109-111. Russian (Полеский М.Г., Самодай В.Г., Рябинин С.В. Экспериментальное обоснование применения лиофилизата комплекса аутогенных тромбоцитарных факторов роста (аутолтрф) для лечения больных с ложными суставами трубчатых костей нижней конечности //Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2016. № 1. С. 109-111.)
  18. Technology of liophilisation of platelet-enriched plasma with preservation of vital activity of TGF, PDGF and VEGF: patent No. 2506946 RF, МРКА61К9/19, А61К38/18, А61L15/44, В01J3/00 Samoday VG, Poleskiy MG; applicant and patent holder Voronezh State Medical Academy named after Burdenko. No. 2012151106/15; application 28.11.2012; published on. 20.02.2014, Bulletin. No. 25. 3 p Russian (Технология лиофилизации обогащённой тромбоцитами плазмы с сохранением жизнеспособности факторов TGF PDGF VEGF: пат. № 2506946 РФ, МРКА61К9/19, А61К38/18, А61L15/44, В01J3/00 /Самодай В.Г., Полеский М.Г.; заявитель и патентообладатель ГБОУ ВПО Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко. № 2012151106/15; заявл. 28.11.2012; опубл. 20.02.2014, Бюл. № 25. 3 с.)
  19. Goldstein DR, Tesar BM, Akira S, Lakkis FG. Critical role of the Toll-like receptor signal adaptor protein MyD88 in acute allograft rejection. *J. Clin. Invest*. 2003; 111(10): 1571-1578.
  20. Zybleva SV, Zyblev SL. Immunological mechanisms of activation of congenital and adaptive immunity systems in allotransplantation. *Immunopathology, Allergology, Infectology*. 2015; (2): 11-23. Russian (С.В. Зыблева, С.Л. Зыблев. Иммунологические механизмы активации врожденной и адаптивной систем иммунитета при аллотрансплантации //Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2015. № 2. С. 11-23.)
  21. Kodenev AT, Vashchenko GA, Kapustov VI, Zhiburt EB. Improving the production of platelet concentrate. *Herald of Blood Banking of Russia*. 2010; (2): 22-25. Russian (Коденев А.Т., Ващенко Г.А., Капустов В.И. Жибурт Е.Б. Совершенствование получения концентрата тромбоцитов //Вестник службы крови России. 2010. № 2. С. 22-25.)
  22. Schiffer CA. Management of alloimmunized, refractory patients in need of platelet transfusions. *Vox Sang*. 1997; 73: 197-198.
  23. Jo C.H, Shin J.S, Lee S.Y, Shin S. Allogeneic platelet-rich plasma for rotator cuff repair. *Acta Ortop Bras*. 2017; 25(1): 38-43. doi: 10.1590/1413-78
  24. Rocha MAC, Silva LMC, Oliveira WA, Bezerra DO, Silva GCD, Silva LDS, et al. Allogeneic mesenchymal stem cells and xenogenic platelet rich plasma, associated or not, in the repair of bone failures in rabbits with secondary osteoporosis. *Acta Cir Bras*. 2017; 32(9): 767-780. doi: 10.1590/s0102-865020170090000009.
  25. Abouelnasr K, Hamed M, Lashen S, El-Adl M, Eltaysh R, Tagawa M. Enhancement of abdominal wall defect repair using allogenic platelet-rich plasma with commercial polyester\cotton fabric (Damour) in a canine model. *J Vet Med. Sci*. 2017; 79(7): 1301-1309.
  26. Chen FC, Chen MC, Yan TT, Hou JJ, Yang JG. Effects and mechanism of allogeneic platelet rich plasma on collagen synthesis in wound healing. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi*. 2017; 55(4): 303-307.
  27. Vaza AYU, Makarov MS, Slastinin VV, Borovkova NV, Klyukvin IYu, Pokhitonov DYU, et al. The efficacy of a combination of allogeneic platelet-rich plasma with collagen in the treatment of femoral defects in rats. *Transplantation*. 2016; (2): 36-44. Russian (Ваза А.Ю., Макаров М.С., В.В. Сластинин, Боровкова Н.В., Клюквин И.Ю., Похитонов Д.Ю. и др. Эффективность комбинации аллогенной богатой тромбоцитами плазмы с коллагеном при лечении дефектов бедренной кости у крыс //Трансплантология. 2016. № 2. С. 36-44.)
  28. Gusarov DA. Lyophilization of biopharmaceutical proteins (mini-review). *Biopharmaceutical Journal*. 2010; 2(5): 3-7. Russian (Гусаров Д.А. Лиофилизация биофармацевтических белков (миниобзор) //Биофармацевтический журнал. 2010. Т. 2, № 5. С. 3-7.)
  29. Patent No. 13171495. Application date: 11.06.2013. Publication number: 2813232. Publication date: 17.12.2014. Publication type: B1. Applicators: DOTGMBH. Inventors: NEUMANNHANS-GEORG, NEUMANNBARBARA. Priority date: 13171495 11.06.2013 EP. (EN) Process of Production of Allogenic Growth Factor Extract. Russian (Пат № 13171495 Дата заявки: 11.06.2013. Номер публикации: 2813232. Дата публикации: 17.12.2014. Вид публикации: B1 Заявители: DOTGMBH Изобретатели: NEUMANNHANS-GEORG, NEUMANNBARBARA. Дата приоритета: 13171495 11.06.2013 EP. (EN) Process of Production of Allogenic Growth Factor Extract)
  30. Ding W, Knox TR, Tschumper RC, Wu W, Schwager SM, Boysen JC, et al. Platelet-derived growth factor (PDGF)-PDGF receptor interaction activates bone marrow-derived mesenchymal stromal cells derived from chronic lymphocytic leukemia: implications for an angiogenic switch. *Blood*. 2010; 116(16): 2984-2993.
  31. Siegbahn A, Hammacher A, Westermark B, Heldin CH. Differential effects of the various isoforms of platelet-derived growth factor on chemotaxis of fibroblasts, monocytes, and granulocytes. *J. Clin. Invest*. 1990. 85(3): 916-920.
  32. Mathematical encyclopedia. Edited by Vonogradov IM. M.: Soviet Encyclopedia, 1977; 2921 p. Russian (Математическая энциклопедия /под ред. И.М. Виноградова. М.: Советская энциклопедия, 1977. 2921 с.)
  33. Zapadnyuk IP, Zapadnyuk VI, Zakhariya EA, Zapadnyuk BV. Laboratory animals. Breeding, management and use in experi-

ment. Kiev, 1983. 383 p. Russian (Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. Киев, 1983. 383 с.)

34. Messora MR, Nagata MJH, Furlaneto FAC, Dornelles RCM, Bomfim SRM, Deliberador TM, et al. A standardized research protocol for platelet-rich plasma (PRP) preparation in rats. *RSBO*. 2011; 8(3): 299-304.

#### **Сведения об авторах:**

**Самодай В.Г.**, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, г. Воронеж, Россия.

**Стариков А.О.**, аспирант кафедры травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, г. Воронеж, Россия.

**Калашников П.И.**, к.м.н., ассистент кафедры травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, г. Воронеж, Россия.

#### **Адрес для переписки:**

Стариков А.О., ул. Студенческая 10, г. Воронеж, Россия, 394036  
Тел: +7 (906) 673-37-20  
E-mail: staricov9066733720@yandex.ru

**Статья поступила в редакцию:** 11.11.2019

**Рецензирование пройдено:** 15.11.2019

**Подписано в печать:** 25.11.2019

#### **Information about authors:**

**Samoday V.G.**, MD, PhD, professor, chief of traumatology and orthopedics department, Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, Voronezh, Russia.

**Starikov A.O.**, postgraduate, traumatology and orthopedics department, Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, Voronezh, Russia.

**Kalashnikov P.I.**, candidate of medical science, assistant of traumatology and orthopedics department, Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, Voronezh, Russia.

#### **Address for correspondence:**

Starikov A.O., Student St. 10, Voronezh region, Russia, 394036  
Tel: +7 (906) 673-37-20  
E-mail: staricov9066733720@yandex.ru

**Received:** 11.11.2019

**Review completed:** 15.11.2019

**Passed for printing:** 25.11.2019

