

## Доступные способы повышения регенераторного потенциала пластического материала в неотложной травматологии.

### Часть 2. Использование аутологичного тромбоцитарного лизата человека

А.М. Файн<sup>1,2</sup>, А.Ю. Ваза<sup>1</sup>, С.Ф. Гнетецкий<sup>1,2</sup>, К.И. Скуратовская<sup>✉1</sup>,  
В.Б. Бондарев<sup>1</sup>, Ю.А. Боголюбский<sup>1</sup>, Р.С. Титов<sup>1</sup>, А.Ю. Сергеев<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»,  
129090, Россия, Москва, Большая Сухаревская пл., д. 3;

<sup>2</sup> Кафедра травматологии, ортопедии и медицины катастроф  
ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова МЗ РФ,  
127473, Россия, Москва, Делегатская ул., д. 20, стр. 1

✉ Автор, ответственный за переписку: Кристина Ивановна Скуратовская, младший научный сотрудник  
отделения неотложной травматологии опорно-двигательного аппарата НИИ скорой помощи  
им. Н.В. Склифосовского, SkuratovskayaKI@sklif.mos.ru

#### Аннотация

В предыдущей статье было рассказано про применение богатой тромбоцитами плазмы. Одним из перспективных способов стимуляции процессов репарации и регенерации в тканях поврежденного органа при разных видах патологии является применение лизата богатой тромбоцитами плазмы. В данной части литературного обзора рассматривается механизм действия лизата богатой тромбоцитами плазмы, показания и противопоказания к его применению, описаны результаты лечения при использовании лизата богатой тромбоцитами плазмы для стимуляции остеогенеза. Благодаря технологии изготовления, предусматривающей удаление из плазмы всех клеточных компонентов, появляется возможность длительного хранения полученного индивидуального трансплантата. Процедура изготовления тромбоцитарного лизата позволяет одномоментно выделять из клеток все ростовые факторы, так же происходит лизис тромбоцитов. Лизат тромбоцитарного лизата можно рассматривать как препарат, содержащий полноценный набор стимулирующих факторов роста. Под действием тромбоцитарного лизата происходит возобновление пролиферации латентных остеобластов, активация сигнальных путей ангиогенеза, стимуляция секреции факторов, ускоряющих ангиогенез, запускается дифференцировка остеобластов и образование костной ткани. Целью данной статьи является обобщение результатов лечения с использованием аутологичного тромбоцитарного лизата для улучшения регенераторного потенциала в травматологии. В заключительной статье мы рассмотрим способы применения аутологичного красного костного мозга.

**Ключевые слова:** остеогенез, ложный сустав, тромбоцитарный лизат, травматология, костная пластика, костный дефект, ангиогенез, тромбоцитарные факторы

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

#### Финансирование

Государственное бюджетное финансирование. Работа включена в научно-исследовательский план ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»

**Для цитирования:** Файн А.М., Ваза А.Ю., Гнетецкий С.Ф., Скуратовская К.И., Бондарев В.Б., Боголюбский Ю.А. и др. Доступные способы повышения регенераторного потенциала пластического материала в неотложной травматологии. Часть 2. Использование аутологичного тромбоцитарного лизата человека. *Трансплантология*. 2022;14(2):184–194. <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2022-14-2-184-194>

## Available methods to enhance regenerative potential of plastic materials for bone defects replacement in orthopedics. Part 2. Use of autologous human platelet lysate

A.M. Fayn<sup>1,2</sup>, A.Yu. Vaza<sup>1</sup>, S.F. Gnetetskiy<sup>1,2</sup>, K.I. Skuratovskaya<sup>✉1</sup>,  
V.B. Bondarev<sup>1</sup>, Yu.A. Bogolyubskiy<sup>1</sup>, R.S. Titov<sup>1</sup>, A.Yu. Sergeev<sup>1</sup>

<sup>1</sup>N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine,  
3 Bolshaya Sukharevskaya Sq., Moscow 129090 Russia;

<sup>2</sup>Department of Traumatology, Orthopedics, and Disaster Medicine,  
A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry,  
20 Bldg. 1 Delegatskaya St., Moscow 127473 Russia

✉Corresponding author: Kristina I. Skuratovskaya, Junior Researcher, the Department of Emergency Traumatology of the Musculoskeletal System, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, SkuratovskayaKI@sklif.mos.ru

### Abstract

In the previous article, we talked about the use of platelet-rich plasma. One of the promising ways to stimulate the processes of repair and regeneration in the tissues of the damaged organ in different types of pathology is the use of platelet-rich plasma lysate. This part of the literature review covers the mechanism of action of platelet-rich plasma lysate, indications and contraindications for its use, describes the results of treatment when platelet-rich plasma lysate is used to stimulate osteogenesis. The preparation technology provides for the removal of all cellular components from the plasma, so it becomes possible to store the obtained graft for a long time. The procedure for the preparation of platelet lysate allows the simultaneous isolation of all growth factors from the cells, since the platelet lysis occurs. Lysate of platelet concentrates can be considered as a preparation that contains a complete set of stimulating growth factors. Under the influence of the lysate, the proliferation of latent osteoblasts is resumed, the signaling pathways of angiogenesis are activated, the secretion of the factors accelerating angiogenesis is stimulated, the differentiation of osteoblasts and the formation of bone tissue are triggered. The aim of this article is to summarize the results of treatment using autologous platelet lysate to improve bone regenerative potential in orthopaedics. In a final article, we shall look at the ways to use autologous red bone marrow.

**Keywords:** bone regeneration, pseudoarthrosis, platelet-rich plasma, growth factors, bone graftin

**CONFLICT OF INTERESTS** Authors declare no conflict of interest

Financed from the State budget. The study has been included in the Research Plan of the

**FINANCING**

N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine

**For citation:** Fayn AM, Vaza AYU, Gnetetskiy SF, Skuratovskaya KI, Bondarev VB, Bogolyubskiy YuA, et al. Available methods to enhance regenerative potential of plastic materials for bone defects replacement in orthopedics. Part 2. Use of autologous human platelet lysate. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2022;14(2):184–194. (In Russ.). <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2022-14-2-184-194>

БоТП – богатая тромбоцитами плазма

ММСК – мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки

### Введение

В предыдущей статье «Доступные способы повышения регенераторного потенциала пластического материала в неотложной травматологии. Часть 1. Использование аутологичной богатой тромбоцитами плазмы крови» мы рассмотрели общие вопросы, механизм действия богатой тромбоцитами плазмы (БоТП), показания и противопоказания к ее применению. БоТП – несложный в получении материал, успешно применяемый

в качестве активатора репаративных процессов тканей с возможностью сочетания с биоинертными синтетическими материалами. В ней присутствуют все элементы крови кроме красных кровяных телец: лейкоциты, лимфоциты, тромбоциты, нити фибрина и адгезивные молекулы, поврежденная мембрана тромбоцитов.

Одним из перспективных способов стимуляции процессов репарации и регенерации в тканях поврежденного органа при разных видах патологии, является применение лизата БоТП.

Благодаря технологии изготовления, предусматривающей удаление из плазмы всех клеточных компонентов, появляется возможность длительного хранения полученного индивидуального трансплантата. В исследовании S.C. Notodihardjo et al. было оценено три варианта консервирования лизата тромбоцитов. В 1-й группе хранили в морозильной камере при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$ , во 2-й группе замораживали при температуре  $-80^{\circ}\text{C}$ , затем лиофилизировали; в 3-й группе лиофилизировали и хранили при температуре  $+4^{\circ}\text{C}$ . «Консервация» на протяжении 9 месяцев. По результатам исследования можно сделать вывод, что во всех группах определялась приблизительно одинаковая концентрация ростовых факторов. Определили, что оптимальным является хранение тромбоцитарного лизата при температуре  $+4^{\circ}\text{C}$ . Благодаря таким условиям хранения отсутствует необходимость многократного забора крови у пациента и появляется возможность использования тромбоцитарного лизата в разные сроки, нет необходимости приобретения дорогостоящего морозильника [1].

#### Цель проведенного анализа специальной литературы

Обобщить имеющиеся сведения о современных подходах к способам улучшения регенераторного потенциала в неотложной травматологии.

#### Стратегия поиска литературных источников

Поиск источников проводили в открытых электронных базах научной литературы PubMed и eLibrary. Для поиска использовали ключевые слова: bone healing stimulation, autologous bone marrow, bone graft, PRP, lysate и соответствующие им термины на русском языке. Глубина поиска 20 лет. Для проведения анализа и оценки литературных данных были определены критерии включений источников в аналитическое исследование.

Критерием включения источников в исследование являлось наличие полного текста статьи или структурированного, с указанием конкретных количественных данных реферата.

Критерий исключения: клинические примеры, тезисы докладов, неопубликованные работы, исследования, имеющие признаки дублирования (схожий протокол исследования, группы, число пациентов и др.). В случае обнаружения дублирующих статей выбирали более поздний по дате публикации источник.

#### Применение тромбоцитарного лизата в генной инженерии

В настоящее время в регенеративной медицине распространено использование тромбоцитарных лизатов, полученных путем разрушения аутологичных тромбоцитов пациента при низких или ультранизких температурах. У мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) костномозгового происхождения, выращенных в среде, содержащей тромбоцитарный лизат, процесс пролиферации происходит быстрее. При этом сохраняется нормальная остеогенная дифференцировка. В немногочисленных доклинических исследованиях с использованием ММСК вместе с лизатом тромбоцитов на остеокондуктивных каркасах получены хорошие результаты регенерации костной ткани *in vivo*. Существует и иной подход использования лизата тромбоцитов на остеокондуктивных каркасах – без ММСК. В проведенных исследованиях *in vivo* наблюдают улучшенное костеобразование и васкуляризацию по сравнению с каркасом, не обработанным тромбоцитарным лизатом.

D.T.B. Shish and T. Burnouf описали методы изготовления лизата тромбоцитов для воздействия на стромальные клетки и регенерацию [2]. Одним из преимуществ тромбоцитарного лизата является относительная простота его приготовления. Однако если лизат тромбоцитов используют для улучшения регенерации кости, следует учитывать ряд факторов. Способ забора крови, этап лейкоредукции, метод концентрации тромбоцитов, температура замораживания и размораживания, добавление противосвертывающих факторов – каждый из этих пунктов может влиять на концентрацию и уровень факторов адгезии в лизате тромбоцитов, которые в свою очередь влияют на рост и дифференцировку ММСК [3].

#### Получение тромбоцитарного лизата

Тромбоцитарные лизаты могут быть приготовлены из образцов с очень высоким содержанием тромбоцитов, что позволяет получать препараты, насыщенные ростовыми факторами. Процедура изготовления тромбоцитарного лизата позволяет одновременно выделять из клеток все ростовые факторы, так как происходит лизис тромбоцитов.

После забора из крови возможно удаление лейкоцитов путем лейкоредукции. Процесс лейкоредукции представляет собой намеренное удаление белых клеток из донорской крови с целью снижения остаточного количества лейкоцитов менее  $1 \times 10^6$  и уменьшения риска развития

неблагоприятных реакций у человека. Удаление лейкоцитов осуществляют использованием лейкофильтрующих устройств. Этап лейкоредукции очень важен, так как молекулы лейкоцитов могут влиять на пролиферацию ММСК [4]. При лизисе лейкоцитов высвобождаются матричные металлопротеиназы и свободные кислородные радикалы, которые оказывают прямое повреждающее действие на мембраны клеток [5].

Следующим этапом проводят центрифугирование с удалением надосадка и ресуспендированием (отмыванием) тромбоцитов фосфатно-солевым раствором PBS с рН, равным 7,3, или изотоническим 0,9% раствором хлорида натрия до исчезновения тромбоцитарных конгломератов. Центрифугируют сначала при 300–500 г в течение 5–10 минут для получения фракции плазмы с тромбоцитами без примеси лейкоцитов и эритроцитов, затем при 700–1000 г в течение 5–20 минут для осаждения тромбоцитов.

Для высвобождения факторов роста из концентрата тромбоцитов используют циклы замораживания и размораживания [6–10]. Наиболее часто – с выбором температуры замораживания  $-80^{\circ}\text{C}$ , температуры размораживания  $+37^{\circ}\text{C}$ . Поскольку тромбоцитарный лизат содержит факторы свертывания, необходимо добавлять антикоагулянты. Обычно для этих целей в пробирку для забора добавляют гепарин. Концентрация гепарина не должна превышать 0,61 МЕ/мл при использовании нефракционированного гепарина или 0,024 мг/мл для низкомолекулярных гепаринов. Высокая концентрация гепарина может негативно влиять на пролиферацию ММСК, колониобразование и дифференцировку [11].

При приготовлении методом афереза в закрытой системе с проведением центрифугирования для разделения клеток по удельному весу, или фильтрации для разделения клеток по размеру, или использование их комбинации получают итоговое количество тромбоцитов  $1 \times 10^9$ /мл. Такие тромбоцитарные концентраты имеют большой объем (200–300 мл), а общее содержание тромбоцитов примерно в 6–8 раз выше, чем в обычном концентрате тромбоцитов цельной крови донора [2].

К преимуществам лизата тромбоцитов относят то, что его можно изготовить из концентратов тромбоцитов, которые не пригодны к переливанию (более чем 5 дней после забора). В одном из исследований выявлено, что лизат, изготовленный из несвежих тромбоцитов, оказывает такое же влияние на рост и остеогенную дифферен-

цировку, как и лизат, полученный из свежих тромбоцитов [12]. Замораживание и размораживание являются наиболее эффективным способом высвобождения факторов роста, которое происходит при разрушении тромбоцитов. Необходимо отметить, что высвобождаемые факторы роста нестабильны в плазме [3].

#### Репаративный потенциал тромбоцитарного лизата

Репаративный эффект лизата БоТП зависит как от исходного качества тромбоцитов в его составе, так и от содержания тромбоцитарных компонентов в конечном лизате. Необходимо учитывать, что суммарный цитокиновый состав БоТП способен стимулировать как регенеративные, так и патологические процессы. Присутствие лейкоцитов в БоТП повышает уровень провоспалительного цитокина IL8. Активация БоТП хлоридом кальция заметно снижает содержание рост-стимулирующих факторов. Лизат тромбоцитов, приготовленный из неактивированной БоТП без лейкоцитов, имеет оптимальный баланс факторов роста (EGF, FGF, PDGF) с провоспалительными цитокинами, что обуславливает его высокий регенераторный потенциал, и может быть рекомендован для клинических испытаний [13]. Важно учитывать содержание биологически активных веществ в БоТП, так как известно, что клетки человека, в том числе остеобласты, снижают свою жизнеспособность в условиях избытка PDGF и других факторов роста. Так, на культуре остеобластов показано, что 5 мкг/мл экзосом тромбоцитов в расчете на 200 тыс. клеток *in vitro* повышает активность синтеза клетками костного матрикса, а 50 мкг/мл – полностью подавляет синтез [14]. Тромбоциты играют важную роль не только в первичном гемостазе, а также в заживлении и регенерации тканей. Весомые знания о биологии и патофизиологии тромбоцитов были получены в течение последних двух столетий, начиная с 1865–1882 годов, когда М. Schultze и G. Bizzozero описали третью группу клеток крови [15]. Начиная с исследования J. Roskam в 1922 году, считалось, что вещества в тромбоцитах запускают коагуляционный каскад при повреждении эндотелия и в активных процессах синтеза не участвуют [16]. Стимулирующий и ингибирующий эффекты биоактивных медиаторов вызывают пролиферацию и миграцию фибробластов, клеток гладкой мышечной мускулатуры и эндотелиальных клеток, что приводит к ремоделированию сосудов и восстановлению тканей

[17]. Состав и количество ростовых факторов в тромбоцитарном лизате достаточны для выживания эндотелиальных клеток и сосудобразования *in vivo* в отсутствие перидцитов [18].

#### Влияние тромбоцитарного лизата на остеобласты

Необходимо знание последовательности реакций, происходящих с участием местных остеобластов в процессе восстановления кости. После воздействия лизата тромбоцитов наблюдают резкое ускорение пролиферации неактивных или очень медленно делящихся остеобластов. При этом при удалении тромбоцитарного лизата отмечают исчезновение или значимое замедление пролиферации остеобластов. Выявлены стимулирующий эффект лизата тромбоцитов на остеобласты, активация фактора индуцируемого гипоксией 1-альфа, а также передатчика сигнала и активатора транскрипции 3 (STAT 3), участвующих в обоих путях – ангиогенеза и регенерации кости.

Двойное действие лизата тромбоцитов на покоящиеся остеобласты, т.е. возобновление пролиферации и активация путей, способствующих как ангиогенезу, так и образованию кости, дает основание для его применения в качестве терапевтического агента при посттравматическом восстановлении кости.

В настоящее время продолжается изучение действия лизата тромбоцитов на костную регенерацию. Известно, что лизат тромбоцитов оказывает комбинированный эффект на остеобласты. Происходит возобновление пролиферации латентных остеобластов, активация сигнальных путей ангиогенеза, стимуляция секреции факторов, ускоряющих ангиогенез. Под действием тромбоцитарного лизата запускается дифференцировка остеобластов и образование костной ткани. Все эти свойства тромбоцитарного лизата позволяют использовать препарат при переломах и их несращениях. На молекулярном уровне в исследованиях *in vitro* в условиях, близких к тем, которые отмечают после перелома (высвобождение латентных остеобластов после травмы из костной ткани, приток крови в место повреждения и временное воздействие на остеобласты факторов роста тромбоцитов), при добавлении тромбоцитарного лизата наблюдают скачкообразное ускорение пролиферации, роста и дифференцировки остеобластов, которое продолжается некоторое время и после прекращения действия лизата тромбоцитов. Затем дифференциров-

ка бластных клеток останавливается при продолжении их активного роста и пролиферации. Данный механизм необходим для сохранения и отложения остеобластов в образующейся кости для последующего костеобразования [19].

Повреждение любой ткани приводит к разрушению сосудов и нарушению локального кровоснабжения, в результате которого образуется локальная гипоксия, требующая местного ответа клеток на изменившиеся условия окружающей среды. Факторы транскрипции, индуцированные гипоксией (HIFs), сложные факторы, которые регулируют клеточный ответ на гипоксию, в частности, HIF-1-альфа подфактор, присутствующий в клеточной цитоплазме и разрушающий убиквитин-протеасомную систему, стабилизируются в условиях гипоксии и мигрируют к ядру, чтобы соединиться с HIF-1-бета и коактиваторами. Таким образом формируется комплекс, который активирует транскрипцию множества генов, отвечающих за выживание клетки в условиях гипоксии и запускающий метаболические процессы. Хотя активация HIF-системы обычно происходит в результате гипоксии, формирование HIF-комплексов также происходит и в нормальных условиях без гипоксии [20]. В опубликованном исследовании V. Nguyen сообщали, что под воздействием лизата тромбоцитов происходит увеличение концентрации HIF-1-альфа белка, его перемещение в ядро и связывание специфическими ДНК-элементами в хрящевых клетках, выращенных в условиях нормального содержания кислорода [21]. В данном исследовании сообщается, что в условиях с нормальным содержанием кислорода лизат тромбоцитов индуцирует увеличение экспрессии HIF-1-альфа, повышенную транслокацию его в ядро и связывание со специфическими ДНК-чувствительными элементами в остеобластах. Подобным образом в культивируемых остеобластах наблюдали активацию и ядерную транслокацию STAT3, а также повышенную секрецию VEGF. Полученные данные позволяют предположить, что остеобласты, стимулированные лизатом тромбоцитов, могут участвовать в заживлении костей. Также сообщалось, что HIF-1 усиливает костеобразование, регулируя дифференцировку остеобластов [22].

Фактически, заметное уменьшение объема кости наблюдалось у мышей, лишенных HIF-1-альфа в остеобластах [23]. Снижение костной массы у мышей, лишенных HIF-1 в остеобластах, было подтверждено S.H. Shomento et al. [18, 22]. Они предположили, что HIF-1 имеет решающее

значение для связи ангиогенеза с остеогенезом во время эндохондральной оссификации. Другие авторы сообщили, что HIF-1 является проостеогенным фактором образования костной ткани после повреждения [24]. Также сообщалось о роли HIF-1 в контроле взаимодействия между остеобластами и остеокластами [25]. Несомненно, путь HIF-1-альфа является ключевым компонентом в развитии скелета, а активация комплекса HIF имеет решающее значение для связи ангиогенеза с остеогенезом во время формирования кости и для поддержания гомеостаза кости [26]. У трансгенных мышей с избыточной экспрессией HIF-1 в зрелых остеобластах усиливаются процессы остео- и ангиогенеза, основных процессов костной регенерации. Действительно, VEGF играет важную роль как в дифференцировке остеобластов, так и в индукции ангиогенеза [27–28]. Более того, в недавней публикации A. Romaldini et al. сообщается, что лизат тромбоцитов оказывает прямое влияние на эндотелиальные клетки, индуцируя их пролиферацию, сохраняя при этом их потенциал дифференцировки [29]. STAT3 – универсальный фактор транскрипции. При активации STAT3 фосфорилируется остатками тирозина с образованием гомо- и гетеродимеров, которые транслоцируются в ядро, где они индуцируют транскрипцию генов, регулирующих клеточную пролиферацию, дифференцировку, продолжительность жизни, апоптоз и клеточный иммунитет [30–33]. Кроме других биологических функций STAT3 играет важную роль в регуляции на уровне транскрипции, в том числе регуляции активации транскрипции VEGF как в норме, так и при патологии. В ММСК пик экспрессии VEGF происходит после 3 дней гипоксии. Гипоксия также влияет на экспрессию и фосфорилирование STAT3. Преобразователь сигнала и активатор транскрипции 3 является важным и необходимым для пролиферации и миграции эндотелиальных клеток, формирования микрососудов [34]. STAT3 играет важную роль в формировании костей и гомеостазе. У людей в результате мутации STAT3 происходит уменьшение костной массы и увеличение частоты переломов при минимальном воздействии [35, 36]. У трансгенных мышей при инактивации STAT3 в остеобластах и остеоцитах снижается образование кости, вызванное механической нагрузкой [37]. Хлорид кобальта, используемый для имитации гипоксии, стимулирует миграцию ММСК и активирует остеогенную дифференцировку ММСК, заживление костномозгового дефекта через запуск фосфо-

рирования STAT3 [38]. Активацию фосфорилирования STAT3 также наблюдают при дифференцировке остеопрогениторных клеток человека [39]. По данным литературы, тромбоцитарный лизат активирует остеобласты и индуцирует перемещение STAT3 в ядро клетки в условиях нормального содержания кислорода в тканях. Эти свойства тромбоцитарного лизата предполагают его использование для улучшения костного сращения.

#### **Исследования с применением тромбоцитарного лизата при переломе проксимального отдела плечевой кости**

Н. Jiang et al. одни из первых опубликовали исследование, в котором при лечении несращения диафиза большеберцовой кости у 64-летней женщины использовали тромбоцитарный лизат. Пациентке выполнили остеосинтез правой большеберцовой кости пластиной и трехкратное введение в место перелома тромбоцитарного лизата в объеме 5 мл с интервалом в неделю. Результат оценивали через 2, 4 и 6 месяцев. Болевой синдром был незначительный, полное костное сращение достигнуто к 8-му месяцу [40].

На базе ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ» проведено исследование по применению лизата аутологичных тромбоцитов у пациентов с переломом хирургической шейки плечевой кости. Пациентам основной группы через 3–4 дня после травмы вводили 1,0–1,5 мл лизата тромбоцитов в 2–4 наиболее болезненные точки в мягких тканях, окружающие перелом. Инъекции повторяли 3 раза с интервалом от 24 до 48 часов. Процедуры способствовали уменьшению боли, ускорению резорбции гематом и разрешению отека. После 3 инъекций практически во всех случаях наблюдали положительную динамику купирования воспаления мягких тканей в области перелома [41].

Доказана эффективность применения лизата тромбоцитов при лечении остеоартроза, тендинитов ахиллова сухожилия, ожогов [42]. Опубликованы работы с использованием тромбоцитарного лизата с ММСК для лечения несращения переломов [43, 44]. Однако необходимо проведение исследований с более высоким уровнем доказательности на людях для подтверждения эффективности лизата тромбоцитов и его стимулирующего воздействия на костное сращение.

### Заключение

Учитывая имеющиеся данные литературы, лизат тромбоцитов можно рассматривать как препарат, содержащий полноценный набор стимулирующих факторов роста. Применение богатой тромбоцитами плазмы является одним из перспективных способов стимуляции процессов репарации и регенерации в тканях поврежденного органа при разных видах патологии. По данным клинических исследований лизат бога-

той тромбоцитами плазмы стимулирует костную регенерацию. Получаемый препарат удобен для инъекционного введения, может быть комбинирован с раневыми повязками, биоконструкциями, различными носителями и другими субстратами, что делает его наиболее перспективными для использования в травматологии и ортопедии при лечении переломов костей и их несращений.

В заключительной статье нашего литературного обзора мы рассмотрим применение аутологичного красного костного мозга.

### Список литературы

1. Notodihardjo SC, Morimoto N, Kaku-do N, Mitsui T, Le TM, Tabata Y, Kusumoto K. Comparison of the efficacy of cryopreserved human platelet lysate and refrigerated lyophilized human platelet lysate for wound healing. *Regene Ther.* 2019;10:1–9. PMID: 30525065 <https://doi.org/10.1016/j.reth.2018.10.003>
2. Shih DTB, Burnouf T. Preparation, quality criteria, and properties of human blood platelet lysate supplements for ex vivo stem cell expansion. *N Biotechnol.* 2015;32(1):199–211. PMID: 24929129 <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2014.06.001>
3. Zimmermann R, Jakubietz R, Jakubietz M., Strasser E., Schlegel A, Wiltfang J, et al. Different preparation methods to obtain platelet components as a source of growth factors for local application. *Transfusion.* 2001;41(10):1217–1224. PMID: 11606819 <https://doi.org/10.1046/j.1537-2995.2001.41101217.x>
4. Bonin M, Stölzel F, Goedecke A, Richter K, Wuschek N, Hölig K, et al. Treatment of refractory acute GVHD with third-party MSC expanded in platelet lysate-containing medium. *Bone Marrow Transplant.* 2009;43(3):245–251. PMID: 18820709 <https://doi.org/10.1038/bmt.2008.316>
5. Kaux JF, Le Goff C, Renouf J, Peters P, Lutteri L, Gothot A, et al. Comparison of the platelet concentrations obtained in platelet-rich plasma (PRP) between the GPS™ II and GPS™ III systems. *Pathol Biol (Paris).* 2011; 59(5):275–277. PMID: 21145177 <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2010.11.002>
6. Bieback K, Hecker A, Kocaömer A, Lannert H, Schallmoser K, Strunk D, et al. Human alternatives to fetal bovine serum for the expansion of mesenchymal stromal cells from bone marrow. *Stem Cells.* 2009;27(9):2331–2341. PMID: 19544413 <https://doi.org/10.1002/stem.139>
7. Chevallier N, Anagnostou F, Zilber S, Bodivit G, Maurin S, Barrault A, et al. Osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells with platelet lysate. *Biomaterials.* 2010;31(2):270–278. PMID: 19783038 <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.09.043>
8. Doucet C, Ernou I, Zhang Y, Llense JR, Begot L, Holy X, et al. Platelet lysates promote mesenchymal stem cell expansion: a safety substitute for animal serum in cell-based therapy applications. *J Cell Physiol.* 2005;205(2):228–236. PMID: 15887229 <https://doi.org/10.1002/jcp.20391>
9. Shanskii YD, Sergeeva NS, Sviridova IK, Kirakozov MS, Kirsanova VA, Akhmedova SA, et al. Human platelet lysate as a promising growth-stimulating additive for culturing of stem cells and other cell types. *Bull Exp Biol Med.* 2013;156(1):146–151. PMID: 24319712 <https://doi.org/10.1007/s10517-013->

2298-7

10. Leotot J, Coquelin L, Bodivit G, Bierling P, Hernigou P, Rouard H, et al. Platelet lysate coating on scaffolds directly and in directly enhances cell migration, improving bone and blood vessel formation. *Acta Biomater.* 2013;9(5):6630–6640. PMID: 23403167 <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.02.003>
11. Hemedda H, Kalz J, Walenda G, Lohmann M, Wagner W. Heparin concentration is critical for cell culture with human platelet lysate. *Cytotherapy.* 2013;15(9):1174–1181. PMID: 23845186 <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2013.05.006>
12. Jonsdottir-Buch SM, Lieder R, Sigurjonsson OE. Platelet lysates produced from expired platelet concentrates support growth and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *PLoS One.* 2013;8(7):e68984 PMID: 23874839 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068984>
13. Боровкова Н.В., Малыгина М.А., Макаров М.С., Пономарев И.Н., Сторожева М.В., Сахарова О.М. Цитокиновый состав как определяющий фактор противовоспалительного и регенераторного действия препаратов на основе тромбоцитов. *Пироговский форум травматологов-ортопедов.* Москва: Медфорум; 2019. с. 97–98. URL: [https://www.elibrary.ru/download/elibrary\\_41303918\\_10233132.pdf](https://www.elibrary.ru/download/elibrary_41303918_10233132.pdf) [Дата обращения 6 апреля 2022 г.]. Боровкова NV, Malygina MA, Makarov MS, Ponomarev IN, Storozheva MV, Sakharova OM. Tsitokinovyy sostav kak opredelyayushchiy faktor protivovospalitel'nogo i regeneratornogo deystviya preparatov na osnove trombocitov. *Pirogovskiy forum travmatologov-ortopedov.* Moscow: Medforum Publ.; 2019. p. 97–98. Available at: [https://www.elibrary.ru/download/elibrary\\_41303918\\_10233132.pdf](https://www.elibrary.ru/download/elibrary_41303918_10233132.pdf) [Accessed April 6, 2022]. (In Russ.).
14. Torreggiani E, Perut F, Roncuzzi L, Zini N, Baglio SR, Baldini N. Exosomes: novel effectors of human platelet lysate activity. *Eur Cell Mater.* 2014;28:137–51. PMID: 25241964 <https://doi.org/10.22203/ecm.v028a11>
15. Gresele PC, Fuster V, Vermylen J. (eds.) *Platelets in thrombotic and non thrombotic disorders. Pathophysiology, pharmacology and therapeutics.* Cambridge University Press; 2002. p. 25.
16. Adelson E, Rheingold JJ, Crosby WH. The platelet as a sponge: a review. *Blood.* 1961;17(6):767–774. PMID: 13681458 <https://doi.org/10.1182/blood.V17.6.767.767>
17. Schallmoser K, Rohde E, Bartmann C, Obenauf AC, Reinisch A, Strunk D. Platelet-derived growth factors for GMP-compliant propagation of mesenchymal stromal cells. *Biomed Mater Eng.* 2009;19(4-5):271–276. PMID: 20042793 <https://doi.org/10.3233/BME-2009-0591>
18. Shomento SH, Wan C, Cao X, Faugeire MC, Boussein ML, Clemens TL, et al. Hypoxia-inducible factors 1alpha and 2alpha exert both distinct and overlapping functions in long bone development. *J Cell Biochem.* 2010;109(1):196–204. PMID: 19899108 <https://doi.org/10.1002/jcb.22396>
19. Richard DE, Berra E, Pouyssegur J. Nonhypoxic pathway mediates the induction of hypoxia-inducible factor 1alpha in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem.* 2000;275(35):26765–26771. PMID: 10837481 <https://doi.org/10.1074/jcb.M003325200>
20. Van Nguyen T, Cancedda R, Descalzi F. Platelet lysate activates quiescent cell proliferation and reprogramming in human articular cartilage: involvement of hypoxia inducible factor 1. *J Tissue Eng Regen Med.* 2018;12(3):1691–1703. PMID:29052350 <https://doi.org/10.1002/term.2595>
21. Wan C, Gilbert SR, Wang Y, Cao X, Shen X, Ramaswamy G, et al. Activation of the hypoxia-inducible factor-1alpha pathway accelerates bone regeneration. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105(2):686–691. PMID: 18184809 <https://doi.org/10.1073/pnas.0708474105>
22. Fekete N, Gadelorge M, Fürst D, Maurer C, Dausend J, Fleury-Cappellesso S, et al. Platelet lysate from whole blood-derived pooled platelet concentrates and apheresis-derived platelet concentrates for the isolation and expansion of human bone marrow mesenchymal stromal cells: production process, content and identification of active components. *Cytotherapy.* 2012;14(5):540–554. <https://doi.org/10.3109/14653249.2012.655420>
23. Tomlinson RE, Silva MJ. HIF-1 $\alpha$  regulates bone formation after osteogenic mechanical loading. *Bone.* 2015;73:98–104. PMID: 25541207 <https://doi.org/10.1016/j.bone.2014.12.015>
24. Wu C, Rankin EB, Castellini L, Fernandez-Alcudia J, Lagory EL, Andersen R, et al. Oxygen-sensing PHDs regulate bone homeostasis through the modulation of osteoprotegerin. *Genes Dev.* 2015;29(8):817–831. PMID: 25846796 <https://doi.org/10.1101/gad.255000.114>
25. Lee SY, Park KH, Yu HG, Kook E, Song WH, Lee G, et al. Controlling hypoxia-inducible factor-2 $\alpha$  is critical for maintaining bone homeostasis in mice. *Bone Res.* 2019;7:1–14. PMID: 31098335 <https://doi.org/10.1038/s41413-019-0054-y>
26. Hu K, Olsen BR. Osteoblast-derived VEGF regulates osteoblast differentiation and bone formation during bone repair. *J Clin Invest.* 2016;126(2):509–526. PMID: 26731472 <https://doi.org/10.1172/JCI82585>
27. Wan C, Shao J, Gilbert SR, Riddle RC, Long F, Johnson, et al. Role of HIF-1alpha in skeletal development. *Ann NY Acad Sci.* 2010;1192:322–326. PMID: 20392254 <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05238.x>
28. Riddle RC, Khatri R, Schipani E, Clemens TL. Role of hypoxia-inducible factor-1alpha in angiogenic-osteogenic coupling. *J Mol Med.* 2009;87(6):583–590. PMID: 19415227 <https://doi.org/10.1007/s00109-009-0477-9>
29. Romaldini A, Ulivi V, Nardini M, Mastrogiacomo M, Cancedda R, Descalzi F. Platelet lysate inhibits NF- $\kappa$ B activation and induces proliferation and an alert state in quiescent human umbilical vein endothelial cells retaining their differentiation capability. *Cells.* 2019;8(4):331. PMID: 30970613 <https://doi.org/10.3390/cells8040331>
30. Bromberg J, Darnell JE. The role of STATs in transcriptional control and their impact on cellular function. *Oncogene.* 2000;19(21):2468–2473. PMID: 10851045 <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1203476>
31. Levy DE, Darnell JE. Stats: Transcriptional control and biological impact. *Nature reviews molecular cell biology.* 2002;3(9):651–662. PMID: 12209125 <https://doi.org/10.1038/nrm909>
32. Darnell JE. STATs and gene regulation. *Science.* 1997;277(5332):1630–1635. PMID: 9287210 <https://doi.org/10.1126/science.277.5332.1630>
33. Chen Z, Han ZC. STAT3: a critical transcription activator in angiogenesis. *Med Res Rev.* 2008;28(2):185–200. PMID: 17457812 <https://doi.org/10.1002/med.20101>
34. Holland SM, DeLeo FR, Elloumi HZ, Hsu AP, Uzel G, Brodsky N, et al. STAT3 mutations in the hyper-IgE syndrome. *N Eng J Med.* 2007;357(16):1608–1619. PMID: 17881745 <https://doi.org/10.1056/NEJMoa073687>
35. Minegishi Y, Saito M, Tsuchiya S,



- Tsuge I, Takada H, Hara T, et al. Dominant-negative mutations in the DNA-binding domain of STAT3 cause hyper-IgE syndrome. *Nature*. 2007;448(7157):1058–1062. PMID: 17676033 <https://doi.org/10.1038/nature06096>
36. Zhou H, Newnum AB, Martin JR, Li P, Nelson MT, Moh A, et al. Osteoblast/osteocyte-specific inactivation of Stat3 decreases load-driven bone formation and accumulates reactive oxygen species. *Bone*. 2011;49(3):404–411. PMID: 21555004 <https://doi.org/10.1016/j.bone.2011.04.020>
37. Yu X, Wan Q, Cheng G, Cheng X, Zhang J, Pathak JL, et al. CoCl<sub>2</sub>, a mimic of hypoxia, enhances bone marrow mesenchymal stem cells migration and osteogenic differentiation via STAT3 signaling pathway. *Cell Biol Int*. 2018;42(10):1321–1329. PMID: 29908007 <https://doi.org/10.1002/cbin.11017>
38. Yu X, Wan Q, Ye X, Cheng Y, Pathak JL, Li Z. Cellular hypoxia promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells and bone defect healing via STAT3 signaling. *Cell Mol Biol Lett*. 2019;24(1):1–17. PMID: 31827540 <https://doi.org/10.1186/s11658-019-0191-8>
39. Yu X, Li Z, Wan Q, Cheng X, Zhang J, Pathak JL, et al. Inhibition of JAK2/STAT3 signaling suppresses bone marrow stromal cells proliferation and osteogenic differentiation and impairs bone defect healing. *Biol Chem*. 2018;399(11):1313–1323. PMID: 30044759 <https://doi.org/10.1515/hsz-2018-0253>
40. Jiang H, Tan X, Ju H, Su J, Yan W, Song X, et al. Autologous platelet lysates local injections for treatment of tibia non-union with breakage of the nickel clad: a case report. *SpringerPlus*. 2016;5(1):2013. PMID: 27933268 <https://doi.org/10.1186/s40064-016-3683-2>
41. Боровкова Н.В., Малыгина М.А., Макаров М.С., Сахарова О.М., Пономарев И.Н. Способ лечения пациентов с переломом шейки плеча. Патент № 2681753 С1 Российская Федерация. Опубликовано 12.03.2019. Бюллетень № 8. URL: <https://patenton.ru/patent/RU2681753C1.pdf> [Дата обращения 6 апреля 2022 г.]. Borovkova NV, Malygina MA, Makarov MS, Sakharova OM, Ponomarev IN. *Method of treating patients with shoulder neck fracture*. Patent № 2681753 C1 Russian Federation. Published March 12, 2019. Bull. № 8. Available at: <https://patenton.ru/patent/RU2681753C1.pdf> [Accessed April 6, 2022].
42. Henschler R, Gabriel C, Schallmoser K, Burnouf T, Koh MBC. Human platelet lysate current standards and future developments. *Transfusion*. 2019;59(4):1407–1413. PMID:30741431 <https://doi.org/10.1111/trf.15174>
43. Labibzadeh N, Emadedin M, Fazel R, Mohseni F, Hosseini SE, Moghadasali R, et al. Mesenchymal stromal cells implantation in combination with platelet lysate product is safe for reconstruction of human long bone nonunion. *Cell J*. 2016;18(3):302–309. PMID: 27602311 <https://doi.org/10.22074/cellj.2016.4557>
44. Centeno CJ, Schultz JR, Cheever M. A case series of percutaneous treatment of non-union fractures with autologous, culture expanded, bone marrow derived, mesenchymal stem cells and platelet lysate. *J Bioengineer Biomedical Sci*. 2011;1(S 2):1–6. <https://doi.org/10.4172/2155-9538.S2-007>

**Информация об авторах**

**Алексей Максимович  
Файн**

д-р мед. наук, заведующий научным отделением неотложной травматологии опорно-двигательного аппарата ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»; профессор кафедры травматологии, ортопедии и медицины катастроф ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова МЗ РФ,  
<https://orcid.org/0000-0001-8616-920X>, [FainAM@sklif.mos.ru](mailto:FainAM@sklif.mos.ru)  
 10% – анализ полученных данных, корректура и окончательное редактирование статьи

**Александр Юльевич  
Ваза**

канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник отделения неотложной травматологии опорно-двигательного аппарата ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», <https://orcid.org/0000-0003-4581-449X>,  
[VazaAU@sklif.mos.ru](mailto:VazaAU@sklif.mos.ru)  
 15% – обработка полученного материала, написание статьи, корректура и редактирование статьи

**Сергей Феликсович  
Гнетецкий**

д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник отделения неотложной травматологии опорно-двигательного аппарата ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»; доцент кафедры травматологии, ортопедии и медицины катастроф ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова МЗ РФ,  
<https://orcid.org/0000-0001-9932-1653>, [GnetetskiySF@sklif.mos.ru](mailto:GnetetskiySF@sklif.mos.ru)  
 10% – обработка полученной информации, аналитический обзор

**Кристина Ивановна  
Скуратовская**

младший научный сотрудник отделения неотложной травматологии опорно-двигательного аппарата ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»,  
<https://orcid.org/0000-0003-3074-453X>, [SkuratovskayaKI@sklif.mos.ru](mailto:SkuratovskayaKI@sklif.mos.ru)  
 30% – обзор публикаций, написание статьи

**Василий Бриджевич  
Бондарев**

научный сотрудник отделения неотложной травматологии опорно-двигательного аппарата ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»,  
<https://orcid.org/0000-0002-1183-3644>, [BondarevVB@sklif.mos.ru](mailto:BondarevVB@sklif.mos.ru)  
 10% – поиск литературы, обработка полученной информации

**Юрий Андреевич  
Боголюбский**

канд. мед. наук, научный сотрудник отделения неотложной травматологии опорно-двигательного аппарата ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», <https://orcid.org/0000-0002-1509-7082>, [BogoljubskijUA@sklif.mos.ru](mailto:BogoljubskijUA@sklif.mos.ru)  
 10% – поиск литературы, обработка полученной информации

**Роман Сергеевич  
Титов**

канд. мед. наук, старший научный сотрудник отделения неотложной травматологии опорно-двигательного аппарата ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», <https://orcid.org/0000-0002-2960-8736>,  
[TitovRS@sklif.mos.ru](mailto:TitovRS@sklif.mos.ru)  
 10% – поиск литературы, обработка полученной информации

**Александр Юрьевич  
Сергеев**

научный сотрудник отделения неотложной травматологии опорно-двигательного аппарата ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»,  
<https://orcid.org/0000-0001-9574-398X>, [SergeevAY@sklif.mos.ru](mailto:SergeevAY@sklif.mos.ru)  
 5% – поиск литературы, обработка полученной информации

**Information about the authors**

<b>Aleksey M. Fayn</b>	Dr. Sci. (Med.), Head of the Scientific Department of Emergency Traumatology of the Musculoskeletal System, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine; Professor of the Department of Traumatology, Orthopedics, and Disaster Medicine, A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, <a href="https://orcid.org/0000-0001-8616-920X">https://orcid.org/0000-0001-8616-920X</a> , FainAM@sklif.mos.ru 10%, analysis of the obtained data, proofreading and final editing of the article
<b>Aleksandr Yu. Vaza</b>	Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher, the Department of Emergency Traumatology of the Musculoskeletal System, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, <a href="https://orcid.org/0000-0003-4581-449X">https://orcid.org/0000-0003-4581-449X</a> , VazaAU@sklif.mos.ru 15%, processing of the obtained material, writing the text of the article, proofreading and editing the article
<b>Sergey F. Gnetetskiy</b>	Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, the Department of Emergency Traumatology of the Musculoskeletal System, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine; Associate Professor of the Department of Traumatology, Orthopedics, and Disaster Medicine, A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, <a href="https://orcid.org/0000-0001-9932-1653">https://orcid.org/0000-0001-9932-1653</a> , GnetetskiySF@sklif.mos.ru 10%, processing of the obtained information, analytical review
<b>Kristina I. Skuratovskaya</b>	Junior Researcher, the Department of Emergency Traumatology of the Musculoskeletal System, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, <a href="https://orcid.org/0000-0003-3074-453X">https://orcid.org/0000-0003-3074-453X</a> , SkuratovskayaKI@sklif.mos.ru 30%, review of literature sources, writing the article
<b>Vasilij B. Bondarev</b>	Researcher, the Department of Emergency Traumatology of the Musculoskeletal System, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, <a href="https://orcid.org/0000-0002-1183-3644">https://orcid.org/0000-0002-1183-3644</a> , BondarevVB@sklif.mos.ru 10%, literature search, processing of the obtained information
<b>Yuriy A. Bogolyubskiy</b>	Cand. Sci. (Med.), Researcher, the Department of Emergency Traumatology of the Musculoskeletal System, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, <a href="https://orcid.org/0000-0002-1509-7082">https://orcid.org/0000-0002-1509-7082</a> , BogoljubskijUA@sklif.mos.ru 10%, literature search, processing of the obtained information
<b>Roman S. Titov</b>	Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, the Department of Emergency Traumatology of the Musculoskeletal System, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, <a href="https://orcid.org/0000-0002-2960-8736">https://orcid.org/0000-0002-2960-8736</a> , TitovRS@sklif.mos.ru 10%, literature search, processing of the obtained information
<b>Aleksandr Yu. Sergeev</b>	Researcher, Department of Emergency Traumatology of the Musculoskeletal System, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, <a href="https://orcid.org/0000-0001-9574-398X">https://orcid.org/0000-0001-9574-398X</a> , SergeevAY@sklif.mos.ru 5%, literature search, processing of the obtained information

Статья поступила в редакцию 5.10.2021;  
одобрена после рецензирования 18.03.2022;  
принята к публикации 30.03.2022

The article was received on October 5, 2021;  
approved after reviewing March 3, 2022;  
accepted for publication March 30, 2022