

УДК 616.711-089.881:[615.3:611.018.52]:616-092.9(045)

DOI: <http://dx.doi.org/10.15674/0030-59872018357-65>

Результаты экспериментального поясничного заднебокового спондилодеза с использованием обогащенного тромбоцитами фибрина

В. А. Радченко, А. В. Палкин, В. А. Колесниченко, Н. А. Ашукина, З. Н. Данищук

ГУ «Институт патологии позвоночника и суставов им. проф. М. И. Ситенко НАМН Украины», Харьков

In the case of instrumental spine fusion with the achieved biomechanical rigidity of the operated segment, the use of platelet-rich fibrin to stimulate osteogenesis is promising. Objective: to study the possibility of lumbar spine fusion under conditions of platelet-rich fibrin usage in the experiment. Methods: fusion modeling was made in 42 mature male Californian rabbits, which were divided into 6 groups of 7 individuals in each group. In the 1st group we did not use grafts (control group); in the 2nd group we used bone autografts; in the 3rd — bone autografts with platelet-rich fibrin; in the 4th — allografts from iliac crest; in the 5th — allografts from iliac crest combined with platelet-rich fibrin; in the 6th — platelet-rich fibrin. Methods: roentgenological, morphological, statistical. Results: false positive fusion was revealed on X-rays in the 1st group in 28.6 % of cases, in the group 6th — in 7.1 %, false negative — in the 2nd and the 3rd groups — equal in 7.1 %. In the control group 1st spine fusion was not found. In all other groups we have found the callous formation with different amount of bone, cartilage and connective tissue. In these groups on radiographs, the optical density of the newly formed bone exceeded the same parameters of the cancellous bone of the adjacent vertebral bodies. Conclusions: the greatest osteogenic properties were found in the case of a combination of bone autografts with platelet-rich fibrin: the highest incidence of fusion (71.4 %) was recorded, in which the predominantly mature bone tissue was formed. Regardless of the type of the graft (auto- or allo-), platelet-rich fibrin increased its reparative capabilities, providing a higher frequency of bone marrow formation based on the results of radiography and histology. Key words: experimental lumbar posterior-lateral fusion, rabbits, bone autografts, allografts, platelet rich fibrin.

У разі інструментального спондилодезу з досягнутою біомеханічною жорсткістю оперованого сегмента використання збагаченого тромбоцитами фібрину (PRF) для стимуляції остеогенезу є перспективним. Мета: дослідити можливість формування поперекового задньобічного спондилодезу за умов використання PRF в експерименті. Методи: моделювання спондилодезу виконано в 42 статевозрілих самцях каліфорнійських кроликів, розділених на 6 груп по 7 у кожній. У групі 1 (контроль) трансплантати не застосовували; у групі 2 встановлено кісткові автотрансплантати; 3 — кісткові автотрансплантати в поєднанні з PRF; 4 — алотрансплантати з крила клубової кістки; 5 — алотрансплантати з крила клубової кістки в поєднанні з PRF; 6 — PRF. Методи: рентгенологічний, морфологічний, статистичний. Результати: хибнопозитивні результати спондилодезу під час рентгенологічної діагностики виявлено в групі 1 у 28,6 % випадків; у групі 6 — у 7,1 %; хибнонегативні — в групах 2 і 3 (по 7,1 %). У контрольній групі 1 утворення кісткового блоку не зафіксовано. В інших дослідних групах спостерігали формування регенерату з різним вмістом кісткової, хрящової та сполучної тканин. У цих групах на рентгенограмах показники оптичної щільності новоутвореної кісткової тканини різною мірою перевищували ці самі параметри губчастої кістки прилеглих тіл хребців. Висновки: найбільші остеогенні властивості виявлені в разі комбінації кісткових автотрансплантатів із PRF: зареєстровано найвищу частоту спондилодезу (71,4 %), в зоні якого сформувалася переважно зріла кісткова тканина. Незалежно від варіанта остеопластичного матеріалу (авто- або алотрансплантат) PRF підвищував його репаративні можливості, забезпечуючи більшу частоту формування кісткового зрощення за результатами рентгенографії і гістології. Ключові слова: експериментальний поперековий моносегментарний задньобічний спондилодез, кролики, кісткові автотрансплантати, алотрансплантати, збагачений тромбоцитами фібрин.

Ключевые слова: экспериментальный поясничный моносегментарный заднебоковой спондилодез, кроли, костные аутоотрансплантаты, аллотрансплантаты, обогащенный тромбоцитами фибрин

Введение

При заднебоковом межпоперечном спондилодезе несращение наблюдается в 5–35 % случаев [1–3]. Несмотря на использование фиксирующих устройств, направленных на биомеханическое ужесточение спондилодеза и создание оптимальных условий для репаративного остеогенеза, не всегда удается достичь формирования костного сращения [4]. Такая ситуация вынуждает к поиску биоматериалов, повышающих остеогенный потенциал трансплантатов.

Ежегодно во всем мире выполняется более двух миллионов хирургических вмешательств с применением костных трансплантатов, что является второй по частоте заместительной процедурой после переливания крови [5].

«Золотым стандартом» в хирургии позвоночника являются костные аутоотрансплантаты из гребня подвздошной кости. Они обладают необходимыми для регенерации костной ткани свойствами — остеоиндуктивными, остеокондуктивными и остеогенными. Основными их недостатками являются ограниченное количество трансплантируемого материала и болезни донорского места [6]. Костные аллотрансплантаты — второй по частоте заместительный материал для ортопедических операций [7], поскольку они доступны в различных формах и значительных количествах, являются прочным остеокондуктивным каркасом [8]. Однако при использовании аллотрансплантатов наблюдается более низкая частота формирования костного регенерата по сравнению с аутоотрансплантатом. Помимо этого, аллотрансплантаты могут служить источником вирусных и инфекционных заболеваний [4, 9].

В последнее время в ортопедической практике в качестве биоматериала достаточно широко используют концентраты тромбоцитов, которые действуют как медиаторы, потенцирующие репаративную регенерацию тканей [10]. Обогащенный тромбоцитами фибрин (*англ.* platelet rich fibrin — PRF), концентрат тромбоцитов второго поколения, является аутологичным фибриновым матриксом содержащим большое количество тромбоцитарных и лейкоцитарных цитокинов [11]. PRF характеризуется устойчивым пролонгированным высвобождением биологически активных факторов, что способствует ангиогенезу и миграции мезенхимальных клеток на ранних стадиях регенерации тканей [12], в том числе — репаративной регенерации кости [13, 14].

Остеокондуктивные и остеоиндуктивные свойства PRF используют в стоматологической практике, в частности, для повышения темпов и качества остеоинтеграции при имплантации зубов [11, 15]. Эффективность клинического применения PRF в хирургии позвоночника изучена недостаточно. В то же время при инструментальном спондилодезе, когда требуется быстрое формирование костного регенерата при достигнутой биомеханической жесткости оперированного сегмента, использование PRF представляется перспективным.

Цель: изучить возможность формирования поясничного заднебокового спондилодеза при использовании обогащенного тромбоцитами фибрина в эксперименте.

Материал и методы

Эксперименты выполнены на 42 половозрелых кролях (в возрасте 4–5 мес.) с соблюдением требований Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и других научных целей и требований Закона Украины «О защите животных от жестокого обращения» [16] после одобрения комитетом по биоэтике ГУ «ИППС им. проф. М. И. Ситенко НАМН» (протокол № 151 от 18.01.2016).

Хирургические вмешательства проводили в условиях асептики в операционной экспериментально-биологической клиники ГУ «ИППС им. проф. М. И. Ситенко НАМН» под внутривенной анестезией комбинацией препаратов кетамина (35 мг/кг) и ксилазина (5 мг/кг). При выполнении межпоперечного спондилодеза всем кролям провели двустороннюю декортикацию поперечных отростков L_{IV} и L_V позвонков. На поперечных отростках медиально возле заднебоковых поверхностей тел прилежащих позвонков размещали трансплантационный материал в зависимости от группы эксперимента: 2 — аутоотрансплантаты, полученные в результате декортикации; 3 — аналогичные аутоотрансплантаты в сочетании с PRF; 4 — аллотрансплантаты из крыла подвздошной кости; 5 — аллотрансплантаты из крыла подвздошной кости в сочетании с PRF; 6 — PRF. У животных контрольной группы 1 трансплантаты не использовали. Кролей выводили из эксперимента через 8 недель после операции путем передозировки тиопентала натрия.

Характеристика трансплантируемого материала

Костные аутоотрансплантаты представляли собой фрагменты резецированных интраоперационно остистых отростков L_{IV} и L_V позвонков.

Лиофилизированные аллотрансплантаты, полученные из гребня подвздошной кости кролей, выведенных из эксперимента, изготовлены на базе отделения трансплантологии тканей опорно-двигательной системы ГУ «ИППС им. проф. М. И. Ситенко НАМН».

Подготовленные для спондилодеза ауто- и аллотрансплантаты представляли собой кортикально-спонгиозные костные фрагменты размерами 0,1–0,2 см на 0,1–0,3 см; каждому кролю имплантировали по 2 г ауто-/аллокости. Выбор размеров костных трансплантатов обусловлен тем, что более мелкие костные фрагменты образуют гомогенные спондилодезные массы, быстрее достигая биомеханической зрелости [17, 18].

PRF получали согласно протоколу стандартной операционной процедуры № 1 отделения патологии позвоночника, утвержденной на заседании Ученого совета ГУ «ИППС им. проф. М. И. Ситенко НАМН» (протокол № 9 от 05.07.2017). Непосредственно перед операцией производили забор крови из ушной вены кроля (7,0 мл) и немедленно ее центрифугировали в пробирке без коагулянта со скоростью 3 000 оборотов в минуту (приблизительно 400 g) в течение 10 мин. Полученные 3,0 мл аутологичного PRF делили на 2 порции по 1,5 мл для выполнения двустороннего заднебокового спондилодеза.

Обзорную рентгенографию поясничного отдела позвоночника в двух проекциях выполняли до и через 8 недель после операции с использованием тест-объекта, позволяющего стандартизировать оптическую плотность позвоночных структур независимо от технических особенностей рентгенографии [19]. Измеряли оптическую плотность губчатой кости тел L_{IV} и L_V позвонков (на уровне спондилодеза) и спондилодезных масс. Использование поясничных обзорных спондилограмм с тест-объектом позволяет выполнить рентгенометрическую оценку зоны спондилодеза и оценить такие облигатные признаки сформированного костного блока, как гомогенность структуры и увеличение интенсивности рентгеновского изображения спондилодезных масс [20].

Для *гистологического исследования* выделяли фрагменты поясничного позвоночного сегмента L_{IV} – L_V . Материал фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина, декальцинировали в 10 % растворе муравьиной кислоты, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в целлоидин [21]. Гистологические срезы изготавливали на санном микротоме Reichert, окрашивали гематоксилином Вейгерта и эозином,

а также пикрофуксином по Ван-Гизон. Анализировали гистологические препараты под световым микроскопом BX-63 (Olympus). Для фотографирования использована цифровая фотокамера DP73 (Olympus) и программное обеспечение «Cell Sens Dimension 1.8.1» (Olympus, 2013).

Морфометрические исследования выполняли только в тех случаях, когда клинически и рентгенологически было установлено образование костного блока (хотя бы с одной стороны оперированного сегмента). Полуколичественное оценивание качества спондилодеза выполняли два независимых морфолога. Анализировали по 5 сагиттальных срезов от каждого животного на уровне поперечных отростков с обеих сторон поясничного сегмента под микроскопом Olympus BX-63 с объективом $\times 2$. Определяли качество спондилодеза в баллах в зависимости от выявленных в этой зоне тканей (отдельно костной, хрящевой и соединительной — суммарно) по A. R. Gezici и соавт. [22] в собственной модификации. Наибольшее количество баллов (4) присваивали при формировании в зоне спондилодеза только костной ткани, наименьшее (0) — когда ее не обнаруживали. Преобладание костной ткани над соединительной и хондроидом соответствовало 3 баллам; одинаковое количество этих тканей — 2; преобладание соединительной ткани и хондроидов — 1.

При *статистических исследованиях* использовали программный пакет IBM SPSS Statistics 20.0.0.2. Значимость различий между группами определяли с использованием апостериорного теста Дункана с уровнем достоверности $p < 0,05$. Проводили корреляционный анализ по Пирсону.

Результаты и их обсуждение

Хирургическое вмешательство, выполненное экспериментальным животным, представляло собой двусторонний моносегментарный заднебоковой межпоперечно-межтеловой спондилодез L_{IV} – L_V сегмента: производили декортикацию поперечных отростков L_{IV} и L_V позвонков с расположением трансплантатов в непосредственной близости к данным отросткам и заднебоковой поверхности тел позвонков. При оценке частоты формирования костного блока исходили из того, что у каждого животного имелось по 2 зоны спондилодеза — справа и слева.

Послеоперационный период протекал гладко; лишь у одного кроля в первые сутки после операции отмечен слабо выраженный транзиторный парализ тазовых конечностей с самопроизвольным полным регрессом неврологической

симптоматики на вторые сутки после хирургического вмешательства.

Анализ обзорных поясничных спондилограмм в двух (переднезадней и боковой) проекциях позволил выявить самую высокую частоту костного сращения в группах 3 (аутотрансплантаты + PRF) и 5 (аллотрансплантаты + PRF) — 64,3 % наблюдений (по 9 сегментов из 14). В 57,1 % случаев костное сращение в оперированных позвоночных сегментах сформировалось в группах 2 (аутотрансплантаты), 4 (аллотрансплантаты) и 6 (PRF) — по 8 сегментов из 14. В контрольной группе 1, где выполнена только декортикация поперечных отростков, состоявшийся спондилодез визуализирован в 28,6 % наблюдений — 4 сегмента из 14 (табл. 1).

В результате анализа средней оптической плотности губчатой кости тел L_{IV} , L_V позвонков и спондилодезных масс через 8 недель после операции установлено во всех группах животных ее снижение в телах позвонков оперированных сег-

ментов по сравнению с показателями интактной группы, т. е. до хирургического вмешательства. Для групп 1 и 6 эти различия оказались значимыми ($p < 0,05$). В этих же двух группах определялась и самая низкая оптическая плотность спондилодезных масс, что было достоверно меньше, чем в группах 3, 4 и 5 ($p < 0,05$) (табл. 2). Следует отметить, что показатели оптической плотности новообразованной костной ткани и губчатой кости прилегающих тел позвонков прямо пропорционально коррелировали друг с другом (коэффициент корреляции $r = 0,7$; $p < 0,001$).

Частота формирования спондилодеза, выявленная при гистологическом исследовании, незначительно отличалась от результатов анализа обзорных поясничных спондилограмм в группах животных, где в качестве костнопластического материала использовали аутотрансплантаты самостоятельно и в комбинации с PRF, а также PRF (группы 2, 3 и 6 соответственно).

Таблица 1

Результаты экспериментального моделирования поясничного заднебокового моносегментарного спондилодеза на кролях

Группа	Количество оперированных сегментов		Исследование							
			рентгенографическое				гистологическое			
			костное сращение		отсутствие сращения		костное сращение		отсутствие сращения	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1 — контроль	14	100,0	4	28,6	10	71,4	0	0,0	14	100,0
2 — аутотрансплантаты	14	100,0	8	57,1	6	42,9	9	64,3	5	35,7
3 — аутотрансплантаты + PRF	14	100,0	9	64,3	5	35,7	10	71,4	4	28,6
4 — аллотрансплантаты	14	100,0	8	57,1	6	42,9	8	57,1	6	42,9
5 — аллотрансплантаты + PRF	14	100,0	9	64,3	5	35,7	9	64,3	5	35,7
6 — PRF	14	100,0	8	57,1	6	42,9	7	50,0	7	50,0

Таблица 2

Результаты оценки тканей регенератора по быльшой шкале ($M \pm m$) и оптической плотности

Параметр/исследование	Группа животных						
	интакт	1	2	3	4	5	6
Гистологическое: — качество спондилодеза, баллы	—	—	$3,7 \pm 0,06^{1, 2, 3}$	$3,7 \pm 0,06^{1, 2, 3}$	$3,2 \pm 0,1^1$	$3,4 \pm 0,11^{1, 2}$	$1,8 \pm 0,1$
Рентгенологическое: — оптическая плотность спондилодезных масс;	—	$1,15 \pm 0,34$	$1,82 \pm 0,41$	$2,15 \pm 0,49^{1, 2, 3, 4}$	$2,17 \pm 0,51^{1, 2, 3, 4}$	$2,25 \pm 0,61^{1, 2, 3, 4}$	$1,12 \pm 0,29$
— оптическая плотность тел L_{IV} и L_V позвонков	$1,65 \pm 0,32$	$0,95 \pm 0,28^5$	$1,16 \pm 0,21$	$1,26 \pm 0,28$	$1,11 \pm 0,24$	$1,44 \pm 0,34$	$0,98 \pm 0,26^5$

Примечания: вероятность различий ($p < 0,001$) в сравнении с: 1 — группой 6 (PRF), 2 — группой 4 (аллотрансплантаты), 3 — группой 5 (аллотрансплантаты + PRF). Вероятность различий ($p < 0,05$) в сравнении с: 4 — группой 1 (контроль), 5 — группой $H_{инт}$.

В группах с применением аллотрансплантатов самостоятельно и в сочетании с PRF (4 и 5 соответственно) результаты рентгенологических и гистологических исследований совпали. Существенные различия при оценке костного сращения установлены лишь в контрольной группе 1 — его рентгенологические признаки выявлены в 28,6 %, а при морфологическом исследовании не обнаружено формирование костной ткани ни между поперечными отростками, ни телами позвонков во всех оперированных сегментах (табл. 1).

Следует отметить, что при визуализации зоны спондилодеза на обзорных рентгенограммах наблюдается достаточно высокая частота ошибочных результатов в оценке характера сращения. Согласно данным клинических исследований информативность данного метода достигает 69 % [23], и в одном из пяти наблюдений на стандартных снимках не возможно было оценить степень оссификации новообразованной костной ткани [24, 25]. Ложноположительные результаты визуализации спондилодеза могут быть связаны с технической погрешностью при выполнении рентгенограмм в боковой проекции и получении «субоптимальных» [26] спондилограмм, искажающих интерпретацию полученного изображения. Ложноотрицательные результаты рентгенографической оценки новообразованной костной ткани обычно обусловлены тем, что образовавшийся в зоне спондилодеза неминерализованный остеоид является рентгенонегативным [27]. В связи с продолжительностью процесса кальцификации остеоида состоявшийся спондилодез, визуализируемый рентгенологически, формируется не менее 6–9 мес. после операции [28].

Сроки лучевой диагностики результатов экспериментального поясничного заднебокового спондилодеза достаточно вариативны — от 4 до 10 недель после операции. Наиболее высокие показатели частоты состоявшегося спондилодеза при рентгенологических исследованиях отмечены в группах лабораторных животных с продолжительностью эксперимента 4 недели — 64,6 %, тогда как в группах с длительностью послеоперационного периода 5–6 недель и более этот параметр составил 53,8 и 56,4 % соответственно [29]. Такая же тенденция в частоте формирования костного сращения на уровне оперированных сегментов отмечена и в классической работе S. D. Boden и соавт. [25].

Следует отметить, что на оценку степени оссификации спондилодезных масс в относительно

ранние сроки после экспериментального заднебокового спондилодеза могут влиять репаративные изменения, свойственные стадиям ремоделирования новообразованной костной ткани и костных трансплантатов. Так, в области спондилодеза через 4 недели после операции еще сохраняется кортикальная часть костного аутоотрансплантата, а новообразованная кость прорастает в центральные отделы спондилодезных масс [25], что рентгенологически может визуализироваться как полноценный костный блок. Продолжающаяся резорбция кортикального фрагмента трансплантата на 5-ой неделе после костной пластики, значительное увеличение объема костного мозга в сочетании с уменьшением содержания минерализованной кости в центре спондилодезных масс с 6-ой недели [25] может сопровождаться участками рентгенонегативного изображения и приводить к ложноотрицательному снижению частоты состоявшегося спондилодеза.

В нашем исследовании ложноположительные результаты состоявшегося спондилодеза при рентгенологической диагностике выявлены в группе 1 в 28,6 % случаев, в группе 6 — в 7,1 %. Такие результаты могли явиться следствием нескольких причин. Одним из основных признаков сформированного костного блока при лучевой диагностике является наличие в зоне спондилодеза рентгенологически более интенсивного изображения и, соответственно, более зрелой костной ткани по сравнению с трансплантированным костно-пластическим материалом [30, 31]. Поскольку в этих группах костные трансплантаты не использовали, сравнивали оптическую плотность тел позвонков на уровне спондилодеза и новообразованной костной ткани. Хотя полученные показатели в группах 1 и 6 и оказались достоверно ниже относительно соответствующих параметров в остальных группах, тем не менее, оптическая плотность тел позвонков ($0,95 \pm 0,28$ и $0,98 \pm 0,26$ соответственно) была меньше оптической плотности новообразованной костной ткани ($1,15 \pm 0,34$ и $1,12 \pm 0,29$ соответственно). При качественной оценке рентгенограмм в зоне спондилодеза у кролей этих групп визуализированы костные трабекулы, что также является признаком костного сращения [32]. Интересно, что в данных группах рентгенологические данные в определенной степени все же соответствовали морфологической картине. Так, в группе 1 на поперечных отростках отмечали разрастание костной ткани в виде наслоений утолщенных костных трабекул, вследствие чего

наблюдали расширение собственно поперечных отростков. Обращает на себя внимание тот факт, что лишь в группе 1 процесс репаративной регенерации был направлен на образование первичного костного сращения, о чем свидетельствует наличие только костной ткани в формирующемся регенерате. В остальных группах в зоне спондилодеза отмечали эндохондральную оссификацию.

В группе 6 между поперечными отростками регистрировали образование костного регенерата, расположенного вдоль кортекса смежных тел позвонков и плотно соединенного с ним. Образовавшаяся костная ткань была трабекулярной структуры, как и костная ткань тела позвонка (рис. 1, а). Следует отметить, что в группе 6 новообразованная костная ткань и на спондилограммах выглядела наиболее гомогенной (рис. 2, а), а при рентгенометрических исследованиях оптическая плотность тел позвонков и области спондилодеза была сравнима по показателям с другими группами (табл. 1).

В определенной степени на оценку частоты формирования костного сращения в зоне спондилодеза в группе 1 могло повлиять отсутствие биоматериала, т. к. рентгенологические признаки костного сращения можно наблюдать еще при наличии неперестроившихся костных трансплантатов, которые имеют характерную для кости рентгенологическую плотность [25, 30, 32].

Ложноотрицательные результаты спондилодеза в группах 2 и 3 (табл. 1) также могли быть вызваны несколькими причинами, связанными с рентгенонегативным изображением участков сформированного костного блока. На снимках участки просветления в зоне спондилодеза созда-

ли зоны некальцифицированного остеоида в регенерате [30, 32] и увеличенного объема костного мозга [25].

Оптическая плотность спондилодезных масс существенно превышала аналогичные показатели тел позвонков (табл. 2). Таким образом, данные обзорных рентгенограмм соответствовали результатам морфологических исследований, согласно которым новообразованные костные трабекулы отличались большей толщиной по сравнению с расположенными в теле позвонка.

В группах с использованием аллотрансплантатов самостоятельно и в сочетании с PRF (группы 4 и 5 соответственно), как отмечалось выше, частота состоявшегося спондилодеза по данным рентгенологических и гистологических исследований оказалась одинаковой (табл. 1). Оптическая плотность костной ткани в спондилодезных массах ($2,17 \pm 0,51$ и $2,25 \pm 0,61$ соответственно) была значительно больше, чем в телах позвонков ($1,11 \pm 0,24$ и $1,44 \pm 0,34$ соответственно) (табл. 2).

В результате морфометрического анализа наименьшее количество костной ткани в регенерате обнаружено у животных группы 6 (PRF). Показатель по полуколичественной гистологической шкале, где максимальное количество баллов (4) соответствовало наличию в регенерате только костной ткани, у этих животных оказался достоверно ($p < 0,001$) меньше по сравнению с другими группами эксперимента: применение аутооттрансплантатов самостоятельно или с PRF — в 2,06; аллотрансплантатов с PRF — в 1,89; аллотрансплантатов — в 1,78 раза (табл. 2). Следует обратить внимание, что алло- и аутооттрансплантаты определялись через 8 недель после операции

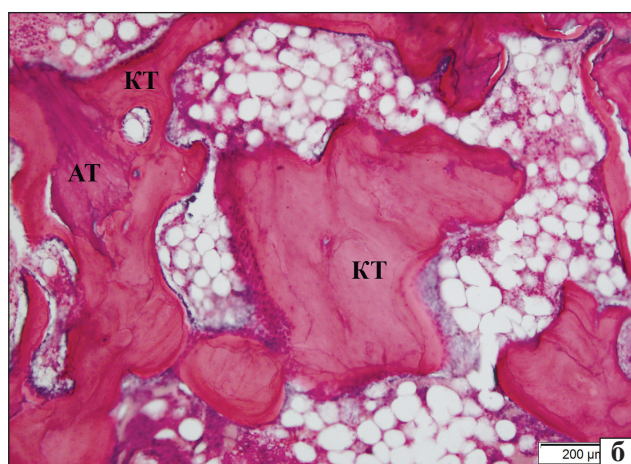
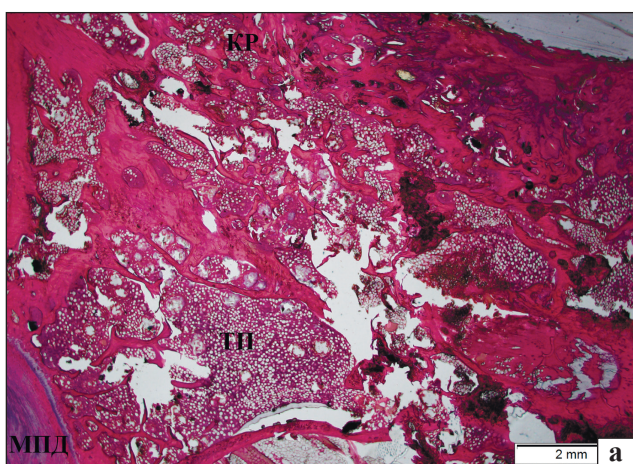


Рис. 1. Фрагмент поясничного позвоночного двигательного сегмента кролей: а) костный регенерат, образованный между поперечными отростками вдоль кортекса тела поясничного позвонка кроля, костная ткань пластинчатой структуры, группа 6 (PRF); б) новообразованные костные трабекулы с высокой плотностью остеобластов на поверхности, микрофрагмент аутооттрансплантата замурован в костную ткань, группа 3. Гематоксилин и эозин

на гистологических срезах, а процесс их перестройки продолжался.

Таким образом, результаты рентгенологических и морфологических исследований позволили установить, что наиболее выраженными остеогенными свойствами обладает костнопластический материал, состоящий из аутотрансплантатов в комбинации с PRF. У животных из этой экспериментальной группы наиболее часто регистрировался состоявшийся спондилодез (в 64,3 % на обзорных спондилограммах (рис. 2, б) и в 71,4 % — гистологически), в зоне которого сформировался регенерат, представленный преимущественно костной тканью пластинчатой структуры (рис. 1, б).

Параметры костного сращения в группах 2 (аутотрансплантаты) и 5 (аллотрансплантаты + PRF) во многом оказались сходными (одинаковая частота состоявшегося спондилодеза, существенное преобладание оптической плотности спондилодезных масс по сравнению с телами позвонков, одинаковый тканевый состав регенерата), однако в группе 2 отмечено большее количество новообразованной костной ткани. Другими словами, костные аутотрансплантаты, полученные в результате декорткации поперечных отростков и комбинация аллотрансплантатов с PRF обладают близкими остеогенными свойствами, но с несколько более быстрыми темпами формирования костного сращения в случае применения аутотрансплантатов.

Меньшая эффективность использования только аллотрансплантатов в качестве костнопластического материала проявлялась в более низкой частоте образования состоявшегося спондилодеза (57,1 % и рентгенологически, и гистологически) и самыми низкими показателями образования

костной ткани среди групп с применением трансплантатов (табл. 2).

Сравнение результатов спондилодеза в группах эксперимента с использованием костных трансплантатов самостоятельно и в сочетании с PRF (группы 2 и 3, 4 и 5) позволило установить, что независимо от варианта остеопластического материала — аутологичная кость или аллотрансплантат — PRF повышал его репаративные возможности. При этом обеспечивалась более высокая частота формирования костного сращения (64,3 % с использованием аутотрансплантатов самостоятельно (группа 2) и 73,4 % — в комбинации с PRF (группа 3); 57,1 % — аллотрансплантатов самостоятельно (группа 4) и 64,3 % — в сочетании их с PRF (группа 5)); большее количество новообразованной костной ткани в регенерате (качество спондилодеза ($3,2 \pm 0,1$) балла в группе 4, ($3,4 \pm 0,11$) — в группе 5).

В экспериментальной группе 6 (PRF) костный артродез, сформированный в половине наблюдений, характеризовался наименее выраженным и минимально зрелым регенератом. Однако новообразованная костная ткань визуализировалась на спондилограммах как более гомогенная по сравнению с другими группами животных, и имела показатели оптической плотности, близкие к значениям тел позвонков в оперированных сегментах (табл. 2). Процессы ремоделирования костной ткани в гомогенных спондилодезных массах протекают быстрее, что обеспечивает скорейшее достижение биомеханической жесткости [25]. Это особенно актуально для межпоперечного спондилодеза, при котором трансплантаты располагаются в паравертебральной мускулатуре в прямом контакте с телами позвонков и обнаженным периостом поперечных отростков и непосредственно не подвергаются механическим нагрузкам до окончания процесса консолидации [25]. В таких условиях места соединения спондилодезных масс с поперечными отростками являются наиболее уязвимой зоной для растягивающих нагрузок, повреждаясь при биомеханическом тестировании во всех случаях спондилодеза [33].

Регенераторный потенциал PRF обеспечивает устойчивым пролонгированным (не менее 7 дней) выделением тромбоцитарных и лейкоцитарных цитокинов, которые удерживаются в трехмерной эластичной сети фибринового матрикса [34]. Это стимулирует начальные этапы ангиогенеза за счет выделения факторов роста эндотелия сосудов, фибробластов, ангиопоэтина



Рис. 2. Спондилограммы поясничного отдела позвоночника кролей в переднезадней и боковой проекциях через 8 недель после операции с состоявшимся спондилодезом: а) с применением PRF (группа 6); б) с использованием местных аутотрансплантатов в сочетании с PRF (группа 3)

и тромбоцитарного фактора роста [35]. Дополнительными преимуществами PRF являются протекторная функция (защита факторов роста от протеолиза), потенцирование микроваскуляризации и, соответственно, более эффективной клеточной миграции [12]. Лейкоцитарные цитокины инициируют выделение факторов роста, обеспечивают иммунную регуляцию, противомикробную активность и принимают участие в процессе ремоделирования тканевого матрикса [36].

Непосредственное взаимодействие между PRF и костной тканью не установлено. Однако фибриновый матрикс, являющийся идеальным остеокондуктивным каркасом, удерживает костные морфогенетические белки, которые способны индуцировать костную ткань [13].

Выводы

Наиболее выраженными остеогенными свойствами обладает костнопластический материал в виде костных аутоотрансплантатов в комбинации с PRF. У животных из этой группы чаще регистрировали состоявшийся спондилонез (71,4 %), в зоне которого преобладала новообразованная костная ткань.

Независимо от варианта остеопластического материала (ауто- или аллокость) PRF повышал репаративные возможности, обеспечивая более частое формирование спондилонеза со значительным количеством костной ткани в регенерате.

При использовании PRF самостоятельно костное сращение, обнаруженное в половине наблюдений, характеризовалось наименее выраженным и зрелым регенератом. Последний визуализировался на спондилограммах как более гомогенный по сравнению с другими группами животных, что потенциально может позволить образованному костному блоку быстро достичь биомеханической жесткости.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Список литературы

1. Chun D. S. Lumbar pseudoarthrosis: a review of current diagnosis and treatment / D. S. Chun, K. C. Backer, W. K. Hsu // *Neurosurgery Focus*. — 2015. — Vol. 39 (4). — Article ID : E10. — DOI: 10.3171/2015.7.FOCUS15292.
2. Guideline update for the performance of fusion procedures for degenerative disease of the lumbar spine. Part 4: Radiographic assessment of fusion status / T. F. Choudhri, P. V. Mummaneni, S. S. Dhall [et al.] // *Journal of Neurosurgery Spine*. — 2014. — Vol. 21 (1). — P. 23–30. — DOI: 10.3171/2014.4.SPINE14267.
3. Радченко В. А. Рентгенологическая оценка экспериментального поясничного моносегментарного заднебокового спондилонеза с использованием аутологичного фибрина, обогащенного тромбоцитами / В. А. Радченко, А. В. Палкин, В. А. Колесниченко // *Ортопедия, травматология и протезирование*. — 2017. — № 2 (607). — С. 45–51. — DOI: 10.15674/0030-59872017245-51.
4. Revision surgery for lumbar pseudarthrosis / O. Dede, D. Thuillier, M. Pekmezci [et al.] // *Spine Journal*. — 2015. — Vol. 15 (5). — P. 977–982. — DOI: 10.1016/j.spinee.2013.05.039.
5. Bone substitutes in orthopaedic surgery: from basic science to clinical practice / V. Campana, G. Milano, E. Pagano [et al.] // *Journal of Materials Science : Materials in Medicine*. — 2014. — Vol. 25 (10). — P. 2445–2461. — DOI: 10.1007/s10856-014-5240-2/
6. Wang W. Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: a review / W. Wang, K. W. K. Yeung // *Bioactive Materials*. — 2017. — Vol. 2 (4). — P. 224–247. — DOI: 10.1016/j.bioactmat.2017.05.007
7. Bone grafts and bone graft substitutes in orthopaedic trauma surgery: a critical analysis / W. G. de Long, T. A. Einhorn, K. Koval [et al.] // *Journal of Bone and Joint Surgery. Am.* — 2007. — Vol. 89 (3). — P. 649–658. — DOI: 10.2106/JBJS.F.00465.
8. Fillingham Y. Bone grafts and their substitutes / Y. Fillingham, J. Jacobs // *Bone Joint Journal*. — 2016. — Vol. 98-B (1 Suppl A). — P. 6–9. — DOI: 10.1302/0301-620X.98B.36350.
9. Stevenson S. There sponse to bone allografts / S. Stevenson, M. Horowitz // *Journal of Bone and Joint Surgery. Am.* — 1992. — Vol. 74 (6). — P. 939–950.
10. Khiste S. V. Platelet-rich fibrin as a biofuel for tissue regeneration [web source] / S. V. Khiste, R. N. Tari // *Hindawi Publishing Corporation. ISRN Biomaterials*. — 2013. — Article ID : 627367. — DOI: 10.5402/2013/627367.
11. Regenerative potential of platelet rich brin in dentistry: literature review / V. Gupta, V. K. Bains, G. P. Singh [et al.] // *Asian Journal of Oral Health & Allied Sciences*. — 2011. — Vol. 1 (1). — P. 22–28.
12. Platelet rich fibrin: a promising innovation in regenerative therapy. Review article / A. Verma, S. Srivastava, S. Khurshid [et al.] // *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences*. — 2015. — Vol. 4 (33). — P. 5748– 5756. — DOI: 10.14260/jemds/2015/840.
13. Kawamura M. Human fibrin is a physiologic delivery system for bone morphogenetic protein / M. Kawamura, M. R. Urist // *Clinical Orthopaedics and Related Research*. — 1988. — № 235. — P. 302–310.
14. Habibovic P. Bioinorganics and biomaterials: bone repair / P. Habibovic, J. E. Barralet // *Acta Biomaterialia*. — 2011. — Vol. 7 (8). — P. 3013–3026. — DOI: 10.1016/j.actbio.2011.03.027.
15. Oncu E. Positive effect of platelet rich fibrin on osseointegration / E. Oncu, B. Bayram, A. Kantarcı [et al.] // *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*. — 2016. — Vol. 21. — P. 601–607.
16. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Страсбург, 18 березня 1986 року: офіційний переклад [Електронний ресурс] / Верховна Рада України. — Офіційний веб-сайт. — (Міжнародний документ Ради Європи). — Режим доступу: [http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?reg=994_137].
17. Boden S. D. 1995 Volvo Award in basic sciences. The use of an osteoinductive growth factor for lumbar spinal fusion. Part II: Study of dose, carrier and species / S. D. Boden, J. H. Schimandle, W. C. Hutton // *Spine*. — 1995. — Vol. 20 (24). — P. 2633–2644.
18. Радченко В. А. Критерии выбора оптимальных параметров экспериментального поясничного межпоперечного спондилонеза у кролей / В. А. Радченко, А. В. Палкин, В. А. Колесниченко // *Морфология*. — 2017. — Т. 11, № 4. — С. 40–47.
19. Тимошенко О. П. Исследование диагностических возможностей программного комплекса «X-rays» / О. П. Тимошенко,

- A. Г. Верецун // Медицина и ... — 2001. — № 1. — С. 62–64.
20. Hayeri M. R. Diagnostic imaging of spinal fusion and complications / M. R. Hayeri, J. Tehranzadeh // *Applied Radiology*. — 2009. — Vol. 38. — P. 14–28.
 21. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов. — М.: Медицина, 1996. — 542 с.
 22. The effect of risedronate on posterior lateral spinal fusion in a rat model / A. R. Gezici, R. Ergun, K. Gurel [et al.] // *J. Korean Neurosurg. Soc.* — 2009. — Vol. 46. — P. 45–51. — DOI: 10.3340/jkns.2009.46.1.45.
 23. Imaging the postoperative spine / R. S. Thakkar, J. P. Malloy IV, S. C. Thakkar [et al.] // *Radiologic Clinics of North America*. — 2012. — Vol. 50 (4). — P. 731–747. — DOI:10.1016/j.rcl.2012.04.006.
 24. Imaging features of postoperative complications after spinal surgery and instrumentation / D. Hayashi, F. W. Roemer, A. Mian [et al.] // *American Journal of Roentgenology*. — 2012. — Vol. 199 (1). — P. W123–W129. — DOI: 10.2214/AJR.11.6497.
 25. Boden S. D. An experimental lumbar intertransverse process spinal fusion model. Radiographic, histologic, and biomechanical healing characteristics / species / S. D. Boden, J. H. Schimandle, W. C. Hutton // *Spine*. — 1995. — Vol. 20 (4). — P. 412–420.
 26. Segmental lumbar lordosis: manual versus computer-assisted measurement using seven different techniques / T. C. Schuler, B. R. Subach, C. L. Branch [et al.] // *Journal of Spinal Disorders and Techniques*. — 2004. — Vol. 17 (5). — P. 372–379.
 27. Brodsky A. E. Correlation of radiographic assessment of lumbar spine fusions with surgical exploration / A. E. Brodsky, E. S. Kovalsky, M. A. Khalil // *Spine*. — 1991. — Vol. 16 (Suppl. 6). — P. S261–S265.
 28. Evaluation of the postoperative lumbar spine / I. Herrera Herrera, R. Moreno de la Presa, R. Gonzalez Gutierrez [et al.] // *Radiologia*. — 2013. — Vol. 55 (1). — P. 12–23. — DOI: 10.1016/j.rxeng.2011.12.002.
 29. Reliability of the rabbit postero-lateral spinal fusion model: A meta-analysis / A. M. Riordan, R. Rangarajan, J. W. Balts [et al.] // *Journal of Orthopaedic Research*. — 2013. — Vol. 31 (8). — P. 1261–1269. — DOI:10.1002/jor.22359.
 30. Williams A. L. CT evaluation of lumbar interbody fusion: current concepts / A. L. Williams, M. F. Gornet, J. K. Burkus // *American Journal of Neuroradiology*. — 2015. — Vol. 34 (8). — P. 2057–2066.
 31. Berquist T. H. Imaging of the postoperative spine / T. H. Berquist // *Radiologic Clinics of North America*. — 2006. — Vol. 44 (3). — P. 407–418.
 32. Imaging of spinal implants and radiologic assessment of fusion / P. M. Parizel, J. W. Van Goethem, L. van den Hauwe [et al.] // *Instrumented Fusion of the Degenerative Lumbar Spine: State of the Art, Questions, and Controversies* / ed. by M. Szpalski, R. Gunzburg, D. M. Spengler, A. Nachemson. — Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996. — P. 26–33.
 33. 1995 Volvo Award in basic sciences. The use of an osteoconductive growth factor for lumbar spinal fusion. Part I: Biology of spinal fusion / S. D. Boden, J. H. Schimandle, W. C. Hutton, M. I. Chen // *Spine*. — 1995. — Vol. 20 (24). — P. 2626–2632.
 34. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part V: Histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift / J. Choukroun, A. Diss, A. Simonpieri [et al.] // *Oral Surg. Oral Med. Oral Path. Oral Rad. Endodont.* — 2006. — Vol. 101 (3). — P. 299–303. — DOI: 10.1016/j.tripleo.2005.07.012.
 35. Platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin in human cell culture / V. L. Gassling, Y. Acil, I. N. Springer [et al.] // *Oral Surg. Oral Med. Oral Path. Oral Rad. Endodont.* — 2009. — Vol. 108 (1). — P. 48–55. — DOI: 10.1016/j.tripleo.2009.02.007.
 36. Antimicrobial activity of platelet-leukocyte gel against *Staphylococcus aureus* / D. J. Moojen, P. A. Everts, R. M. Schure [et al.] // *Journal of Orthopaedic Research*. — 2008. — Vol. 26 (3). — P. 404–410. — DOI: 10.1002/jor.20519.

Статья поступила в редакцию 20.08.2018

THE RESULTS OF EXPERIMENTAL LUMBAR POSTERIOR-LATERAL FUSION WITH PLATELET RICH FIBRIN

V. A. Radchenko, A. V. Palkin, V. A. Kolesnichenko, N. A. Ashukina, Z. N. Danishchuk

Sytenko Institute of Spine and Joint Pathology National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkiv

✉ Volodymyr Radchenko, MD, Prof. in Traumatology and Orthopaedics: volod56@ukr.net

✉ Alexandr Palkin: palkin110383@gmail.com

✉ Vera Kolesnichenko, MD in Traumatology and Orthopaedics: veakol@rambler.ru

✉ Nataliya Ashukina, PhD in Biol. Sci.: nataliya.ashukina@gmail.com

✉ Zinaida Danishchuk: Zinada1962@gmail.com