

На правах рукописи

Лазарев Владимир Анатольевич

**ОБОСНОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ОБОГАЩЕННОЙ
ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМЫ ДЛЯ ХОНДРОПЛАСТИКИ
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

3.1.8. Травматология и ортопедия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Самара, 2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

академик РАН,

доктор медицинских наук, профессор

Котельников Геннадий Петрович

Официальные оппоненты:

Маланин Дмитрий Александрович - доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии

Самодай Валерий Григорьевич - доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой травматологии и ортопедии

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Казань

Защита диссертации состоится «__» _____ 2022 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета 21.2.061.01 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (443079, г. Самара, пр. К. Маркса, 165 Б).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (443001, г. Самара, ул. Арцыбушевская, 171) и на сайте (<http://www.samsmu.ru/scientists/science/referats/>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «__» _____ 2022 г

Ученый секретарь диссертационного совета,

кандидат медицинских наук, доцент

Д.А. Долгушкин

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

По данным последнего крупного обзора “Large Database and Registry Research in Joint Arthroplasty and Orthopaedics», опубликованного в октябре 2022 года в «The Journal of Bone and Joint Surgery», проблема лечения пациентов с повреждениями и деструктивно-дистрофическими поражениями суставной поверхности остаётся актуальной. Социальная значимость помощи этим больным обусловлена не только высокой стоимостью конечной операции – эндопротезирования сустава, но и предшествующего ей консервативного лечения – внутрисуставных инъекций препаратов гиалуроновой кислоты, иных хондропротекторов, кортикостероидов, использования ортопедических фиксаторов и других подходов (Swiontkowski Marc F., Callaghan, John J. et al., 2022).

Помимо вышеперечисленных элементов консервативного лечения таких пациентов существует возможность использования собственных резервов организма – аутологичных факторов, обладающих противовоспалительным, иммуномодулирующим, регенеративным эффектом. К таким факторам, безусловно, можно отнести аутологичную обогащенную тромбоцитами плазму (А.Л. Емелин, И.Ф. Ахтямов, 2013; W. L. Dai, A. G. Zhou et. al., 2017). Использование обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП) в последнее десятилетие нашло широкое применение в отечественной травматологии и ортопедии. Помимо её внутрисуставного введения при лечении пациентов с остеоартрозом, аутоплазму применяют для лечения больных с тендинопатиями, грыжами межпозвонковых дисков и других патологиях (Д.А. Маланин с соавт., 2018; В.Г. Самодай с соавт., 2020; Migliorini F., Driessen A. et. al., 2021).

С развитием артроскопической малоинвазивной хирургии появилась возможность использования для замещения дефектов суставной поверхности различных биоматериалов (К.А.Егиазарян, Г.Д. Лазишвили, 2018; Krych A.J. et al., 2020). Представляет интерес изучение эффективности ОТП для непосредственной пластики дефектов суставной поверхности, а также возможность её применения в комбинации с известными материалами для хондропластики.

Степень разработанности темы исследования

При достаточно большом разнообразии клинических исследований подходы к получению ОТП, характеристике этого продукта, получаемых фракций, методикам

применения ОТП, и результаты лечения пациентов достаточно сильно разнятся (Giannini S., Cielo A. et. al., 2015; Alves R., Grimalt R. et. al., 2018).

Известно много как отечественных, так и зарубежных работ по использованию ОТП для внутрисуставных инъекций при лечении остеоартроза. В то же время публикаций, касающихся её интраоперационного применения не так много (М.А. Малыгина, Н.В. Боровкова, 2017; С.В. Рябинин, 2018; С.Г. Чесников с соавт, 2018; Bennell K., Hunter D., 2017; Filardo G., Previtalli D., 2021).

Доклинические исследования изучения эффективности ОТП для пластики дефектов суставной поверхности предполагают создание в эксперименте у животных моделей патологических процессов, в частности, повреждений и деструктивно-дистрофических процессов в суставах. Подобные модели известны, однако существуют определенные сложности – получение достаточного объема ОТП у животных, трудность прижизненной оценки у них эффективности восстановления суставной поверхности.

Разработка новых, совершенствование известных методов инструментальной диагностики в доклиническом исследовании способно решить эту проблему. Данная работа посвящена решению этих актуальных задач.

Цель работы

Оценить эффективность применения обогащенной тромбоцитами плазмы для хондропластики полнослойных дефектов суставной поверхности у кроликов в эксперименте.

Задачи исследования

1. Разработать методику получения обогащенной тромбоцитами плазмы у кроликов и применить её при выполнении хондропластики.
2. Предложить и апробировать в экспериментальном исследовании новый способ оценки качества новообразованных регенератов после хондропластики с помощью компьютерной томографии.
3. Оценить возможности применения рамановской спектроскопии комбинационного рассеяния для качественной оценки спектрального состава суставной поверхности у человека и животных в норме и при патологии.
4. Сравнить результаты монопластики костно-хрящевых дефектов деминерализованным костным материалом, обогащенной тромбоцитами плазмой и их

комбинацией с оценкой клинических, инструментальных и морфологических показателей у животных в динамике.

5. Оценить эффективность разных видов пластики костно-хрящевых дефектов суставной поверхности у кроликов в эксперименте с позиции доказательной медицины.

Научная новизна

Впервые предложен способ оценки качества новообразованных регенератов после хондропластики у кроликов при выполнении компьютерной томографии (Патент РФ на изобретение № 2727002 от 17.07.2020). Впервые разработано устройство для получения тромбоцитарных фракций крови для применения в клинической практике (Патент РФ на изобретение № 2736004 от 11.11.2020).

Применена рамановская спектроскопия комбинационного рассеяния для оценки спектральных характеристик суставной поверхности костей, резецированных при эндопротезировании коленного сустава у человека и после выполнения хондропластики в экспериментальном исследовании у животных.

Проанализирована эффективность монопластики костно-хрящевых дефектов деминерализованным костным материалом, обогащенной тромбоцитами плазмой и их комбинацией с оценкой клинических, инструментальных и морфологических показателей с позиции доказательной медицины.

Теоретическая и практическая значимость работы

Для выполнения экспериментальных доклинических исследований у животных предложен удобный, объективный способ оценки качества новообразованных регенератов после хондропластики с помощью компьютерной томографии, позволяющий оценить как общую плотность регенератов, так и дать характеристику новообразованной ткани на разных уровнях регенерата – гиалинового хряща, субхондральной кости. Рамановская спектроскопия комбинационного рассеяния позволяет проводить быстрый неинвазивный контроль состояния суставной поверхности человека и животных с достоверным выявлением локальных участков поражения гиалинового хряща с возможностью получения спектральных характеристик поверхности новообразованной ткани, замещающей дефекты. В доклиническом экспериментальном исследовании доказана эффективность и безопасность применения обогащенной тромбоцитами плазмы для замещения дефектов суставной поверхности

как в качестве мономатериала, так и в комбинации с аллогенным деминерализованным костным биоматериалом.

Методология и методы диссертационного исследования

Методология диссертационной работы построена на изучении и обобщении литературных данных по результатам применения в экспериментальных и клинических исследованиях в травматологии и ортопедии обогащенной тромбоцитами плазмы. Разработке дизайна экспериментального исследования, протокола получения и оценке эффективности применения ОТП при разных видах хондропластики, в том числе с применением оригинальных подходов к инструментальным методам исследования. Объектами работы стали 53 разнополых кролика породы «Шиншилла». В эксперименте использованы инструментальные, морфологические методы исследования. Статистическую обработку массива данных проводили с использованием программного обеспечения SPSS Statistics (IBM, США, лицензия №5725-A54) с последующей оценкой результатов на основе критериев доказательной медицины.

Положения, выносимые на защиту

1. Аутологичная обогащенная тромбоцитами плазма может быть применена для замещения полнослойных дефектов суставной поверхности как в качестве мономатериала, так и в комбинации с аллогенным деминерализованным костным биоматериалом.

2. Новый способ оценки эффективности хондропластики с помощью компьютерной томографии и рамановская спектроскопия комбинационного рассеяния могут быть использованы в динамике для качественной и количественной характеристики новообразованной ткани регенератов и скрининга состояния суставной поверхности.

3. Применение аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы и её комбинации с аллогенным костным биоматериалом для хондропластики приводит к сравнимым результатам – полноценному восполнению костно-хрящевых дефектов органотипичной тканью регенератов.

Степень достоверности исследования

Достоверность научных выводов и положений основана на достаточном по количеству доклиническом материале, современных методах исследования и

статистической обработке данных. Полученные результаты проанализированы с помощью традиционных методов описательной статистики с использованием вариационного, регрессионного, дисперсионного, системного многофакторного анализа с позиции доказательной медицины.

Апробация результатов исследования

Основные результаты исследования доложены и обсуждены на ежегодных научно-практических конференциях с международным участием «Аспирантские чтения – 2018», «Аспирантские чтения – 2019» (г. Самара), Всероссийской научно-практической конференции «Технологические инновации в травматологии, ортопедии и нейрохирургии. Интеграция науки и практики» (г. Саратов, 25-26 апреля 2019 г.), международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы регенеративной медицины: клеточные технологии, тканевая инженерия» (г. Самара, 20-21 мая 2021 г.).

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования используют при выполнении доклинических экспериментальных исследований у животных на базе Института экспериментальной медицины и биотехнологий ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России; в учебном процессе на кафедре травматологии, ортопедии и экстремальной хирургии имени академика РАН А.Ф. Краснова ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России.

Личный вклад автора

Диссертант участвовал в планировании дизайна экспериментального исследования, его проведении на всех этапах работы: отборе животных, их обследовании, выполнении оперативных вмешательств; динамическом наблюдении и сборе разнородных инструментальных и морфологических данных в послеоперационном периоде. Автор принимал участие в проведении статистической обработки данных, внедрении результатов диссертационного исследования в учебный процесс и доклинические исследования.

Связь темы диссертации с планом основных научно-исследовательской работы университета

Работа выполнена в рамках комплексной научно-исследовательской темы кафедры травматологии, ортопедии и экстремальной хирургии имени академика РАН А.Ф. Краснова ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России: «Диагностика и лечение

патологии опорно-двигательной системы, в том числе с использованием биофизических факторов и биотехнологий, а также персонифицированного подхода к пациенту» (регистрационный номер научно-исследовательской и опытно-конструкторской работы АААА-А19-119122590099-8, дата регистрации 25.12.2019).

Соответствие паспорту специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 3.1.8. Травматология и ортопедия: экспериментальная и клиническая разработка методов лечения заболеваний и повреждений опорно-двигательной системы и внедрение их в клиническую практику.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 23 научные работы, из них: 3 статьи – в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства науки и высшего образования РФ, 3 статьи – в журналах, индексируемых в библиографической базе данных SCOPUS, 2 патента РФ на изобретения.

Структура и объем диссертации

Работа изложена на 168 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, трех глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, который включает в себя 200 источников, в том числе 59 работ отечественных и 141 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 22 таблицами, 67 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Дизайн, объекты и методы исследования. Работа была выполнена на базе Института экспериментальной медицины и биотехнологий ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (куратор – с.н.с., доцент Д.А. Долгушкин).

53 разнополым кроликам породы «Шиншилла» массой 2,5-3кг, возрастом 6-7 месяцев формировали два костно-хрящевых дефекта надколенниковой поверхности бедренной кости, после чего выполняли заполнение дефектов пластическим материалом. Некоторым животным проводили операции на обеих задних конечностях – в таком случае интервал между оперативными вмешательствами составлял минимум один месяц. Кролики были разделены на три группы сравнения. Первую группу (I) сформировали 18

животных (22 сустава), которым выполняли пластику дефектов деминерализованным костным материалом (ДКМ), полученным из головок кроличьих бедренных костей по методике «Лиопласт»®. Вторую группу (II) составили 17 кроликов (22 сустава), костно-хрящевые дефекты которых заполняли аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмой (ОТП). В третью группу (III) вошли 18 животных (22 сустава), которым выполняли комбинированную пластику ОТП и ДКМ.

Для получения ОТП у кроликов нами был модифицирован способ получения данного продукта. Процедура была регламентирована стандартом операционной процедуры «СОП ИЭМБ-МОРФ 11» от 02.06.2017 года, составленным в.н.с. ИЭМБ СамГМУ к.м.н., Н.Н. Сарбаевой. Выполняли забор крови из ушной вены, охлаждали ее в холодильнике до 18°C. Центрифугировали в течение 8 минут с плавной регулировкой частоты вращения при 250g. Отбирали плазму в пробирку «Эппендорф», повторно центрифугировали в течение 10 минут при 700g. Собирали плазму в стерильную пробирку, ресуспендировали тромбоциты в 150 мкл плазмы, переливали во вторую чистую пробирку. Добавляли в обе пробирки по 6,6 мкл хлорида кальция. Собирали содержимое рабочей пробирки в инсулиновый шприц без иглы, оставляли на 3-4 минуты. Наблюдали за содержимым чистой пробирки. Как только в ней начинался процесс полимеризации, хирург осуществлял пластику дефектов ОТП с помощью рабочего шприца (Рисунок 1).

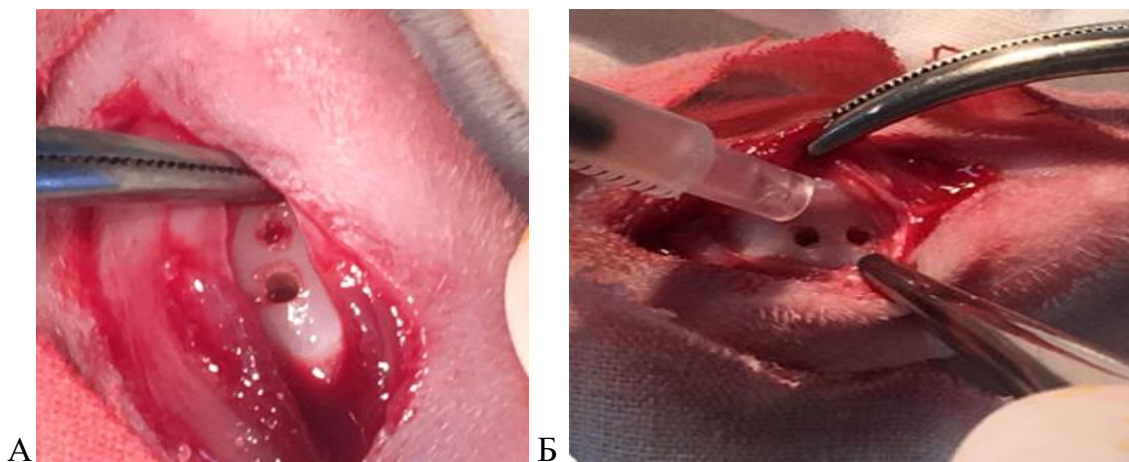


Рисунок 1 – Этапы операции: А – два сформированных костно-хрящевых дефекта надколенниковой поверхности бедренной кости; Б – пластика дефектов ОТП

Нами впервые предложено устройство для получения тромбоцитарных фракций крови (Патент РФ на изобретение № 2736004 от 11.11.2020), которое включает в себя два шприца с цилиндрическими корпусами разного диаметра (Рисунок 2).

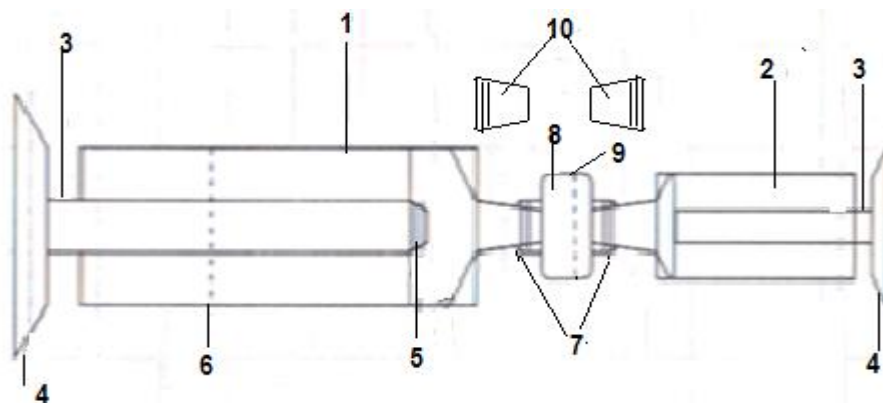


Рисунок 2 – Схема предложенного устройства для получения тромбоцитарных фракций

Первый шприц 1 и второй шприц 2 содержат поршни со штоками 3, имеющими основания 4. При этом шток 3 поршня первого шприца 1 соединен с ним резьбовым соединением 5. На корпус первого шприца 1 нанесена круговая метка 6. Дистальные концы шприцев 1 и 2 имеют внешние резьбовые соединения 7, соответствующие внутренним резьбовым соединениям цилиндрического прозрачного переходника 8 между ними. На внешнюю поверхность переходника 8 нанесена круговая метка 9. Внешние резьбовые соединения 7 дистальных концов шприцев 1 и 2 также соответствуют внутренним резьбовым соединениям их колпачков 10. Круговые метки на корпусе первого шприца и переходника позволяют контролировать уровни движения поршня при заборе цельной крови и перемещении полученных фракций во второй шприц. Это облегчает работу врача, уменьшает излишние перемещения биоматериала. Резьбовое соединение штока и поршня первого шприца позволяет осуществлять забор цельной крови и, после откручивания штока, центрифугирование в нём же. Кроме того, откручивание штока поршня дает возможность удобно размещать первый шприц в ложементе центрифуг. Устройство позволяет получать фракции в закрытом цикле, что дает возможность применять его как в операционной, так и в амбулаторных условиях.

В динамике до, через 2 недели, 1 месяц и 3 месяца после операции кроликам выполняли клинический осмотр по шкале оценки структурно-функционального состояния задней конечности (Д.А. Долгушкин с соавт., 2011). Инструментальные методы исследования кроликов включали термографию (термограф ИРТИС 2000 М, Россия), рентгенографию коленных суставов (аппарат PHILIPS med 10 50 ср, Германия) с балльной оценкой рентгенологических признаков деструктивно-дистрофических изменений по С.П.Миронову с соавторами.

Компьютерную томографию (КТ) коленных суставов животных выполняли на аппарате Toshiba Aquilion 32, Япония. Нами разработан новый способ оценки качества новообразованных регенератов после хондропластики у кроликов (Патент РФ на изобретение № 2727002 от 17.07.2020), который позволял рассчитывать средние значения плотности новообразованной ткани регенератов в целом и на разных уровнях – от субхондральной кости до поверхности интактного гиалинового хряща.

В динамике животным выполняли КТ коленных суставов задних конечностей, получая тонкие срезы до 0,5 мм с перекрытием и получением двух серий изображений с высоким и низким кернелем для оценки костных и мягкотканых структур. Осуществляли построение 3D модели области коленного сустава. Проводили виртуальную резекцию надколенника в режиме Volume rendering, получая обзор суставной надколенниковой поверхности бедренной кости (Рисунок 3А). В костном окне переформатировали стандартные плоскости, чтобы заполненные регенератами дефекты располагались параллельно косоаксиальной и перпендикулярно косокорональной плоскости

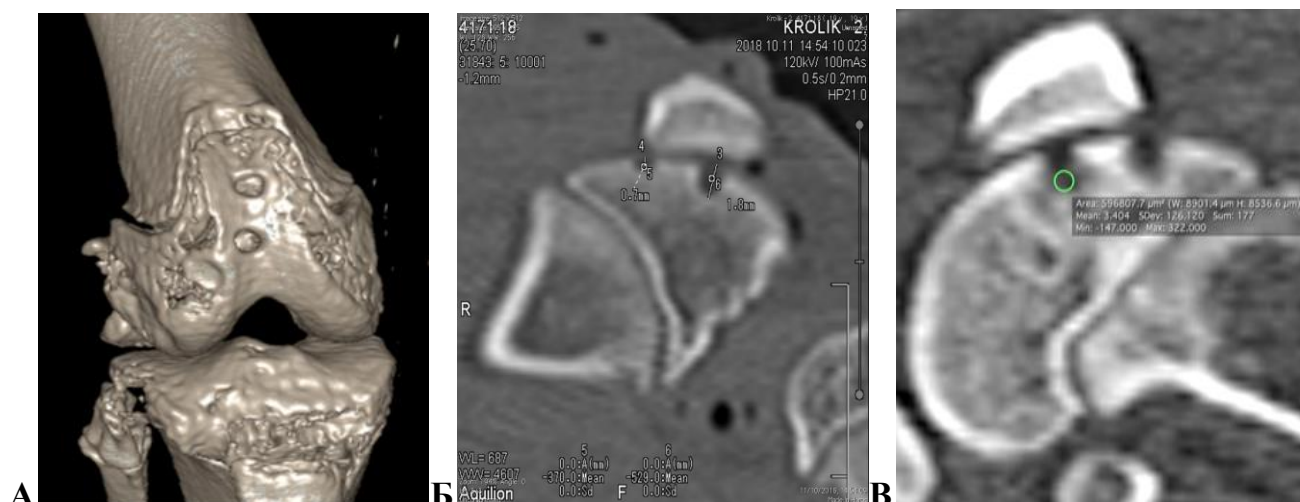


Рисунок 3 – КТ коленных суставов кроликов: А - 3D модель области сустава с виртуальной резекцией надколенника в режиме Volume rendering – визуализируются два дефекта надколенниковой поверхности бедренной кости, частично заполненные пластическим материалом; Б – измерение глубины дефектов; В – выделение геометрическими фигурами зон интереса для подсчета средней плотности новообразованной ткани.

В косоаксиальной плоскости анализировали уровень заполнения дефектов регенератами и их качество - подсчитывали среднюю плотность новообразованной ткани в единицах Хаунсфилда (HU), выделяя зоны интереса фигурами на разных уровнях регенерата и анализируя плотность ткани, заполняющей дефект в целом (Рисунок 3 Б,В).

Для оценки спектрального состава суставной поверхности у человека и животных в норме и при патологии нами была применена рамановская спектроскопии комбинационного рассеяния. Исследовали образцы суставных поверхностей, удаленные у людей при операции эндопротезирования коленного сустава и аутопсийный материал кроликов на базе кафедры лазерных и биотехнических систем Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королева под руководством к. ф-м. н, доцентов Е.В. Тимченко и П.С. Тимченко. Рамановский пробник фокусировал лазерное излучение от модуля LuxxMaster LML-785.0RB-04 на объекте (диаметр пятна 0.2 мм на расстоянии 7.5 мм от выходного окна тубуса), собирал рассеянное излучение и фокусировал отфильтрованное в спектральном диапазоне 790-1200 нм на входной торцевой приёмного оптоволоконного кабеля, по которому транспортировался до входной щели спектрометра Shamrock sr-303i 3 со встроенной охлаждаемой камерой DV420A-OE. Для уменьшения уровня шумов, матрицу камеры охлаждали до -60°C , обеспечивая спектральное разрешение 0.15 нм ($\sim 1 \text{ см}^{-1}$). Обработку спектров проводили в среде Wolfram Mathematica 10.

После выведения животных из эксперимента выполняли аутопсию коленных суставов, оценивали макроскопическую картину по балльной шкале S. O' Driscoll et al. Для изготовления микроскопических препаратов декальцинацию тканей проводили трилоном Б, препараты отмывали в 96° спирте, заливали парафином. Изготавливали серийные срезы толщиной 5 - 8 микрон. Препараты окрашивали крезильным фиолетовым, гематоксилином и эозином. Оценку качества новообразованных регенератов выполняли с помощью морфологической шкалы оценки заживления поврежденного суставного гиалинового хряща (Д.А. Маланин с соавт., 2004). Статистическую обработку полученного массива разнородных данных проводили с использованием программного обеспечения SPSS Statistics (IBM, США, лицензия №5725-A54) с последующей оценкой результатов на основе позиций доказательной медицины (Г.П. Котельников, А.С. Шпигель, 2012).

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Применение спектроскопии комбинационного рассеяния (СКР) для оценки спектральных характеристик суставной поверхности человека и животных

При исследовании образцов суставной поверхности, полученных после операций эндопротезирования коленного сустава, было установлено, что при деструкции гиалинового хряща в зоне его повреждения происходит усиление пиков на волновых числах 431 см^{-1} (PO_4^{3-} (ν_2) холестерин, эфиры холестерина), 956 см^{-1} (PO_4^{3-} (ν_1) (P-O

симметричное валентное)), 1065 см^{-1} (CO_3^{2-} , (C-O плоскостное валентное), 1745 см^{-1} ($\nu(\text{C}=\text{O})$ липиды) и ослабление интенсивности пиков на волновых числах 1562 см^{-1} (амид II), 1658 см^{-1} (амид I), при этом исчезает линия на 1244 см^{-1} (амид III) –Рисунок 4.

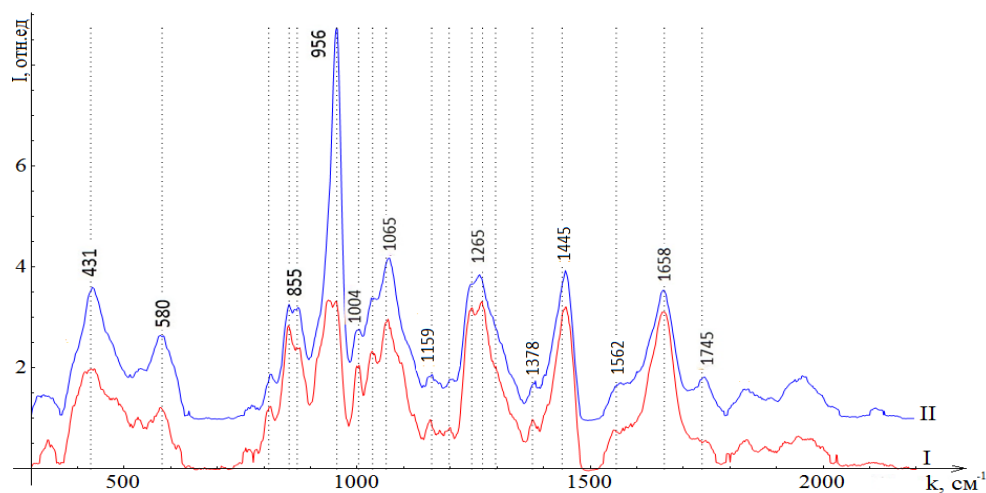


Рисунок 4. – Усредненные рамановские спектры I –зона неповреждённого гиалинового хряща, II- зона полнослойного дефекта.

При исследовании макропрепаратов коленных суставов кроликов после хондропластики было выявлено, что через 2 недели и 1 месяц после пластики поверхность зон замещения дефекта ОТП по своим спектральным характеристикам не приближались к аналогичным характеристикам пограничных зон и интактного хряща, и характеризовалась снижением интенсивностей 956 см^{-1} ($\nu_1 \text{ PO}_4^{3-}$), 1002 см^{-1} ($\nu(\text{C}-\text{C})$ фенилаланин), 1069 см^{-1} ((s) симметричное растяжение CO_3^{2-}). К 3 месяцу спектральные характеристики зон пластики уже приближались к таковым пограничным зонам и были сравнимы с параметрами поверхности интактного хряща. Это свидетельствовало об эффективной регенерации ткани после пластики дефектов ОТП. Таким образом, СКР может быть применена в качестве предварительного скринингового метода для оценки качества восстановления суставной поверхности после хондропластики при аутопсии биоматериалов у человека и животных до микроскопического исследования.

Сравнительные результаты хондропластики в динамике в группах животных

Сравнительные результаты обследования групп кроликов на сроке 2 недели после хондропластики представлены в Таблице 1. Уже на этом сроке обнаруживали статистически значимые отличия между результатами у животных групп сравнения. В первую очередь, это касалось сравнения групп с пластикой ОТП, комбинацией ОТП и

деминерализованного костного материала (ДМК) с первой группой животных, которым выполняли монопластику дефектов ДМК. В этой группе встречались достаточно длительные реактивные процессы в области выполнения операции, сопровождающиеся болезненностью, ограничением движения сустава, пастозностью мягких тканей и даже синовитом, при котором приходилось осуществлять пункцию сустава. Всё это не могло не сказаться на средних суммарных результатах клинической оценки состояния коленного сустава $20,3 \pm 0,1$ балла против $22,8 \pm 0,1$ в группе с монопластикой ОТП ($p < 0,001$) и $22,1 \pm 0,1$ балла в группе с комбинированной пластикой. Аналогичную закономерность прослеживали и при анализе данных термометрии.

Таблица 1 - Сравнительные результаты обследования животных с разными видами пластики костно-хрящевых дефектов через 2 недели после операции

Показатель, среднее значение	Норма	2 недели после операции					
		Группы животных			Статистическая значимость отличия групп		
		ДМК	ОТП	ОТП+ДМК	pI-II	pI-III	pII-III
Сумма баллов, клиническая оценка	24	$20,3 \pm 0,1$	$22,8 \pm 0,1$	$22,1 \pm 0,1$	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$
Т области сустава, °C		$34,56 \pm 0,05$	$32,88 \pm 0,04$	$33,87 \pm 0,01$	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$
Сумма баллов, рентгенолог. шкала	15	15 ± 0	15 ± 0	15 ± 0	1,000	1,000	1,000
Плотность ткани всей S регенерата, HU		$26 \pm 2,2$	$-168 \pm 3,3$	$45 \pm 0,3$	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$
Сумма баллов, макроскопич. оценка	10	$1,7 \pm 0,2$	$3,5 \pm 0,1$	$3,7 \pm 0,1$	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$
Сумма баллов, морфолог. шкала	100	$25 \pm 0,1$	$38,9 \pm 0,1$	$41 \pm 0,3$	$<0,001$	$<0,001$	$<0,001$

При оценке рентгенологических признаков на этом сроке значимых отличий между группами не наблюдали – так как в суставах животных еще не развивались деструктивно-дистрофические процессы. Средние значения плотности ткани всей площади регенерата, определенные с помощью КТ, достоверно отличались во всех трех группах. $26 \pm 2,2$ HU в группе животных с монопластикой ДМК против $45 \pm 0,3$ HU ($p < 0,001$) в группе кроликов с комбинированной пластикой были обусловлены низкой

скоростью резорбции костного материала при его совместном применении с ОТП и активной остеобластической реакцией в глубоких слоях дефекта.

Результаты оценки макроскопической картины коленных суставов по S. O' Driscoll et al во многом коррелировали с клинической оценкой состояния конечности. Достоверные различия средних сумм баллов по данной шкале в группе с монопластикой ДКМ $1,7 \pm 0,2$ балла по сравнению с двумя другими $3,5 \pm 0,1$ балла пластика ОТП ($p < 0,001$) и $3,7 \pm 0,1$ балла комбинированная пластика ($p < 0,001$) были обусловлены снижением функции коленного сустава у кроликов этой группы, случаями синовита и длительного реактивного воспаления в послеоперационном периоде.

Средние суммарные результаты оценки показателей морфологической шкалы заживления поврежденного суставного гиалинового хряща по Д.А. Маланину с соавторами в группах животных также значительно отличались. $25 \pm 0,1$ баллов в группе кроликов с монопластикой дефектов ДКМ, $38,9 \pm 0,1$ балла ($p < 0,001$) с монопластикой дефектов ОТП и $41 \pm 0,3$ ($p < 0,001$) балла в группе животных с комбинированной пластикой. В целом низкие показатели во всех трех группах были связаны с незрелостью регенерата, его рыхлой связью с подлежащим материнским ложем дефекта, диастазом между ними, только начинающимися процессами новообразования костной ткани в глубоких слоях дефекта.

Сравнительные результаты обследования групп животных на сроке 1 месяц после хондропластики представлены в Таблице 2. Следует отметить, что через 1 месяц по результатам клинической оценки состояния конечностей животные трех групп сравнения практически не отличались между собой. К этому времени у кроликов с монопластикой ДКМ купировались реактивные процессы в области сустава, не отмечали синовитов. Соответственно, у них восстанавливалась функция – исчезали болезненность при движении и ограничение объема движений в суставах. Поэтому по данному показателю на этом сроке статистически значимых результатов между группами не выявили. При этом термографическое исследование все же обнаружило значимое повышение температуры области коленного сустава у животных с пластикой дефектов ДКМ $32,33 \pm 0,03$ °C ($p < 0,001$). Это было связано с высокой чувствительностью метода. Хотя на функции суставов в этой группе это клинически никак не отражалось.

Таблица 2 - Сравнительные результаты обследования животных с разными видами пластики костно-хрящевых дефектов через 1 месяц после операции

Показатель, среднее значение	Норма	1 месяц после операции					
		Группы животных			Статистическая значимость отличия групп		
		ДКМ	ОТП	ОТП+ДКМ	pI-II	pI-III	pII-III
Сумма баллов, клиническая оценка	24	23,2±0,3	23,2±0,1	23,2±0,1	1,000	1,000	1,000
Т области сустава, °C		32,33±0,03	31,32±0,01	31,02±0,03	<0,001	<0,001	<0,001
Сумма баллов, рентгенолог. шкала	15	13,4±0,2	14,9±0,1	14,7±0,2	<0,001	<0,001	0,006
Плотность ткани всей S регенерата, НУ		83± 4,6	68 ± 7,6	111± 0,3	<0,001	<0,001	<0,001
Сумма баллов, макроскоп. оценка	10	3,3±0,2	6,4±0,1	6,3±0,1	<0,001	<0,001	<0,001
Сумма баллов, морфолог. шкала	100	52,3±0,8	67,2±0,4	66,1±6,8	<0,001	<0,001	<0,001

При оценке рентгенологических признаков на этом сроке значимых отличий между группами с монопластикой ОТП и комбинированной пластикой не наблюдали – 14,9±0,1 баллов и 14,7±0,2 баллов соответственно ($p=0,006$). Деструктивно-дистрофических процессов в этих группах животных не отмечали. В то же время в группе кроликов с монопластикой дефектов ДКМ показатель 13,4±0,2 баллов статистически значимо отличался от показателей в вышеперечисленных группах ($p<0,001$). Это было связано с постепенным развитием в суставах животных этой группы деструктивно-дистрофических процессов, хотя они ещё не сказывались на функции суставов. Средние значения плотности ткани всей площади регенерата, приобретали во всех группах положительные значения, но достоверно отличались друг от друга ($p<0,001$). Показатель оставался самым высоким в группе с комбинированной пластикой 111± 0,3 НУ, что было обусловлено постепенным выравниванием в этой группе скорости резорбции костного материала и новообразования костной ткани на уровне субхондральной кости и по краям дефекта. Стоит отметить скачок в ускорении процессов новообразования костной ткани в нижних отделах дефектов в группе животных с монопластикой ОТП (68 ± 7,6 НУ) по сравнению с предыдущим сроком.

Результаты оценки макроскопической картины коленных суставов по S. O' Driscoll et al в этот раз отличались от клинической оценки состояния конечности, в первую очередь, в группе с монопластикой дефектов ДКМ. Это было связано с тем, что на этом сроке уже отмечали развитие деструктивно-дистрофических изменений в суставе в виде изменения цвета и прозрачности хряща, разрастании жировой ткани в суставе. В группе с монопластикой ДКМ средний показатель составил лишь $3,3 \pm 0,2$ балла против $6,4 \pm 0,1$ баллов и $6,3 \pm 0,1$ баллов в группах с монопластикой ОТП и комбинированной пластикой соответственно ($p < 0,001$). Однако стоит отметить, что во второй и третьей группах на этом сроке показатели макроскопической картины так не приближались к нормальным значениям. Средние суммарные результаты оценки показателей морфологической шкалы заживления поврежденного суставного гиалинового хряща в группах животных с монопластикой ОТП и комбинированной пластикой значительно отличались ($p < 0,001$). В первую очередь, из-за неоднородности регенератов в группе с комбинированной пластикой – сохранении в их центральных частях фрагментов костного материала, изменении поверхностных зон новообразованного регенерата. Относительно группы животных с монопластикой ДКМ ($52,3 \pm 0,8$ балла), что соответствовало 50% от нормальных показателей, вторая и третья группы кроликов имели статистически значимые отличия ($p < 0,001$).

Сравнительные результаты обследования групп животных на сроке 3 месяца после хондропластики представлены в Таблице 3. Обращает на себя внимание полная нормализация структурно-функционального состояния конечностей в группе с монопластикой ОТП и с комбинированной пластикой – показатели оценки у них достигали нормы (24 балла). При этом они значительно отличались от результатов в группе с монопластикой ДКМ ($23,8 \pm 0,1$ балла), $p < 0,001$. Несмотря на высокие показатели, в этой группе животных уже на клиническом уровне начинали себя проявлять развивающиеся деструктивно-дистрофические процессы в коленных суставах.

Стоит отметить статистически значимые преимущества результатов, полученных в группе животных с монопластикой дефектов ОТП по сравнению с группой кроликов, которым выполняли комбинированную пластику. Это касалось как средних значений сумм баллов рентгенологических признаков (15 ± 0 баллов против $14,8 \pm 0,1$ баллов, $p < 0,001$, так и результатов оценки макроскопической картины коленных суставов по S. O' Driscoll et al ($7,8 \pm 0,1$ баллов против $7,5 \pm 0,1$ баллов, $p < 0,001$. По этим показателям

результаты группы с монопластикой дефектов ОТП превосходила результаты у животных с комбинированной пластикой дефектов.

Таблица 3 - Сравнительные результаты обследования животных с разными видами пластики костно-хрящевых дефектов через 3 месяца после операции

Показатель, среднее значение	Норма	3 месяца после операции					
		Группы животных			Статистическая значимость отличия групп		
		ДКМ	ОТП	ОТП+ДКМ	pI-II	pI-III	pII-III
Сумма баллов, клиническая оценка	24	23,8±0,1	24±0	24±0	<0,001	<0,001	1,000
Т области сустава, °C		30,64±0,02	30,12±0,02	30,35±0,02	<0,001	<0,001	1,000
Сумма баллов, рентгенолог. шкала	15	11,2±0,1	15±0	14,8±0,1	<0,001	<0,001	<0,001
Плотность ткани всей S регенерата, HU		501± 4,6	383 ± 7,6	375± 0,3	<0,001	<0,001	<0,001
Сумма баллов, макроскоп. оценка	10	4,1±0,1	7,8±0,1	7,5±0,1	<0,001	<0,001	<0,001
Сумма баллов, морфолог. шкала	100	72,9±0,2	88,7±0,2	87,6±8,2	<0,001	<0,001	1,000

Наблюдали статистически значимые высокие значения средней плотности ткани новообразованного регенерата в группе животных с монопластикой костным биоматериалом $501 \pm 4,6$ HU, против $383 \pm 7,6$ HU во второй и $375 \pm 0,3$ HU в третьей группах. Это связано с образованием на месте дефектов в первой группе животных костно-фиброзных регенератов, даже на уровне интактного суставного гиалинового хряща. Средние суммарные результаты оценки показателей морфологической шкалы заживления поврежденного суставного гиалинового хряща в группах животных с монопластикой ОТП и комбинированной пластикой значимо не отличались $88,7 \pm 0,2$ баллов и $87,6 \pm 8,2$ баллов соответственно, $p = 1,000$. При этом полученные значения в обеих группах не достигали нормы в 100 баллов.

Для подсчёта показателей доказательной медицины на сроке в 3 месяца после операции были определены критерии благоприятных и неблагоприятных исходов. За благоприятный исход принимали: полное восстановление функции сустава по

оценочной шкале; отсутствие гипертермической реакции при выполнении термографии и рентгенологических признаков деструктивно-дистрофических процессов, соответствие не менее 80% результатов оценки макроскопической картины коленных суставов по S. O' Driscoll et al и не менее 80% результатов по морфологической шкале заживления поврежденного суставного гиалинового хряща нормальным значениям. За неблагоприятный исход к 3 месяцу принимали: выявление нарушений функции коленного сустава по оценочной шкале; наличие гипертермической реакции в области коленного сустава при выполнении термографии, наличие рентгенологических признаков развития деструктивно-дистрофических процессов, соответствие менее 80% результатов оценки макроскопической картины коленных суставов по S. O' Driscoll et al и менее 80% результатов по морфологической шкале заживления поврежденного суставного гиалинового хряща нормальным значениям.

В первой группе с пластикой дефектов ДКМ было получено 27,2% благоприятных и 72,8% неблагоприятных исходов, во второй с пластикой ОТП 86,4% и 13,6%, в третьей группе с комбинированной пластикой 81,8% и 18,2% соответственно. Проведена оценка и доказана эффективность комбинированной пластики костно-хрящевых дефектов по сравнению с монопластикой костным материалом (Таблица 4). Доказана эффективность монопластики костно-хрящевых дефектов обогащенной тромбоцитами плазмой по сравнению с монопластикой костным материалом (Таблица 5).

Таблица 4 - Оценка эффективности комбинированной пластики костно-хрящевых дефектов по сравнению с монопластикой костным материалом

ЧИЛ, %	ЧИК, %	СОР, %	САР, %	ЧБНЛ	ОШ	χ^2	p
18,2 (7,3-38,5)	72,7 (51,8-86,8)	75 (37-90,1)	54,5 (25,4-72,4)	2 (1-4)	0,08 (0,02-0,35)	11,1	<0,001

Таблица 5 - Оценка эффективности монопластики дефектов обогащенной тромбоцитами плазмой по сравнению с монопластикой костным материалом

ЧИЛ, %	ЧИК, %	СОР, %	САР, %	ЧБНЛ	ОШ	χ^2	p
13,6 (4,7-33,3)	72,7 (51,8-86,8)	81,3 (44,6-93,7)	59,1 (30,4-75,8)	2 (1-3)	0,06 (0,01-0,28)	13,3	<0,001

Выполнена оценка эффективности монопластики костно-хрящевых дефектов ОТП по сравнению с комбинированной пластикой (Таблица 6). Установлено, что различия между результатами хондропластики в этих группах статистически недостоверны.

Таблица 6 - Оценка эффективности монопластики костно-хрящевых дефектов обогащенной тромбоцитами плазмой по сравнению с комбинированной пластикой

ЧИЛ, %	ЧИК, %	СОР, %	САР, %	ЧБНЛ	ОШ	p
13,6 (4,7-33,3)	18,2 (7,3-38,5)	25 (-197,2 – 81,1)	4,5 (-18-26,7)	22 (1-3)	0,71 (0,14-3,63)	1,000

Таким образом, применение обогащенной тромбоцитами аутоплазмы для пластики костно-хрящевых дефектов в данном экспериментальном исследовании показало свою эффективность. Оно превосходило по функциональным, макроскопическим и морфологическим показателям результаты группы животных с монопластикой дефектов костным деминерализованным материалом на всех сроках наблюдения и было сравнимо с результатами комбинированной хондропластики.

ВЫВОДЫ

1. Модифицирована методика получения обогащенной тромбоцитами плазмы в доклиническом экспериментальном исследовании у кроликов, что позволило получить и использовать данный продукт для выполнения монопластики и комбинированной пластики костно-хрящевых дефектов совместно с костным деминерализованным материалом.
2. Разработан и применен новый способ оценки качества новообразованной ткани после хондропластики при выполнении компьютерной томографии, который позволил дать качественную и количественную характеристику регенератов с определением их общей средней плотности и оценкой этого показателя на разных уровнях новообразованной ткани.
3. Спектроскопия комбинационного рассеяния позволяет проводить быстрый неинвазивный контроль состояния суставной поверхности образцов с достоверным выявлением локальных участков поражения гиалинового хряща, о чем свидетельствует усиление пиков на волновых числах 431 см^{-1} (PO_4^{3-} (ν_2) холестерин, эфиры холестерина), 956 см^{-1} (PO_4^{3-} (ν_1) (P-O симметричное валентное)), 1065 см^{-1} (CO_3^{2-} , (C-O плоскостное валентное), 1745 см^{-1} ($\nu(\text{C}=\text{O})$ липиды) и ослабление интенсивности пиков на волновых числах 1562 см^{-1} (амид II), 1658 см^{-1} (амид I).

4. Получены статистически значимые преимущества монопластики костно-хрящевых дефектов обогащенной тромбоцитами плазмой по сравнению с использованием её комбинации с костным материалом через 3 месяца после операции - по средним значениям сумм баллов рентгенологических признаков (15 баллов против $14,8 \pm 0,1$ баллов, $p < 0,001$), по результатам оценки макроскопической картины коленных суставов по шкале S. O' Driscoll et al ($7,8 \pm 0,1$ баллов против $7,5 \pm 0,1$ баллов, $p < 0,001$), по значениям средней плотности ткани регенерата ($383 \pm 7,6$ HU против $375 \pm 0,3$ HU, $p < 0,001$) соответственно.

5. Доказана эффективность монопластики костно-хрящевых дефектов обогащенной тромбоцитами плазмой и комбинированной пластики по сравнению с монопластикой дефектов костным материалом через 3 месяца после операции (ОШ 0,06 (0,01-0,28), $\chi^2=13,3$, $p < 0,001$ и ОШ 0,08 (0,02-0,35), $\chi^2=11,1$, $p < 0,001$ соответственно. При этом различия результатов этих двух эффективных видов пластики между собой статистически недостоверны (ОШ 0,71 (0,14-3,63), $p=1,000$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для получения обогащенной тромбоцитами плазмы у кроликов целесообразно использовать стандарт операционной процедуры «СОП ИЭМБ-МОРФ 11» от 2.06.2017.
2. В качестве прижизненной оценки качественных и количественных характеристик новообразованных регенератов после хондропластики целесообразно использовать разработанный способ компьютерной томографии с подсчетом значений средней плотности ткани регенератов в целом и на их разных уровнях – от субхондральной кости до гиалинового хряща.
3. Для получения спектральной характеристики суставной поверхности, предварительного анализа эффективности хондропластики, выявления деструктивно-дистрофических процессов при аутопсии можно применять физический оптический метод – спектроскопию комбинационного рассеяния как у животных, так и у людей.
4. Для одновременного получения разных тромбоцитарных фракций крови и обеспечения возможности лечения пациентов, как в условиях операционной, так и в амбулаторном кабинете целесообразно применять разработанное устройство для получения плазмы, обогащенной тромбоцитами.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Персонализация в применении обогащенной тромбоцитами плазмы, других аутологичных факторов, обладающих противовоспалительным, иммуномодулирующим, регенеративным эффектом путём определения их индивидуального состава, дозирования, кратности и способа применения у пациентов является перспективным направлением современной травматологии, ортопедии и регенеративной медицины в целом.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Котельников, Г.П. Замещение костного дефекта при новообразованиях метаэпифизарной зоны большеберцовой кости (Клинический случай) [текст] / Котельников Г.П., Иванов В.В., Николаенко А.Н., Дороганов С.О., Лазарев В.А., Родионова В.А. // **Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. -2017.- №4 (200). – С. 19-24.**
2. Тюмченкова А.С. Исследование возрастных изменений поверхности суставного гиалинового хряща с помощью спектроскопии комбинационного рассеяния [текст] / А.С. Тюмченкова, М.Д. Маркова, В.А. Лазарев, Л.Т. Волова, Д.А. Долгушкин, П.Е. Тимченко, Е.В. Тимченко // **Международная молодежная научная конференция «XIV Королевские чтения», посвященная 110-летию со дня рождения академика С. П. Королева, 75-летию КуАИ-СГАУ-СамГУ-Самарского университета и 60-летию со дня запуска первого искусственного спутника Земли. Т. 2 - Самара, 2017. – С. 174.**
3. **Timchenko E.V. Research studies of aging changes of hyaline cartilage surface using raman – scattering spectroscopy / E.V. Timchenko, P.E. Timchenko, A.S. Tyumchenkova, M.D. Markova, D.A. Dolgushkin, L.T. Volova, V.A. Lazarev // Proceedings of SPIE – the international society for optical engineering, 2017. – P. 1038013.**
4. Лазарев В.А. Опыт применения обогащенной тромбоцитами плазмы при хондропластике посттравматических дефектов суставной поверхности в эксперименте у кроликов [текст] / В.А. Лазарев // **Аспирантские чтения – 2018. Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Исследования молодых ученых в решении актуальных проблем медицинской науки и практики» – Самара, 2018. – С. 15-16.**
5. Timchenko E.V. Optical analysis of synovial fluid of patients with knee joint osteoarthritis / E.V. Timchenko, P.E. Timchenko, E.F. Yagofarova, M.D. Markova, L.T. Volova, D.A. Dolgushkin, V.A. Lazarev // **Optical Memory & Neural Networks, V. 27. - № 4. - 2018. — P. 292 – 296.**
6. Timchenko E.V. Optical method for evaluation of articular surface after chondroplasty in rabbits / E.V. Timchenko, P.E. Timchenko, M.D. Markova, G.P. Tikhomirova, L.T. Volova, D.A. Dolgushkin, V.A. Lazarev // **2018 IEEE International Conference on Electrical Engineering and Photonics EExPolytech 2018. – St. Petersburg, 2018. – P. 285 - 287.**
7. Долгушкин Д.А. Новый способ оценки качества новообразованных регенератов после хондропластики обогащенной тромбоцитами аутоплазмой (экспериментальное исследование) [текст] / Д.А. Долгушкин, В.А. Лазарев, Н.Н. Сарбаева, П.М. Зельтер // **Материалы IV нацио-**

нального конгресса по регенеративной медицине. – Гены и Клетки. Т.14. – №5. – Москва, 2019. – С 79 - 80.

8. Маркова М.Д. Экспериментальные исследования поверхности регенератов после выполнения хондропластики с помощью метода спектроскопии комбинационного рассеяния [текст] / М. Д. Маркова, В. А. Лазарев, Л. Т. Волова, А. В. Ломкина, Д. А. Долгушкин, Е. В. Тимченко, П. Е. Тимченко // Материалы международной молодежной научной конференции «XV Королевские чтения», посвященной 100-летию со дня рождения Д. И. Козлова. – Самара, 2019. - Т. 2. - С. 618-619.

9. Тимченко Е.В. Оптическая оценка качества восстановления суставной поверхности коленного сустава кроликов после хондропластики [текст]. Е.В. Тимченко, П.Е. Тимченко, Д.А. Долгушкин, Л.Т. Волова, В.А. Лазарев, М.Д. Маркова, Г.П. Тихомирова, А.В. Ломкина // Материалы VIII международной конференции по фотонике и информационной оптике. Москва, 2019. – С 567 - 568.

10. Маркова М.Д. Спектральный анализ поверхностей новообразованных регенератов после выполнения хондропластики обогащенной тромбоцитарной плазмой [текст] / М.Д. Маркова, В.А. Лазарев // Аспирантские чтения – 2019. Материалы Всероссийской научно - практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию Самарского государственного медицинского университета.– Самара, 2019. – С. 374 - 377.

11. Лазарев В.А. Оценка эффективности хондропластики в эксперименте у кроликов с помощью компьютерной томографии [текст] / В.А. Лазарев // Аспирантские чтения – 2019. Материалы Всероссийской научно - практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию Самарского государственного медицинского университета.– Самара, 2019. – С. 31 – 33.

12. Timchenko E.V. Spectral analysis of surfaces of newly formed regenerative tissues after chondroplasty with plated-rich plasma. /E.V. Timchenko, P.E. Timchenko, M.D. Markova, E.F. Yagofarova, A.V. Lomkina, D.A. Dolgushkin, A.K. Povelihin, L.T. Volova, V.A. Lazarev // Proceedings of the 2019 IEEE International Conference on Electrical Engineering and Photonics EExPolytech 2019. – P. 301 - 304.

13. Timchenko E.V. Application of Raman spectroscopy to assess the articular surface after performing chondroplasty in rabbits / E.V. Timchenko, P.E. Timchenko, M.D. Markova, A.V. Lomkina, A.S. Tumchenkova, G.P. Tihomirova, D.A. Dolgushkin, L.T. Volova, V.A. Lazarev, A.K. Povelihin // Journal of Physics: Conference Series, 2019. – P. 066033.

14. Котельников Г.П. Опыт применения обогащенной тромбоцитами плазмы при хондропластике дефектов суставной поверхности бедренной кости в эксперименте у кроликов [текст] / Г.П. Котельников, Д.А. Долгушкин, В.А. Лазарев, Н.Н. Сарбаева, К.М. Богданов // Материалы всероссийской научно-практической конференции «Технологические инновации в травматологии, ортопедии и нейрохирургии: интеграция науки и практики. – Саратов, 2019. – С. 158 - 160.

15. Долгушкин Д.А. Опыт применения обогащенной тромбоцитами аутологичной плазмы при хондропластике в эксперименте у кроликов [текст] / Д.А. Долгушкин, В.А. Лазарев, Н.Н. Сарбаева, Л.Т. Волова // Материалы IV национального конгресса по регенеративной медицине. – Гены и Клетки. Т.14. – №5. – Москва, 2019. – С. 80.

16. Котельников Г.П. Проблемы классификации продуктов на основе обогащенной тромбоцитами плазмы, применяемых в травматологии и ортопедии (обзор литературы) [текст] / Г.П. Котельников, Д.А. Долгушкин, В.А. Лазарев, А.Н. Братийчук, К.М. Богданов // Аспирантский вестник Поволжья. – 2020. – № 5 - 6. – С. 106-113.

17. Тимченко Е.В. Применение метода спектроскопии комбинационного рассеяния для оценки суставной поверхности после выполнения хондропластики у кроликов [текст] / Е.В. Тимченко, П.Е. Тимченко, Д.А. Долгушкин, Л.Т. Волова, В.А. Лазарев, М.Д. Маркова, А.В. Ломкина // Материалы IX международной конференции по фотонике и информационной оптике. – Москва, 2020. – С 513 - 514.

18. Лазарев В.А. Опыт применения обогащенной тромбоцитами плазмы при хондропластике посттравматических дефектов суставной поверхности в эксперименте [текст] / В.А. Лазарев // Аспирантские чтения – 2020. Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 90-летию з.д.н. РФ профессора А.А. Лебедева. – Самара, 2020. – С. 46-47.

19. Timchenko E.V. Comparative analysis of the different types of plasty using raman spectroscopy method / E.V. Timchenko, P.E. Timchenko, M.D. Markova, A.V. Lomkina, D.A. Dolgushkin, L.T. Volova, V.A. Lazarev, A.K. Povelihin // Proceedings of SPIE – the International Society for Optical Engineering, Tissue Optics and Photonics, 2020. – P. 113632B.

20. Котельников Г.П. Применение компьютерной томографии для оценки плотности тканевого регенерата после хондропластики в эксперименте у кроликов [текст] / Г.П. Котельников, Д.А. Долгушкин, В.А. Лазарев, П.М. Зельтер // Вестник медицинского института «РЕАВИЗ: реабилитация, врач и здоровье». – 2020. – № 5 (47). – С. 28-35.

21. Долгушкин Д.А. Эффективность замещения суставной поверхности, обогащенной тромбоцитарной плазмой, у кроликов [текст] / Д.А. Долгушкин, В.А. Лазарев, Л.Т. Волова, Л.Т. Сарбаева // Научно – теоретический медицинский журнал морфология. – 2020. – Т. 157. - № 2 - 3. – С. 69 - 70.

22. Способ оценки качества новообразованных регенератов после хондропластики у кроликов / Котельников Г.П., Долгушкин Д.А., Лазарев В.А., Зельтер П.М.//Патент РФ на изобретение № 2727002. Опубликовано 17.07.2020, Бюл. № 20. – Заявка № 2019145635 от 30.12.2019.

23. Устройство для получения тромбоцитарных фракций плазмы крови / Лазарев В.А., Долгушкин Д.А., Лазарева Г.А., Богданов К.М., Замыцкий П.А.// Патент РФ на изобретение № 2736004. Опубликовано 11.11.2020, Бюл. № 32. – Заявка № 2020116952 от 30.12.2019.