

Національна академія медичних наук України
Державна установа «Інститут патології хребта та суглобів імені професора
М.І. Ситенка Національної академії медичних наук України»

ГРИГОР'ЄВ ВІТАЛІЙ ВІКТОРОВИЧ

УДК: 616: 717/718 – 001.5:612.115.1

**ВИКОРИСТАННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ АУТОФІБРИНУ
ПРИ ХІРУРГІЧНОМУ ЛІКУВАННІ ПЕРЕЛОМІВ**

14.01.21 — травматологія та ортопедія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук



Харків – 2021

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Вінницькому національному медичному університеті імені М. І. Пирогова Міністерства охорони здоров'я України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
ПОПСУЙШАПКА Олексій Корнілієвич
Харківська медична академія
післядипломної освіти МОЗ України,
професор кафедри травматології та ортопедії

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
ВИРВА Олег Євгенович
Державна установа «Інститут патології хребта
та суглобів імені професора М.І. Ситенка
Національної академії медичних наук України»,
головний лікар

доктор медичних наук, професор
НАУМЕНКО Леонід Юрійович
Державний заклад «Дніпропетровська
медична академія МОЗ України»,
професор кафедри медико-соціальної
експертизи і реабілітації ФПО

Захист відбудеться « 26 » лютого 2021 р. об 11.30 на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.607.01 Державної установи «Інститут патології хребта та суглобів імені професора М.І. Ситенка Національної академії медичних наук України» (61024, м. Харків, вул. Пушкінська, 80).

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Державної установи «Інститут патології хребта та суглобів імені професора М.І. Ситенка Національної академії медичних наук України» (61024, м. Харків, вул. Пушкінська, 80).

Автореферат розісланий « 25 » січня 2021 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
доктор медичних наук



С.Є.Бондаренко

Актуальність теми. Лікування діафізарних переломів довгих кісток не завжди завершується зрощенням відламків. Частота незрощень після первинного застосування накісткового або інтрамедулярного остеосинтезу за результатами незалежних досліджень становить 12–26 % (Попсуйшапка А. К. та ін., 2013; Antonova E. et al., 2013). Аномалію процесу регенерації кістки за умов лікування діафізарного перелому пояснюють впливом різних чинників і механічних умов. Доведено, що швидкість і якість регенерації після перелому залежить від такого фактору, як обсяг руйнування м'яких тканин навколо відламків (Романенко К.К., 2002; Литвишко В. А., Попсуйшапка А. К., 2016; Литвишко, В. О., 2018). Неможна не враховувати додаткове руйнування навколівідламкових тканин під час операцій відкритого зіставлення відламків і з'єднання їх зануреними фіксаторами. Розриви та відшарування окістя з м'язами від відламків, розрив внутрішньої живильної артерії за умов значного зміщення фрагментів кістки утворюють значні за обсягом зони, які опиняються в стані ішемії.

Загально визнано, що формування нової кісткової тканини пов'язано з ангиогенезом, достатнім рівнем оксигенації (Кромпехер С. 1971; Kanczler J. M., Oreffo R. O., 2008; Hu K., Olsen B. R., 2016). Тому логічно припустити, що ситуація з напрямком регенерації після перелому може залежати не лише від ступеня ушкодження судин, а й від того, наскільки ефективно та своєчасно відбувається ревазуляризація зруйнованої зони. Є припущення про важливу роль фібрину в механізмі росту судин під час регенерації кістки.

Важливим поштовхом для розуміння механізмів регенерації кісткової тканини стали наукові дослідження щодо використання збагаченої тромбоцитами плазми (Marx R. E. et al., 1998; Sánchez A. R. et al. 2003; Самодай В. Г. та ін., 2007) та фібрину (Dohan D. M. et al. 2006; Chatterjee A., Debnath K., 2019) для ущільнення кістки в дентальній імплантології. Пізніше з'явилися роботи щодо використання фібрину збагаченого тромбоцитами в лікуванні переломів (Зубенко А. Г., 2011; Григор'єв В. В., 2015). Але їх обмаль і стосовно самої методики застосування фібрину та доказів впливу його на регенерацію є багато нез'ясованих питань. Останнім часом опубліковані дослідження, які вказують на важливу роль природно утвореного фібрин-кров'яного згустку для формування кісткового регенерату (Schell H. et al., 2017; Литвишко В. О., 2018).

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт кафедри травматології та ортопедії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова Міністерства охорони здоров'я України («Комплексне відновне лікування пацієнтів з травмами та захворюваннями опорно-рухового апарату», державна реєстрація № 020411008505. Автором відібрано пацієнтів із переломами кісток, виконано хірургічні втручання з використанням аутофібрину, проаналізовано результати).

Мета дослідження: удосконалити хірургічне лікування переломів кінцівок шляхом обґрунтування та розроблення методики стимуляції кісткової регенерації аутофібрином.

Завдання дослідження:

1. Провести аналіз даних літератури щодо способів оптимізації процесу регенерації кістки після перелому з використанням збагаченого тромбоцитами фібрину.

2. Дослідити мікроструктуру фібринових згустків, утворених *in-vitro* шляхом центрифугування крові, та фібрин-кров'яних згустків із навколівідламкової зони у людей із переломами, а також вміст у них фактору росту ендотелію судин та трансформувального фактору росту за допомогою імуногістохімічного методу.

3. Оцінити реакцію фібриноутворення в результаті центрифугування дози крові у постраждалих із переломами різної тяжкості шляхом вимірювання об'єму фібринового згустку.

4. Розробити методику стимуляції аутофібрином процесу регенерації кістки при хірургічному лікуванні свіжих переломів і переломів, які не зростаються.

5. Оцінити отримані результати використання аутофібринопластики, виявити особливості утворення кісткового регенерату після хірургічного лікування постраждалих із переломами кісток і представити свою концепцію участі фібрину в процесі зрощення перелому.

Об'єкт дослідження – процес регенерації кістки після її перелому за умов розміщення в навколівідламковій зоні ауто фібрину, отриманого шляхом центрифугування крові.

Предмет дослідження – хворі з переломами кісток, фібриновий згусток, отриманий шляхом центрифугування крові, біоптати із навколівідламкових тканини хворих із діафізарним переломом (фібрин-кров'яний згусток, окістя, м'язи, жирова тканина).

Методи дослідження: клінічний; рентгенологічний; гістологічний та імуногістохімічний (для вивчення фібринового згустку, отриманого шляхом центрифугування крові *in-vitro*, а також навколівідламкових тканинах, отриманих під час операції відкритого зіставлення відламків); статистичний.

Наукова новизна отриманих результатів Уперше за допомогою імуногістохімічних досліджень навколівідламкових тканин у людини з переломом кістки доведено, що активність фактору росту ендотелію судин детермінована в часі і просторі і це відповідним чином організує регенераторний процес. Найбільшу концентрацію цього фактору спостерігали на 1–5-у добу після перелому саме у фібринових перетинках фібрин-кров'яного згустку, пізніше, на 8–15-у добу, його експресію виявлено в ендотеліоцитах, фібробластах і остеобластах. Позитивну реакцію на трансформувальний фактор росту на 1–5-у добу виявлено виключно в лейкоцитах, мезенхімальних клітинах а пізніше в новоутворених фібробластах і остеобластах

Уперше встановлено, що розміщення в зоні перелому кістки людини фібринового згустку, отриманого шляхом центрифугування крові, сприяє утворенню кісткового регенерату

Установлена мікроструктурна схожість фібрину, що утворюється

природно в навколівідламковій зоні, і фібрину, який отримано шляхом центрифугування крові *in-vitro*.

Виявлена нерівномірність у розподілі фактору росту ендотелію судин по об'єму фібринового згустку, отриманого шляхом центрифугування крові *in-vitro*.

Практичне значення одержаних результатів. Автором доведено можливість отримання фібринового згустку шляхом центрифугування крові *in-vitro* в об'ємі 50 мл без використання консерванту й установлено, що одночасно можна отримати дві порції фібрину, використовуючи венозний катетер та шприц об'ємом 50 мл.

Розроблено методику аутофібринопластики під час хірургічного лікування свіжих переломів кісток і переломів, що не зрослися. Методика включає такі складові етапи, як забір крові та підготування фібринового згустку, вибір зони для розміщення згустку залежно від сегмента, характеру площини зламу та виду фіксатора та дає змогу підвищити ефективність лікування вказаного контингенту хворих.

Результати дослідження впроваджено в клінічну практику Комунального некомерційного підприємства «Третя Черкаська міська лікарня швидкої допомоги», Державної установи «Інститут патології хребта та суглобів імені професора М.І. Ситенка Національної академії медичних наук України», Комунального некомерційного підприємства Харківської обласної ради «Обласна клінічна травматологічна лікарня», Комунального некомерційного підприємства «Чугуївська центральна районна лікарня ім. М.І. Кононенко» Чугуївської районної ради Харківської області, а також у навчальний процес кафедри травматології і ортопедії Харківської медичної академії післядипломної освіти Міністерства освіти і науки України.

Особистий внесок здобувача. Автор самостійно пролікував 60 хворих із переломом кісток із використанням методики відкритої репозиції відламків, остеосинтезу й аутофібринопластики. Дослідив функцію фібриноутворення крові 10 хворих *in-vitro* з множинними переломами. Самостійно проаналізував клінічний матеріал і провів рентгенометричні дослідження щодо особливостей загоєння перелому.

Провів забір біоматеріалу з навколівідламкової зони у хворих під час виконання операції відкритої репозиції відламків і фібринових згустків, отриманих шляхом центрифугування. Препарати для імуногістологічного дослідження виготовлені на базі лабораторії гістології Черкаського обласного онкодиспансера. Аналіз гістологічних і імуногістохімічних препаратів виконано за консультативної допомоги завідуючої лабораторії морфології сполучної тканини ДУ «Інститут патології хребта та суглобів імені професора М.І. Ситенка НАМН України» к.б.н. Ашукіної Н. О. Участь співавторів відображено у спільних наукових публікаціях.

Апробація результатів дослідження. Результати дисертаційного дослідження оприлюднені на науково-практичній конференції «Сучасні дослідження в ортопедії та травматології (Перші наукові читання, присвячені пам'яті академіка О. О. Коржа) (Харків, 2011); XVI з'їзді ортопедів-

травматологів України (Харків, 2013); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Сучасні дослідження в ортопедії та травматології (Другі наукові читання, присвячені пам'яті академіка О. О. Коржа), (Харків, 2014); XVII з'їзді ортопедів-травматологів України (Київ, 2016); 20 Європейському Конгресі ортопедів-травматологів (EFORT) (Лісабон, Португалія 2017); XVIII з'їзді ортопедів-травматологів України (Івано-Франківськ, 2019).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 7 наукових праць, із них 5 статей у наукових фахових виданнях (1 в журналі, що входить до нормометричної бази Web of Science), 2 роботи в матеріалах з'їзді

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 166 сторінках друкованого тексту, складається зі вступу, аналізу літератури, розділу «Матеріал і методи», 4 розділів власних досліджень, висновків, додатків, 143 використаних джерела літератури (41 – кирилицею та 102 – латиницею). Дисертація містить 41 рисунок, 14 таблиць.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріал і методи. Клінічні дослідження. Вплив фібрину на процес регенерації кістки вивчено на 60 хворих у двох групах.

Перша група — 27 пацієнтів (вік від 18 до 56 років) зі свіжими переломами різної локалізації, яким проведено хірургічне лікування — відкрита репозиція відламків, їхня фіксація внутрішніми або зовнішніми пристроями. Оперативне втручання виконували в терміни від однієї до 30 діб після травми. Серед пацієнтів жінок було 10, чоловіків — 17. За локалізацією перелому та його типу згідно з класифікацією AO/ASIF пацієнти розподілилися як наведено в табл. 1.

Таблиця 1

Розподіл хворих першої групи за локалізацією та типом перелому згідно з класифікацією AO/ASIF

Локалізація перелому	Розподіл згідно класифікації AO/ASIF			
	А	В	С	Всього
Проксимальний метафіз великогомілкової кістки	–	–	1	1
Діафіз великогомілкової кістки	4	1	–	5
П'яткова кістка	–	–	2	2
Діафіз плечової кістки	1	–	1	2
Дистальний епіметафіз плечової кістки	1	–	–	1
Проксимальний метафіз плечової кістки	–	–	2	2
Діафіз обох кісток передпліччя	–	–	2	2
Діафіз променевої кістки	1	–	–	1
Діафіз ліктьової кістки	7	2	–	9
П'ясткові кістки	–	–	2	2
Усього	14	3	10	27

У 17 хворих перелом локалізувався в діафізарній частині довгих кісток

кінцівок, у 6 — в метаепіфізарному відділі, у 2 були відкриті відламкові переломи п'ясткової кістки і 2 — п'ясткової кістки. У більшості хворих із діафізарними переломами відмічено значне первинне зміщення відламків, яке потребувало їхньої відкритої репозиції. Враховуючи наявність значного руйнування періостальних тканин, як у разі первинного зміщення відламків, так і за умов виконання хірургічного втручання з їхнього зіставлення й установлення накісткової пластини, ми вважали, що у цих пацієнтів існує високий ризик уповільненої регенерації. Щоб стимулювати процес утворення періостальної регенерації хірургічне втручання доповнювали розміщенням у навколівідламковій зоні фібринового згустку, отриманого з крові цього самого хворого.

Окрім діафізарних переломів, нами проведено лікування 6 постраждалих із метаепіфізарними переломами, в яких утворився дефект кісткової тканини внаслідок видалення вільних фрагментів або імпресії трабекулярної кістки. Після відновлення анатомічної форми суглобової поверхні та синтезу пластинами формувався метафізарний дефект, який теж заповнено виключно аутофібрином. Подібна ситуація була у 2 пацієнтів із багатуоламковим переломом п'ясткової кістки і у 2 — виявлено первинний дефект п'ясткової кістки.

Друга група — 33 пацієнти, які звернулися за допомогою у зв'язку з незрошенням відламків після попереднього лікування, яке тривало не менше ніж 4 міс. Згідно з класифікацією Weber, вони мали нормотрофічний або атрофічний тип незрошення (31), або повторний перелом (2) після видалення накісткової пластини. У більшості хворих (25) незрошення відламків утворилося на фоні попереднього зануреного металоостеосинтезу (накісткові пластини, стрижні, гвинти), у 7 — після невдалого консервативного лікування, 1 — після застосування стрижневого апарата зовнішньої фіксації в якості первинного методу фіксації.

Окремо була досліджена група з 11 постраждалих із множинними переломами та супутніми ушкодженнями інших органів. Цю групу було використано як контрольну для вивчення процесу утворення фібринового згустку *in-vitro* за умов значної крововтрати та інтенсивної інфузійної терапії.

Усіх хворих (за окремим виключенням) проліковано в КЗ «Третя Черкаська міська лікарня швидкої медичної допомоги», 1 — у в ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. М. І. Ситенка НАМНУ» і автор дисертації брав участь у проведенні у них хірургічних втручань.

Методика приготування фібринових згустків. Для приготування фібринових згустків використовували: лабораторну центрифугу СМ-6М на 4 пробірки об'ємом 50 мл (виробництва фірми «ELMI» ISO 9001:2008); пластикові пробірки об'ємом 50 мл типу Falcon, фірми «Sarstedt», стерильні, в упаковці; пластикові гранули діаметром 2–3 мм, стерильні, упаковані в лабораторних пробірках фірми «Sarstedt»; стерильний 10 % розчин CaCl₂ в ампулах об'ємом 5 мл; одноразові пластикові шприци фірми Medicare 50 мл з голкою 18G. Обладнання знаходилося в операційній.

Методика отримання згустку починалася з забору венозної порції крові

хворого через попередньо установлений внутрішньовенний катетер. Залежно від ситуації забір крові та підготовку фібринового згустку або декількох згустків проводили в операційній безпосередньо перед операцією або під час неї. У стерильні пробірки з дотриманням умов асептики пересипали пластикові гранули, які зберігаються в окремій пробірці, і закривали їх кришкою. Кількість гранул визначали за їхнім вмістом в одній пробірці об'ємом 9 мл. Центрифугування крові здійснювали при 2400 обертів на хв. впродовж 12 хв. Утворений після центрифугування фібрин-кров'яний згусток складався з двох частин: білої (жовтої) і темно-червоної (рис. 1).

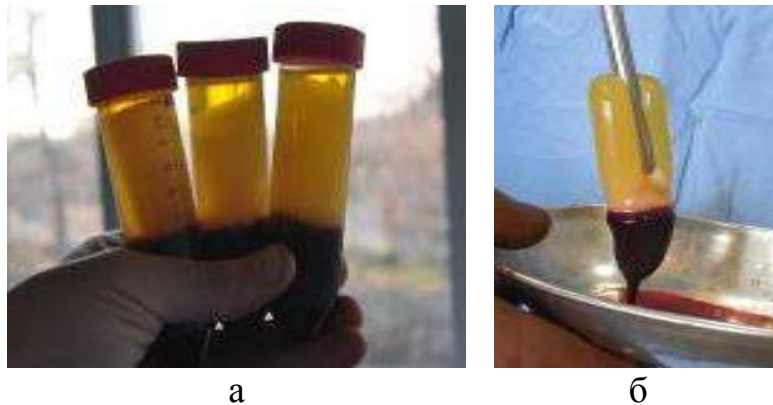


Рис. 1. Вигляд пробірок з утвореними після центрифугування фібрин-кров'яними згустками (а) і згусток після видалення з пробірки (б).

Згусток лишався стерильним у закритій пробірці до необхідного моменту. Виймання згустків з пробірки здійснювали безпосередньо перед укладанням у необхідне місце. Відділяли власне згусток від гранул і червоного «хвоста», віджимали з нього надлишок рідини і поміщали в місце, де планували стимулювати репаративний остеогенез.

Хірургічне лікування переломів із застосуванням аутофібринопластики у хворих першої групи (свіжі переломи). У хворих зі свіжими переломами застосовані способи з'єднання відламків, які наведено в табл. 2.

Таблиця 2

Способи з'єднання відламків

Способи з'єднання відламків	Кількість хворих
Накісткова пластина	22
Апарат зовнішньої фіксації	3
Спиці з додатковою гіпсовою іммобілізацією	1
Блокований інтрамедулярний стрижень	1
Усього	27

За умов діафізарних переломів хірургічне втручання в першу чергу було пов'язано з необхідністю відкритого зіставлення відламків. Значне їхнє зміщення, наявність інтерпозиції м'якими тканинами та складна форма площини зламу не давали нам можливості ефективно провести закриту

репозицію. Частіше за все нами був використаний накістковий остеосинтез пластинами виробництва «Інтерлок», «Наранг». Під час його виконання ми дотримувалися рекомендацій, які пропонують на навчальних курсах асоціації остеосинтезу (АО).

Аутофібринопластику поводили після з'єднання відламків пластиною або іншим фіксатором. Обирали доцільні зони, в які поміщали підготовлений аутофібрин. Зазвичай, у разі діафізарного перелому це була періостальна, підокісна зона на рівні площини зламу. Причому по периметру кістки обирали ті місця, до яких прилягала життєздатна м'язова тканина з окістям. Особливо звертали увагу на те, щоб фібрин заповнював утворені кісткові дефекти або перекривав зону проблемних з огляду на життєздатність відламків і щільно прилягав до кісткової тканини. Поверх пластини фібрин не розміщали. М'які тканини над кісткою з фібрином щільно зашивали та дренажування післяопераційної рани не проводили.

У трьох постраждалих із діафізарним переломом відламки фіксували зовнішнім стрижневим апаратом після їх відкритої репозиції.

Хірургічне лікування переломів зі застосуванням аутофібринопластику у хворих другої групи (переломи, що не зрослися. У хворих цієї групи нами були застосовані наступні способи з'єднання відламків, наведені в (табл. 3).

Таблиця 3

Способи з'єднання відламків

Способи з'єднання відламків	Кількість хворих
Накісткова пластина	24
Апарат зовнішньої фіксації	2
Блокований інтрамедулярний стрижень	7
Всього	33

Першим етапом видаляли неспроможній фіксатор за його наявності. Далі шляхом декортикації виділяли відламки такою мірою, щоб мобілізувати та довести їх до контакту. Обов'язково з міжвідламкової зони видаляли сполучну тканину за допомогою долот різної форми та кусачок. Досягали такого стану, щоб поверхня відламків кровоточила. Якщо кістковомозковий канал був закритий, його перфоровали свердлом діаметром 3–4 мм. В анатомічному положенні відламки з'єднували новою пластиною, яка мала більшу довжину. Після того, як відламки адаптували та фіксували пластиною, виконували аутофібринопластику. Зазвичай, у таких ситуаціях між відламками не було ідеальної адаптації, утворювалися дефекти. Тому аутофібрин розміщали в них, а також в періостальній зоні з перспективою формування веретеноподібного регенерату навкруги зони контакту відламків.

У 6 пацієнтів для заповнення кісткових додатково використано кісткові аутоотрансплантати, у 2 — алотрансплантати. У випадку використання аутокістки її максимально подрібнювали кусачками для збільшення кількості

зруйнованих кісткових трабекул, що є джерелом кісткових морфогенетичних білків.

У двох випадках, коли спостерігали значні кісткові дефекти (стегова та плечова кістки) для їх заповнення використано алокістку (ОМС, Харків). Обов'язковою умовою було герметичне пошарове зашивання рани без дренивання. Гемостаз здійснювали під час операції, причому не добивались абсолютної «сухості» операційного поля, особливо не коагулювали дрібні судини тканин, якими укривали зону укладання згустків.

Оцінювання формоутворення кісткового регенерату після аутофібринопластики за даним рентгенографії. Достовірно ідентифікувати утворення кісткового регенерату було можливо в разі його періостального розташування або за наявності дефекту двох шарів компактної кістки. Наявність кісткового регенерату в міжвідламковому просторі за умов складних площин зламу не завжди можна було чітко візуалізувати на рентгенограмі в результаті суперпозиції відламків.

Для того, щоб прослідкувати топографічну залежність між місцем розташування згустку і кісткового регенерату в подальшому, ми фотографічно фіксували операційну рану після розміщення аутофібрину в навколівідламковій зоні, а потім на рентгенограмах дивилися, де з'являвся кістковий регенерат. На післяопераційних рентгенограмах, виконаних у стандартних проекціях, маркували розташування фібринових згустків, їхні розміри та форму. Це дозволяло в разі утворення кісткового регенерату порівнювати його локалізацію, форму і розміри з такими самими параметрами фібрину. Рентгенографічне дослідження проводили через 1,5–2; 3–4; 6 міс. після операції.

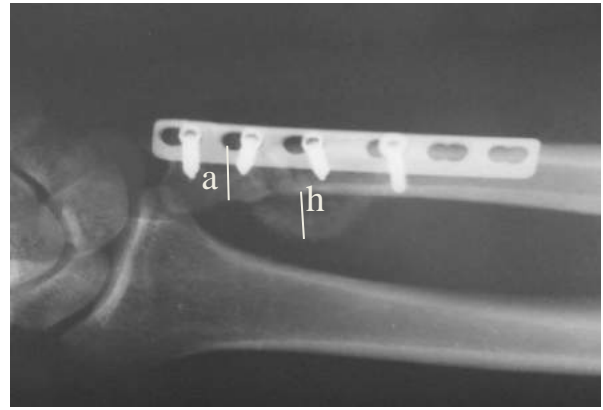
За наявності кісткового регенерату в указані терміни вимірювали його висоту в проекції, де він був максимально вираженим і співставляли його локалізацію з розташуванням аутофібрину під час виконання операції (по фотографіям і маркуванням на первинних рентгенограмах).

Враховуючи те, що періостальний кістковий регенерат може мати різні розміри, під час аналізу матеріалу за основу брали відносну величину його висоти (по відношенню до поперечного розміру кістки на цьому самому рівні) (рис. 2). У багатьох випадках, коли аутофібрин поміщали в кістковий дефект, який був оточений кісткою з трьох сторін, візуалізувати кістковий регенерат на рентгенограмах у перші два місяці було складно через суперпозицію збережених стінок. Тому в цьому випадку результат оцінювали за рентгенологічною картиною на віддалені терміни (5 міс. і більше).

Методика дослідження фібрину, отриманого шляхом центрифугування in-vitro, та тканин прилеглих до перелому, на вміст у них біологічно активних факторів (VEGF, TGF β). Матеріалом для дослідження були фібрин-кров'яні згустки, отримані шляхом центрифугування крові 5 пацієнтів із переломом кісток передпліччя. Після приготування згустку за наведеною методикою вирізали гострим ланцетом два шматочки розміром $5 \times 5 \times 5$ мм з верхньої та нижньої його частин.



а



б

Рис. 2. Вид оперативного поля з аутофібриновим згустком (а) і рентгенограма хворого (б) з демонстрацією методики вимірювання висоти періостального регенерату та поперечного розміру кістки.

Біоптати фіксували в 10 % забуференому формаліні та передавали в лабораторію Черкаського обласного онкологічного диспансеру (завідуючий М. Ф. Галкін), де виготовляли гістологічні та імуногістохімічні препарати. Біоптати обробляли відповідно до загальноприйнятих методик гістологічного дослідження з використанням гістопроектора «Microm CP-120» та заливали в парафін. Гістологічні зрізи товщиною 3 мкм виготовляли на ротаційному мікротомі Leica RM 2125, депарафінізували і частину зрізів забарвлювали гематоксиліном та еозином. Для виявлення VEGF і TGF препарати обробляли мишиним антитілом VEGF (клон VGI) та поліклональним антитілом TGF β (Diagnostic BioSystems) з використанням непрямого періоксидазного методу з високотемпературним демаскуванням антигенів EnVision (Dako). Коричнє забарвлення вказувало на наявність досліджуваних факторів.

Препарати вивчали та аналізували під світловим мікроскопом «Olympus BX-63» (Olympus Corp. Tokyo, Japan) та фотографували цифровою камерою DP7 із використанням прикладної програми «CellSensDimension» ver.510 (Olympus Soft Imaging Solution; Gmb H, 2013).

Біоптати з навколівідламкової зони були отримані у 9 постраждалих з діафізарними переломами, яким виконували відкриту репозицію відламків із подальшою їхньою фіксацією зануреним або зовнішнім фіксатором. Терміни після травми коливалися від 1 до 15 діб. Біоптати брали відразу після виконання доступу до відламків. Гострим ланцетом вирізали одним блоком ділянку тканин (розміром приблизно 5×5 мм), в яку входив фібрин-кров'яний згусток і прилеглі до нього м'які тканини. Паралельно у 5 пацієнтів із цієї групи для дослідження були взяті біоптати зі згустку, який отримано шляхом центрифугування венозної крові та використано в якості пластичного матеріалу. Дослідження проведені у вказаних лабораторіях і за тими самими методиками.

Дослідження об'єму фібринового згустку, утвореного внаслідок центрифугування крові in-vitro у постраждалих з різним загальним станом

організму. Щоб перевірити вплив крововтрати та гемоделюції на процес фібриноутворення було проведено дослідження об'єму фібринового згустку у групах постраждалих з різною тяжкістю травми і різним загальним станом. Були виділені наступні підгрупи:

– I підгрупа — постраждали зі свіжим монолокальним переломом верхньої кінцівки. Це були переважно хворі з переломом кісток передпліччя, ключиці, кисті (17 осіб). У них забір крові й приготування фібринового згустку було проведено в термін 1–10 діб після травми.

– II підгрупа — постраждалі зі монолокальним переломом кісток гомілки (6 осіб). Забір крові і приготування фібринового згустку було проведено в термін 1–4 доби після травми.

Постраждалим I і II підгруп інфузійної терапії не проводили.

– III підгрупа — постраждалі зі свіжими (до 7 діб після травми) множинними переломами та поєднаними ушкодженнями інших органів, яким проведено інфузійну терапію (10 осіб).

– IV підгрупа — 24 пацієнти з переломом, що не зрісся або зростався за умов незадовільного положення відламків, а після травми минуло більше місяця (3 особи). У більшості після травми пройшло від 4 до 10 міс. Пацієнти були в задовільному стані, забір крові проводили перед основним хірургічним втручанням та інфузією розчинів. Усього в групі було 27 осіб.

У хворих I, II, IV підгруп аутофібриновий згусток готували та використовували під час хірургічного лікування перелому. Серед хворих із множинними переломами (III підгрупа) для стимуляції згусток був використаний лише у двох. У решти була взята кров і отриманий згусток в якості експерименту (за згодою пацієнта і безпосередньо перед інфузією крові або іншого розчину).

Об'єм білої частини фібринового згустку визначали за шкалою, яка нанесена на стінці пробірки для центрифугування. Ціна ділення — 5 мл, загальний об'єм крові — 50 мл. Після центрифугування видно розміри фібринового згустку по шкалі. Його відносний об'єм визначали за формулою: де $V_{\text{відн.}}$ — об'єм фібрину у відсотках; $V_{\text{ф.}}$ — об'єм фібринового згустку; $V_{\text{кр.}}$ — загальний об'єм крові.

Результати гістологічних і імуногістохімічних досліджень

Локалізація фактору росту ендотелію судин (VEGF) та трансформувального фактора росту (TGF- β) в фібрині отриманому in-vitro і в навколівідламкових тканинах у хворих із переломами. Наявність VEGF і TGF у клітинах або позаклітинному матриксі визначали за наявністю коричневым забарвленням. При цьому слід зазначити, що інтенсивність коричневого кольору була неоднаковою на отриманих препаратах. Результат імуногістохімічної реакції тканин оцінювали по інтенсивності (насиченості) коричневого забарвлення. Для характеристики інтенсивності забарвлення ми застосували триступеневу її градацію: блідо-коричневий, коричневий, темно-коричневий.

Структура аутофібрину, отриманого in-vitro, та локалізація в ньому VEGF, TGF. Фібрин верхньої частини згустку давав в основному слабку

позитивну реакцію у вигляді блідо-коричневого фону за виключенням невеличких ділянок, де розташовувалися еритроцити. Тут відмічалися ділянки світло-коричневого та коричневого кольору. Водночас у нижній частині фібринового згустку виявлено виражену позитивну реакцію на VEGF. Тут фібрин здебільшого мав коричневий та темно-коричневий колір. Необхідно звернути увагу на ту особливість, що темно-коричневий колір переважно локалізувався по периферійній частині згустку, у центральній він мав коричневий колір. Що стосується трансформувального фактора росту (TGF), то він в основному виявлявся в клітинах крові (лейкоцитах) і розподілявся більш-менш рівномірно по згустку.

Локалізація та розподіл фактору росту ендотелію судин (VEGF) у навколівідламкових тканинах. На гістопрепаратах біоптатів, отриманих із навколівідламкової зони 4 хворих через 1–5 діб після перелому, характерною була позитивна реакція на VEGF у фібрин-кров'яному згустку. Максимально інтенсивно забарвленими коричневим кольором виявилися фібринові волокна, що виділяло зону фібрин-кров'яного згустку на фоні прилеглих м'яких тканин, де забарвленими виявилися епітеліальні клітини судин (рис. 3, а).

Відмічено, що темно-коричневий колір мали фібринові перетинки, які утворювали комірчасту структуру. У комірках були розташовані скупчення еритроцитів, які не були забарвлені коричневим кольором (рис. 3, б).

У вилучених на 8 і 12-ту добу після травми біоптатах картина суттєво змінювалася. У регенераті виявляли залишки фібрину, осередки грануляційної, фіброретикулярної та новоутвореної кісткової тканини дрібнопетлястої структури. Проте позитивну реакцію на VEGF на ці терміни відмічали вже не у фібриновому каркасі, а в клітинах усіх тканин: остеоцитах, остеобластах, фібробластах, ендотеліоцитах. Вони мали темно-коричневий колір (рис. 4).

Із цього можна зробити висновок, що дія VEGF детермінована в часі та реалізується на самому початку процесу загоєння перелому. Через 10–12 діб після травми ми вже бачимо зовсім іншу ситуацію — судинна сітка сформована, VEGF концентрується в ендотеліоцитах та остеобластах.

Об'єм фібринового згустку в постраждалих із переломами різної тяжкості та різним загальним станом організму. З отриманих даних видно, що у хворих зі свіжим ізольованим переломом об'єм фібринового згустку складав в середньому в разі перелому верхньої кінцівки ($38 \pm 12,4$) см³, у разі перелому кісток гомілки—($29 \pm 1,8$) см³. Між ними статистично достовірної різниці не виявлено.

Найбільший по об'єму фібриновий згусток ($50,6 \pm 10,3$) см³ утворювався в пацієнтів, яких прооперовано в плановому порядку з приводу незрощення відламків. Вони мали задовільний загальний стан, зберігали рухову активність. Такий рівень фібриноутворення у цих хворих можна пояснити тим, що у віддалені терміни після травми нормалізується концентрація фібриногену крові.

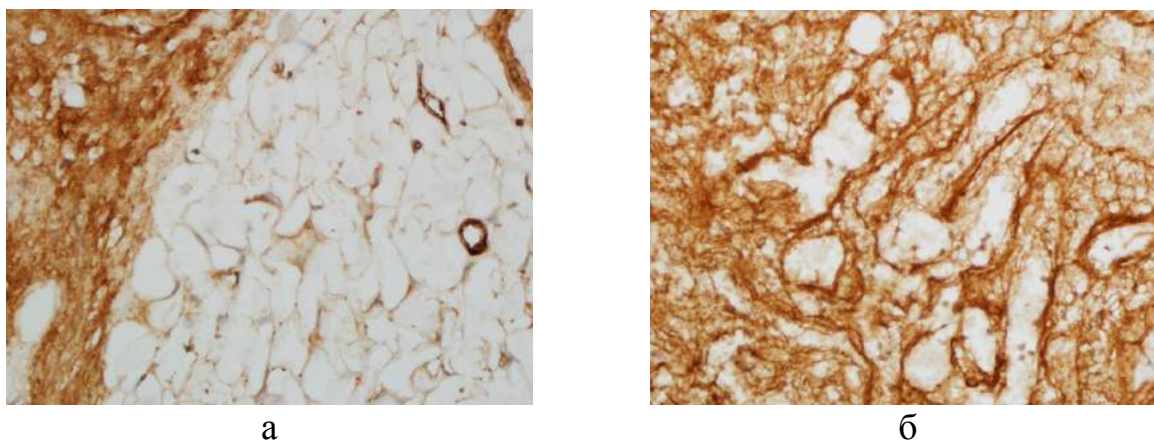


Рис. 3. Біоптат із навколівідламкової ділянки пацієнта П., 1-ша доба після перелому кісток передпліччя: а) згусток на межі з жировою тканиною; б) фібринові перетинки згустку. Імуногістохімічна обробка мишиним антитілом VEGF. Збільшення 400.

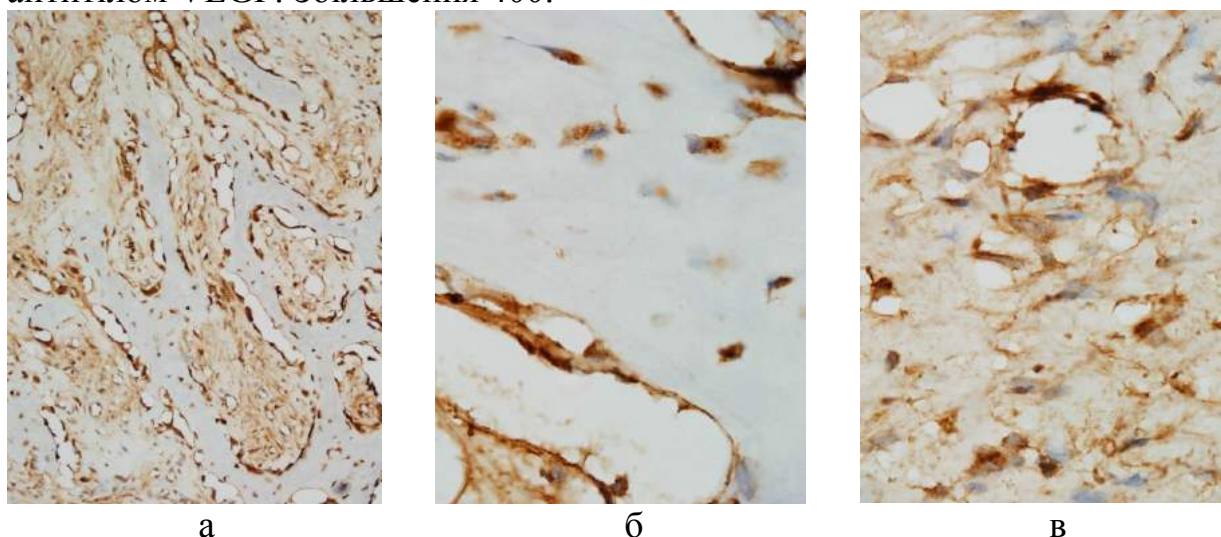


Рис. 4. Молода дрібнопетляста кісткова тканина з міжвідламкового регенерату хворого З. на 12-ту добу після перелому. Висока щільність кровоносних капілярів. Позитивна реакція на VEGF в остеocyтах, остеобластах, фібробластих, ендотеліocyтах. Збільшення: а) 200; б, в) 1000.

Найменший об'єм утвореного фібрину після центрифугування крові ($15,9 \pm 4,3$) см³ визначено в групі пацієнтів із множинними переломами та сполучними пошкодженнями, які отримували інтенсивну інфузійну терапію.

Результати лікування хворих. Результати лікування хворих першої групи. Відразу відмітимо, що у всіх 27 пацієнтів зі свіжими переломами відбулося зрощення відламків у терміни від 3 до 6 міс. Ускладнення у вигляді нагноєння післяопераційної рани, розходження країв післяопераційної рани або металозу ми не спостерігали.

Аналізуючи форму та локалізацію кісткового регенерату по даним рентгенографії у 19 хворих з діафізарною локалізацією перелому, ми виявили, що періостальний кістковий регенерат сформувався у 12 пацієнтів, у 7 осіб—кістковий регенерат заповнював міжвідламкову щілину або дефект,

а періостальна його частина була не вираженою. Тобто очевидний ефект утворення періостального кісткового регенерату на місці фібрину було відмічено у 63 % хворих. Отже, об'єктивно оцінити розміри та локалізацію періостального кісткового регенерату ми мали змогу у 12 пацієнтів.

Таким чином у цій групі у всіх хворих відбулося зрощення діафізарного перелому з утворенням суцільного періостального кісткового регенерату, який потовщував кістку в місці бувшого перелому в середньому на 39,8 %. У 91 % найбільша висота періостального кісткового регенерату співпадала з місцем укладки ауто фібрину.

Ще у 8 хворих, у яких були переломи метаепіфізарної локалізації з дефектом кісткової тканини або з пристіночним дефектом спостерігали його заповнення кістковим регенератом. Ідентифікувати рентгенологічно щільність кісткового регенерату не представлялося можливим внаслідок суперпозиції збереженої компактної кістки. Але про позитивний ефект фібринопластики свідчили клінічні ознаки зрощення відламків з відновленням функції кінцівки.

Результати лікування хворих другої групи. Усі пацієнти оглянуті через рік і більше після останньої операції. Із 33 хворих, що входили в групу, зрощення відламків з утворенням суцільного періостального регенерату отримано у 30, що склало 91 %. На відміну від першої групи у частини хворих із незрощенням відламків (16 осіб) на момент виконання нами повторної операції з аутофібринопластиком вже були періостальні кісткові розростання, які заважали ідентифікувати регенерат на місці фібрину. Тому ми зосередилися на тих клінічних випадках, коли незрощення після попередньо проведеного остеосинтезу не супроводжувалося періостальною кістковою регенерацією (14 осіб). Після проведеної нами операції зі застосуванням аутофібрину у них спостерігали зрощення відламків з формуванням веретеноподібного суцільного кісткового регенерату, який по висоті складав 36,3 % від поперечного розміру кістки. У решти 3 хворих повного відновлення цілісності ушкодженої кістки не відбулося. У них після повторної операції з аутофібринопластиком наступив рецидив незрощення відламків із наявністю їх патологічної рухомості.

ВИСНОВКИ

1. На підставі аналізу наукової літератури встановлено, що стимуляцію кісткоутворення можна досягти за допомогою біологічно активних тромбоцитарних факторів, які зв'язані з фібрином. Але в разі лікування переломів довгих кісток, за яких часто спостерігають порушення процесу зрощення відламків, роль цих факторів недооцінена і не вивчений їхній вплив на процес регенерації кістки.

2. У результаті імуногістохімічних досліджень навколівідламкових тканин встановлено, що в перші 1–5 діб після перелому кістки у людини найвища концентрація фактору росту ендотелію судин (VEGF) спостерігається в навколівідламковому фібрин-кров'яному згустку, а саме у фібринових перетинках і суцільному фібрині. Це дає підставу вважати, що

його наявність створює потужний сигнал для спрямованого росту судин з прилеглих життєздатних тканин у зону, заповнену фібрином.

Пізніше, через 8–12 діб із формуванням регенераторної бластими у залишках фібрину реакція на фактор росту ендотелію судин (VEGF) зменшується. Одночасно висока концентрація його візуалізується в новоутворених ендотеліоцитах, фібробластах і остеобластах.

У фібринових згустках, отриманих шляхом центрифугування крові хворих *in-vitro*, також визначено позитивну реакцію на фактор росту ендотелію судин (VEGF) у фібринових перетинках, інтенсивність реакції аналогічна виявленій у фібрині в навколівідламковій зоні. На відміну від VEGF позитивну реакцію на трансформувальний фактор росту (TGF) на всіх термінах виявлено в клітинах (лейкоцитах, мезенхімальних клітинах, фібробластах, остеобластах).

3. Вимірювання об'єму утвореного шляхом центрифугування фібринового згустку виявило, що найбільший об'єм фібрину утворюється у групи хворих із переломом, який не зрісся, із задовільним загальним станом – $(50,7 \pm 10,3)$ см³, а також у пацієнтів із монолокальним закритим переломом – $(38,5 \pm 12,4)$ см³. Значно меншим був об'єм утвореного фібринового згустку у хворих із множинними переломами та політравмою – $(15,9 \pm 4,3)$ см³, що пов'язано з крововтратою та гемоделюцією, яка знижує концентрацію фібриногену плазми крові.

4. Розроблена методики стимуляції аутофібрином процесу регенерації кістки, яка передбачає, що отримані шляхом центрифугування фібринові згустки придатні для заповнення дефектів кістки в зоні перелому, а також для пластики періостальної зони навкруги площини зламу. Фібринові згустки можуть бути використані в разі накісткового, інтрамедулярного блокованого та позавогнищевого остеосинтезу апаратом зовнішньої фіксації (за умов відкритої репозиції відламків). Як стимулятори кісткоутворення вони можуть бути використані і в разі свіжих переломів, і в разі переломів, що не зрослися.

5. У всіх постраждалих зі свіжими переломами довгих кісток, яким застосовано фібринопластику, досягнуто зрощення відламків у терміни 3–6 міс. У хворих із діафізарним переломом зрощення відламків у 91 % відбулося з утворенням суцільного періостального кісткового регенерату, розташування якого співпадало з зоною, де під час операції був розміщений аутофібрин. Висота періостального кісткового регенерату склала в середньому 39,8 % від поперечного розміру кістки.

У разі повторних операцій із використанням фібринопластики у хворих із незрощенням відламків на рівні діафіза досягнуто зрощення у 91 % з утворенням суцільного кісткового періостального регенерату висотою 36,3 % від поперечного розміру кістки.

ПЕРЕЛІК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Лечение несращения отломков кости после диафизарного перелома / А. К. Попсуйшапка, А. В. Литвишко, **В. В. Григорьев**, Н. А. Ашукина // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2014. – № 1 (594). – С. 34–41.

Автор особисто взяв участь у хірургічному лікуванні 3 хворих. Під час операцій виконав показову процедуру отримання аутофібрину. Запропонував методику аутофібринопластики в разі переломів, які не зрослися.

2. **Григор'єв В. В.** Використання аутофібрину для стимулювання остеорепарації в лікуванні переломів довгих кісток / **В. В. Григор'єв** // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2015. – № 4 (601). – С. 5–10.

Автор самостійно провів операції остеосинтезу з використанням аутофібрину, прослідкував за перебігом процесу зрощення відламків, вивчив та проаналізував отримані результати.

3. Локалізація фактора росту ендотелію судин і трансформувального фактора росту- β в тканинах навколівідламкової зони після переломів довгих кісток кінцівок у людини / **В. В. Григор'єв**, О. К. Попсуйшапка, Н. О. Ашукіна, Ф. М. Галкін // Ортопедия, травматология протезирование. – 2017. – № 2 (697). – С. 62–69.

Автор під час проведення хірургічного лікування переломів зробив забір біоптатів тканин із навколівідламкової зони та фібрину, отриманого з крові хворих. Взяв участь у виготовленні гістологічних та імуногістохімічних препаратів, вивченні й аналізі отриманих результатів. Придбав матеріали, необхідні для проведення імуногістохімічних досліджень.

4. Differentiation mechanisms of regeneration blastema cells during bone fracture healing / А. Popsuishapka, V. Litvishko, N. Ashukina, **V. Grigoryev**, O. Pidgaiska // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2018. – № 2 (611). – P. 78–86.

Автор відібрав матеріал для дослідження, взяв участь у виготовленні гістологічних препаратів, їхньому аналізі та створенні наукової концепції механізму диференціації клітин у процесі загоєння перелому.

5. Fibrin-blood clot as an initial stage of formation of bone regeneration after a bone fracture / О. К. Popsuishapka, N. О. Ashukina, V. О. Lytvyshko, **V. V. Grigorjev**, O. O. Pidgaiska, K. O. Popsuishapka // Regulatory Mechanisms in Biosystems. – 2018. – № 9(3). – P. 322–328.

Автор відібрав матеріал для імуногістохімічного дослідження, взяв участь у виготовленні препаратів, їхньому аналізі.

6. **Григор'єв В. В.** Регенерація кістки після аутофібринопластики за умов внутрішнього остеосинтезу / **В. В. Григор'єв**, Г. Ф. Галкін: Збірник наукових праць XVII з'їзду ортопедів-травматологів України (Київ, 5-7 жовтня 2016 р.) // МОЗ України, НАМН України, ВГО «Українська асоціація ортопедів-травматологів». – Київ, 2016. – С. 346.

Автор взяв участь у хірургічному лікуванні пацієнтів, проаналізував його результати; відібрав матеріал для імуногістохімічного дослідження, взяв

участь у виготовленні препаратів, аналізі результатів.

7. Чотири умови, які забезпечують утворення повноцінного регенерату після діафізарного перелому / О. К. Попсуйшапка, В. О. Литвишко, Н. О. Ашукіна, О. О. Підгайська, **В. В. Григор'єв**: Збірник наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України (Івано-Франківськ, 9-11 жовтня 2019 р.). // МОЗ України, НАМН України, ВГО «Українська асоціація ортопедів-травматологів». – Івано-Франківськ, 2019. – С. 165-166.

8. Автор взяв участь у хірургічному лікуванні пацієнтів, проаналізував його результати.

АНОТАЦІЯ

Григор'єв В. В. Використання біологічної активності аутофібрину при хірургічному лікуванні переломів. — На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.21 – травматологія та ортопедія. – Державна установа «Інститут патології хребта та суглобів імені професора М.І. Ситенка Національної академії медичних наук України», Харків, 2021.

Робота заснована на вивченні перебігу процесу загоєння перелому у 60 хворих зі свіжими (27) переломами і переломами, що не зрослися (33). Їм виконували операції остеосинтезу накістковою пластиною (46), інтрамедулярним блокованим стрижнем (9) та апаратом зовнішньої фіксації (5). Під час виконання остеосинтезу відламків проводили пластику ауто фібрином отриманим із венозної крові хворого.

Гістологічно й імуногістохімічно досліджені фібринові згустки, отримані *in-vitro* та з навколівідламкової зони у хворих з переломами. Встановлено, що відразу після їхнього утворення в перетинках фібрину концентрувався фактор росту ендотелію судин. У згустках давниною 8–15 днів інтенсивність реакції фібрину на цей фактор зменшувалася і виявлялася переважно в ендотелії кровоносних капілярів, фібробластах і остеобластах.

Аналіз результатів лікування показав, що на місці аутофібрину розташованого навкруги зони перелому утворюється кістковий регенерат. У всіх 27 хворих зі свіжими переломами відбулося зрощення відламків в терміни від 3 до 6 міс. Очевидний ефект утворення періостального кісткового регенерату на місці фібрину відмічено у 63 % хворих. Серед 33 пацієнтів, які мали незрощення відламків і яким виконали повторне хірургічне лікування з використанням аутофібрину (27 осіб) і аутофібрину в поєднанні з кістковими трансплантатами (6 осіб), зрощення досягнуто у 30 хворих (91 %).

Ключові слова: переломи кісток, регенерація, хірургічне лікування, фібрин-кров'яний згусток, фактор росту ендотелію судин, трансформувальний фактор росту- β

АННОТАЦИЯ

Григорьев В. В. Использование биологической активности аутофибрина при хирургическом лечении переломов. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.21 – травматология и ортопедия. – Государственное учреждение «Институт патологии позвоночника и суставов имени профессора М.И. Ситенко Национальной академии медицинских наук Украины», Харьков, 2021.

Работа основана на изучении течения процесса заживления перелома у 60 больных со свежими (27) переломами и несросшимися (33) переломами. Им выполняли операции остеосинтеза накостной пластиной (46), интрамедуллярным блокированным стержнем (9) и аппаратом внешней фиксации (5). Во время выполнения остеосинтеза отломков проводили пластику аутофибрином, полученным из венозной крови больного.

Гистологически и иммуногистохимически исследованы фибриновые сгустки, полученные *in-vitro* и из околоотломковой зоны у больных с переломами. В результате иммуногистохимических исследований установлено, что в первые 1-5 суток после перелома кости у человека высокая концентрация фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) наблюдается в околоотломковом фибрин-кровяном сгустке, а именно в фибрине. Это дает основание считать, что его наличие создает мощный сигнал для направленного роста сосудов из близлежащих жизнеспособных тканей в зону, заполненную фибрином. Позже, через 8-12 суток с формированием регенераторной бластемы в остатках фибрина реакция на VEGF уменьшается. Одновременно высокая концентрация визуализируется в новообразованных эндотелиоцитах, фибробластах и остеобластах.

В фибриновых сгустках, полученных путем центрифугирования крови больных *in-vitro*, также определена положительная реакция на VEGF в фибриновых перегородках, интенсивность реакции аналогична обнаруженной в фибрине в околоотломковой зоне. В отличие от VEGF положительная реакция на трансформирующий фактор роста- β (TGF- β) на всех сроках наблюдения обнаружена в клетках (лейкоцитах, мезенхимальных, фибробластах, остеобластах).

Измерение объема сформированного путем центрифугирования фибринового сгустка показало, что наибольший объем фибрина образуется в группе пациентов с несросшимся переломом с удовлетворительным общим состоянием — $(50,7 \pm 10,3) \text{ см}^3$, а также с монолокальным закрытым переломом — $(38,5 \pm 12,4) \text{ см}^3$. Значительно меньше был объем образовавшегося фибринового сгустка у больных с множественными переломами и политравмой — $(15,9 \pm 4,3) \text{ см}^3$, что связано с кровопотерей и гемоделицией, которая снижает концентрацию фибриногена плазмы крови.

Разработана методика стимуляции аутофибрином процесса регенерации кости, которая предусматривает, что полученные путем центрифугирования фибриновые сгустки пригодны для заполнения дефектов кости в зоне перелома, а также для пластики периостальной зоны вокруг плоскости излома. Фибриновые сгустки могут быть использованы в случае накостного, интрамедуллярного блокированного и внеочагового остеосинтеза аппаратом внешней фиксации (при открытой репозиции отломков). Как стимуляторы костеобразования они могут быть использованы и при свежих, и при несросшихся переломах.

Анализ результатов лечения показал, что на месте аутофибрина, расположенного вокруг зоны перелома, образуется костный регенерат. У всех 27 больных со свежими переломами произошло сращивание отломков в сроки от 3 до 6 мес. Очевидный эффект образования периостального костного регенерата на месте фибрина отмечен у 63 % больных. Среди 33 пациентов, которые имели несращение отломков и которым выполнили повторное хирургическое лечение с использованием аутофибрина (27 человек) и аутофибрина в сочетании с костными трансплантатами (6 человек), сращения достигнуто у 30 больных (91 %).

Ключевые слова: переломы костей, регенерация, хирургическое лечение, фибрин-кровяной сгусток, фактор роста эндотелия сосудов; трансформирующий фактор роста- β .

SUMMARY

Hryhoriev V. V. The use of the biological activity of autofibrin in the surgical treatment of fractures. – The manuscript.

Thesis for the scientific degree of the candidate of medical sciences in specialty 14.01.21 – Traumatology and Orthopedics. – SI «Sytenko Institute of Spine and Joints Pathology National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, 2021.

The research study is based on the course of fracture healing in 60 patients with fresh (27) fractures and nonunion fractures (33). They were performed osteosynthesis with a bone plate (46), intramedullary locked rod (9) and an external fixation device (5). The plastics has been performed using autofibrin obtained from the patient's venous blood during the osteosynthesis of the fragments.

Histologically and immunohistochemically examined fibrin clots were obtained in vitro and from the perineal regions in patients with fractures. Concentration of vascular endothelial growth factor was revealed immediately after their formation in the fibrin membranes. In 8–15 days old clots the intensity of fibrin response to this factor decreased and was manifested mainly in the capillary endotheliums, fibroblasts, and osteoblasts.

Analysis of treatment results showed that there was bone regeneration at the autofibrin site located around the fracture zone. All 27 patients with fresh fractures had their fragments healed in a period of 3 to 6 months. The obvious effect of periosteal bone regeneration at the fibrin site was observed in 63 % of patients. Among 33 patients who had nonunion fractures and who was performed repeated surgery using of autofibrin (27 persons) and autofibrin associated with bone graft (6 persons), healing was achieved in 30 patients (91 %).

Key words: bone fracture; regeneration; surgery treatment; fibrin-blood clot; vascular endothelial growth factor; transforming growth factor- β .