

Лосева М.В.¹, Тимофеев К.А., Измоденова М.Ю.¹, Гилев М.В.¹, Антропова И.П.¹, Юшков Б.Г.²

**СРАВНЕНИЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ
ИМПЛАНТАЦИИ КЕРАМИЧЕСКИХ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ
МАТЕРИАЛОВ**

Кафедра топографической анатомии и оперативной хирургии
Уральский государственный медицинский университет
²ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН
Екатеринбург, Российская Федерация

Loseva M.V.¹, Timofeev K.A.¹, Izmodenova M.Yu.¹, Gilev. M.V.¹, Antropova I.P.¹, Yushkov B.G.²

**COMPARISON OF HEMATOLOGICAL INDICATORS AFTER
IMPLANTATION WITH CERAMIC OSTEOPLASTIC MATERIALS**

Department of topographic anatomy and operative surgery
Ural state medical university
FPFIS Institute of Immunology and Physiology URAN
Yekaterinburg, Russian Federation

E-mail: loseva1998@inbox.ru

Аннотация. В представленной работе проведено сравнительное изучение динамики (4 и 10 недель после операции) гематологических показателей при имплантации керамических остеопластических материалов: бета-трикальций фосфата и цирконата лантана на модели перелома диафиза бедренной кости у морских свинок. По результатам исследования был сделан вывод о возможности применения цирконата лантана как остеотропного материала.

Annotation. In this work, a comparative study of the dynamics (4 and 10 weeks after surgery) of hematological parameters during the implantation of ceramic osteoplastic materials was carried out: beta tricalcium phosphate and lanthanum zirconate on a model of a femur diaphysis fracture in guinea pigs. According to the study, it was concluded that lanthanum zirconate can be used as an osteotropic material.

Ключевые слова: гематологические показатели, имплантация, цирконат лантана, фосфат кальция, морские свинки.

Key words: hematological parameters, implantation, lanthanum zirconate, calcium phosphate, guinea pigs.

Введение

Лечение переломов, является актуальной проблемой современной медицины и требует комплексного подхода. Процесс взаимодействия имплантата и воспринимающего костного ложа сложен и зависит от витальных

функций кости в зоне дефекта, площади контакта имплантата с костью, а также совместимости остеозамещающего материала с окружающей тканью по физико-химическим, биологическим и механическим свойствам. Соблюдение условий биоэквивалентности во многом нивелирует проблему отторжения имплантата вследствие иммунологической реакции или остеорезорбции на границе раздела имплантат – костная ткань. [1]

В современной медицине при операциях по восстановлению целостности поврежденной кости находят широкое применение материалы на основе фосфатов кальция в силу сходства их химического состава с составом костной ткани. Исследуются и представляются перспективными и ряд других керамических материалов, в число которых входит цирконат лантана. [2,3]

Все протекающие в организме процессы, в том числе и репаративная регенерация, находят свое отражение в реактивных изменениях показателей крови. Эти показатели зависят от характера и силы воздействия и могут иметь различную динамику, поэтому по их результатам можно судить об уровне обмена веществ и безопасности остеозамещающих материалов. [4,5] Однако нет данных по сравнительному гематологическому анализу широко используемого фосфата кальция и нового керамического материала – цирконата лантана.

Цель исследования – оценить влияние керамических остеозамещающих материалов на динамику показателей крови в условиях моделирования перелома у морских свинок.

Материалы и методы исследования

Дизайн настоящего исследования был одобрен на ученом совете ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН.

Экспериментальное исследование проводилось на 18 свинок женского пола породы «Американская» массой 800-900 г. в виварии ИИФ УрО РАН. Все животные (n = 18) были разделены на две группы: основная (n = 12) и контрольная (n = 6). Морские свинки основной группы были разделены на две подгруппы в зависимости от типа устанавливаемого остеотропного материала: первая подгруппа (n = 6) – лабораторные животные, которым выполнялась имплантация с использованием синтетического материала бета-трикальций фосфат (β -ТКФ), вторая подгруппа (n = 6) – с использованием нового керамического материала на основе цирконата лантана (ЦЛ) по оригинальной методике. Контрольная группа животных была интактна только по отношению к методам имплантации при сохранении элементов оперативного пособия.

Для изучения остеорегенерации производили перелом диафиза бедренной кости и интрамедуллярное штифтование прутком из цирконата лантана; для изучения остеointegrативных свойств материала на контрлатеральной конечности в большеберцовой кости производили интрамедуллярную имплантацию штифта из цирконата лантана и фосфата кальция без перелома кости. Животные выводились из эксперимента на 4 и 10 неделе после операции.

Все манипуляции с животными проведены с соблюдением требований правил Европейской конвенции по защите животных, используемых для

экспериментальных и других научных целей, международных рекомендации по проведению биологических исследований с использованием животных, принятые международным советом научных обществ (CIOMS) в 1985 г., правил лабораторной практики в РФ (Приказ МЗ РФ №267 от 19.06.2003 г.), Хельсинкской декларации от 2000 г. «О гуманном отношении к животным» и приложении №8 «Правил гуманного отношения к лабораторным животным».

Забор крови осуществляли путем пункции сердца. Манипуляция была выполнена с премедикацией – внутримышечно ксилазин (0,2 мг/кг), под общей анестезией – внутримышечно золетил (0,1 мг/кг) . Производили торакотомию по срединной линии грудины. Иглу для забора крови вводили в левый желудочек. Отбор образцов крови для гематологического анализа производился в вакуумные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта. Для анализа использовался автоматический гематологический анализатор Celly-70 производства BiocodeHuse (Франция). Контрольный материал -СВС-3D производства R&D Systems (США). В крови определяли: показатели красной крови, лейкоцитов, тромбоцитов.

Статистический анализ проводился в рамках правил вариационной статистики, использовались непараметрические методы обработки данных. Для сравнения групп применялся критерий Манна – Уитни. При $p < 0,05$ различия принимались статистически значимыми. Результаты представлены как Медиана [интерквартильный размах].

Результаты исследования и их обсуждение

В таблице 1 приведены показатели крови морских свинок через 4 недели после моделирования перелома. Анализ полученных данных показал, что на фоне применения β -ТКФ наблюдается выраженная тенденция к повышению уровня лейкоцитов по отношению к контрольной группе. Применение ЦЛ существенно повышало уровень лейкоцитов в крови в сравнении с контролем. Причем, данное повышение происходило преимущественно за счет повышения уровня лимфоцитов.

Спустя 4 недели после операции количество эритроцитов не имело значимых различий между группами, однако объем эритроцитов у аугментированных животных был существенно меньше, что привело к значимым различиям в уровне гематокрита. Причем имплантация β -ТКФ приводила к значительно большему снижению среднего объема эритроцитов по сравнению группой ЦЛ. Нужно отметить так же существенно большую гетерогенность эритроцитов по объему при введении имплантатов обоих типов. Несмотря на более мелкий размер клеток, среднее содержание гемоглобина и средняя концентрация гемоглобина в эритроците были существенно выше при имплантации как β -ТКФ, так и ЦЛ.

Количество тромбоцитов через 4 недели после операции в группе ЦЛ не имело различий с контролем, однако в группе β -ТКФ наблюдали значимое снижение тромбоцитов относительно контроля. Интересно отметить, что средний объем тромбоцитов у опытных животных был существенно больше,

чем у контрольных животных. В то же время гетерогенность популяции этих клеток была значительно меньше.

Таблица 1.

Показатели крови морских свинок через 4 недели после операции

Показатели	Группа		
	Контроль	Фосфат кальция	Цирконат лантана
WBC (x10 ⁹ /л)	3,1 [0,5;4,4]	7,5 [2,3;8,9]	9,9 [7,5;19,6]*
Lym (x10 ⁹ /л)	2,0 [0,3;2,3]	2,8 [0,6;3,8]	6,4 [3,0;10,0]*
Mid (x10 ⁹ /л)	0,1 [0,005;0,2]	1,6 [1,1; 2,0]*	1,7 [1,7;4,9]*
Grn (x10 ⁹ /л)	1,0 [0,115;1,9]	1,7 [0,6;4,5]	2,8 [1,8;4,7]
RBC (x10 ¹² /л)	5,88 [4,41;6,19]	5,35 [5,25;5,79]	5,18 [4,92;5,5]
Hb (г/дл)	12,9 [12,1;13,9]	13,5 [13,5;14,0]	13,6 [13,6;14,0]
Hct	50,9 [47,5;54,9]	40,8 [40,6;41,4]*	40,6 [38,8;43,5]*
MCV (фл)	87,9 [86,6;88,7]	76,2 [71,5;77,3]*	78,8 [78,4;79,0]*^
MCH (пг)	22,3 [21,9;22,4]	25,2 [24,2;25,7]*	26,2 [25,4;27,6]*
MCHC (г/дл)	25,3 [25,3;25,4]	33,2 [33,1;33,8]*	33,4 [32,1;35,1]*
RDW (%)	10,6 [10,5;11,7]	15,8 [15,5;16,6]*	15,5 [15,1;15,9]*
Plt (x10 ⁹ /л)	583,0 [444,0;636,0]	370,0 [345,0;416,0]*	530,0 [452,0;590,0]^
Pct	0,28 [0,24;0,33]	0,25 [0,22;0,28]	0,34 [0,28;0,36]
MPV (фл)	5,2 [4,9;5,4]	6,7 [6,4;6,7]*	6,1 [6,1;6,4]*
PDW (%)	16,2 [16,1;16,2]	11,2 [11,2;11,6]*	11,0 [10,5;11,1]*^

Примечание: *- существенные различия с контрольной группой (p<0,05);

^- существенные различия между опытными группами (p<0,05).

Показатели крови морских свинок через 10 недель после операции представлены в таблице 2. Мы обнаружили, что при имплантации β-ТКФ различия с контрольной группой к этому сроку в значительной степени нивелируются. Вместе с тем, при использовании ЦЛ через 10 недель после операции уровень лейкоцитов был существенно ниже, чем в контрольной группе, не являясь, тем не менее, патологическим. Количество тромбоцитов, наоборот, было выше по отношению к контролю и группе β-ТКФ, так же не выходя за пределы нормы.

Таким образом, имплантация керамических материалов в условиях моделирования перелома большеберцовой кости у морских свинок повышает уровень лейкоцитов в 1 месяц после операции, что можно считать отражением более выраженного воспаления, активность которого, тем не менее, нормализуется спустя 2,5 месяца после операции. Некоторое снижение количества и среднего объема эритроцитов через 1 месяц после имплантации керамики компенсируется повышением уровня гемоглобина в клетке. Спустя 2,5 месяца показатели красной крови, наоборот, имеют тенденцию к превышению уровня контрольной группы. Показатели тромбоцитарного звена при имплантации керамических материалов так же не имеют патологических изменений.

Таблица 2.

Показатели крови морских свинок через 10 недель после операции

Показатели	Группа		
	Контроль	Фосфат кальция	Цирконат лантана
WBC (x10 ⁹ /л)	8,0 [7,92;10,6]	4,9 [4,3;15,3]	5,3 [5,2;5,6]*
Lym (x10 ⁹ /л)	5,1 [3,96;7,4]	2,4 [2,2;9,2]	2,0 [1,8;3,6]*
Mid (x10 ⁹ /л)	1,9 [0,55;2,0]	1,4 [1,3;3,8]	1,5 [0,8;1,9]
Grn (x10 ⁹ /л)	1,2 [1,0;3,41]	1,1 [0,8;2,3]	1,6 [1,2;1,7]
RBC (x10 ¹² /л)	4,27 [3,97;5,31]	5,44 [5,21;5,53]	5,32 [4,27;6,15]
Hb (г/дл)	11,22 [9,7;13,2]	13,5 [12,8; 14,2]	13,9 [11,8;15,1]
Hct	32,23 [29,6;40,3]	41,6 [38,3;42,6]	40,2 [33,7;44,9]
MCV (фл)	75,9 [74,5;82,94]	76,5 [73,6;77,0]	75,6 [73,0;79,0]
MCH (пг)	24,9 [24,4;29,04]	24,8 [24,6;25,7]	26,1 [24,6;27,7]
MCHC (г/дл)	32,9 [32,7;38,5]	33,3 [32,4;33,5]	34,5 [33,7;35,0]^
RDW (%)	15,6 [15,07;15,9]	15,5 [14,9;15,6]	15,2 [14,7;15,4]
Plt (x10 ⁹ /л)	387,0 [370,7;411,0]	346,0 [306,0;435,0]	454,0 [451,0;610,0]*^
Pct	0,26 [0,21;0,26]	0,23 [0,21;0,27]	0,29 [0,28;0,41]*^
MPV (фл)	6,4 [6,27;6,6]	6,7 [6,3;6,7]	6,4 [6,2;6,7]
PDW (%)	10,6 [10,01;11,3]	11,1 [10,6;11,3]	11,2 [10,9;11,7]

Примечание: *- существенные различия с контрольной группой ($p < 0,05$);

^- существенные различия между опытными группами ($p < 0,05$).

Выводы

Имплантация керамического остеозамещающего материала цирконата лантана при моделировании перелома не оказывает негативного влияния на гематологические показатели крови экспериментальных животных в течение 2,5 месяцев послеоперационного периода. Учитывая перспективность данного материала, необходимо дальнейшее изучение его osteoconductive и osteoinductive свойств.

Список литературы:

1. Влияние типа остеозамещающего материала на основные механические параметры трабекулярной костной ткани при аугментации импрессионного внутрисуставного перелома. Экспериментальное исследование. / Гилев М.В. [и др.] // Гений ортопедии. – Т 24. - №4. - Курган, 2018. – С. 492-499.

2. Гилев М.В. Хирургическое лечение внутрисуставных переломов проксимального отдела большеберцовой кости // Гений ортопедии. 2014. - № 1. - С. 75-81.

3. Кутепов С.М., Гилев М.В., Антониади Ю.В. Осложнения при хирургическом лечении внутрисуставных переломов проксимального отдела большеберцовой кости // Гений ортопедии. 2013. - № 3. - С. 9-12.

4. Методики клинических лабораторных исследований: справ. пособие / под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Лабора, 2009. – Т. 2. – 304 с.

5. Юшков Б.Г. Понятие нормы в физиологии (физиологические константы лабораторных животных). / Б.Г. Юшков, В.А. Черешнев. – 2016. – 616 с.