

## **ИЗМЕНЕНИЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОЛИКОВ ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ В ИСКУССТВЕННО СОЗДАННЫЙ КОСТНЫЙ ДЕФЕКТ ИМПЛАНТАЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ КСЕНОМАТРИКСА КОСТНОЙ ТКАНИ ЛОШАДИ**

**Лунова С.Н.<sup>1</sup>, Шипицына И.В.<sup>1</sup>, Чепелева М.В.<sup>1</sup>, Дюрягина О.В.<sup>1</sup>, Ковинька М.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*ФГБУ Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, Курган, e-mail: office@ilizarov.ru*

Целью нашей работы было изучить гематологические показатели крови кроликов в динамике после замещения костного дефекта ксеноматериалами на основе костного матрикса лошади. Исследование выполнено на 18 кроликах-самцах породы Шиншилла в возрасте от 6 до 10 месяцев. Животные были поделены на три группы (I – без заполнения костного дефекта, II – заполнение дефекта материалом на основе ксеноматрикса лошади, III – заполнение дефекта ксеноматриксом лошади совместно с комплексом антибактериальных препаратов). Забор крови производили венепункцией краевой вены уха. Гематологические показатели крови определяли на соответствующих сроках эксперимента (дооперационный уровень, 3-и, 7-е, 14-е, 30-е сутки после операции). Согласно результатам проведенного исследования у экспериментальных животных наблюдали умеренную эритроцитопению и лейкоцитоз, снижение концентрации гемоглобина и повышение концентрации тромбоцитов относительно дооперационных значений. Выявленные незначительные сдвиги в показателях периферической крови в раннем послеоперационном периоде связаны с ответной реакцией организма на оперативное вмешательство. Результаты исследования показали, что воспалительный процесс при заполнении костных дефектов ксеноматриксом лошади не выходил за рамки общего адаптационного синдрома, развивающегося после оперативного вмешательства.

Ключевые слова: имплантационный материал, ксеноматериал, костный дефект, гематологические показатели крови

## **CHANGING THE RABBITS' HEMATOLOGICAL VALUES AFTER INTRODUCING IMPLANTATION MATERIAS BASED ON THE HORSE BONE TISSUE XENOMATRIX INTO THE ARTIFICIALLY PRODUCED BONE DEFECT**

**Luneva S.N.<sup>1</sup>, Shipitsyna I.V.<sup>1</sup>, Chepeleva M.V.<sup>1</sup>, Diuriagina O.V.<sup>1</sup>, Kovinka M.A.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*FSBI Russian Ilizarov Scientific Center «Restorative Traumatology and Orthopaedics» of the RF Ministry of Health, Kurgan, e-mail: office@ilizarov.ru*

The aim of our work was to study the blood hematological values of rabbits dynamically after bone defect filling with xenomaterials based on the horse bone matrix. 18 male Chinchilla rabbits at the age of 6-10 months were used in the study. The animals were divided into three groups (I – without bone defect filling, II – the defect filling with the material based on the horse xenomatrix, III – the defect filling with the horse xenomatrix together with a complex of antibacterial preparations). Blood sampling was performed by venipuncture of the regional ear vein. Hematological blood values were determined at the appropriate periods of the experiment (pre-operatively, 3, 7, 14, 30 days after surgery). According to the results of the performed study, the experimental animals demonstrated moderate erythrocytopenia and leukocytosis, the decrease in hemoglobin concentration and the increase in blood platelet concentration. The identified insignificant shifts in peripheral blood values in the early postoperative period are associated with the organism's response to surgical intervention. As the study results demonstrated, when bone defect filling with the horse xenomatrix the inflammatory process did not go beyond the general adaptation syndrome developing after surgical intervention.

Keywords: implantation material, xenomaterial, bone defect, blood hematological values

На сегодняшний день в области реконструктивной хирургии для восстановления целостности кости применяются остеопластические материалы различного происхождения (аутогенные, аллогенные, ксеногенные и аллопластические). Критерием выбора костно-пластических материалов в зависимости от вида костной пластики является наличие таких

свойств, как моделируемость; резорбируемость, остеокондуктивность; остеоиндуктивность и др. [1–3]. Так, например, аутогенные материалы, обладая хорошими остеоиндуктивными свойствами, подвержены быстрой резорбции в условиях организма [4, 5]. Аллогенные препараты характеризуется низкой способностью к остеоинтеграции, не участвуют в процессах остеогенеза, обладают слабыми остеоиндуктивными свойствами [6, 7]. Ксеногенные материалы обладают как остеоиндуктивными, так и остеокондуктивными свойствами, однако их применение требует использования защитной мембраны [8, 9]. Аллопластические материалы в основном используются в качестве биологических наполнителей при недостатке аутогенной кости [10].

В то же время имплантация любого чужеродного агента влечет за собой воспалительный ответ, интенсивность которого будет зависеть от иммунологической совместимости остеопластических материалов. Несмотря на широкий спектр исследований, связанных с применением костно-пластических материалов, наблюдается дефицит работ, посвященных изучению гематологических и биохимических показателей крови пациентов, отражающих физиологическое состояние пациента после установки импланта.

В связи со сказанным актуальными являются накопление и анализ клинических данных, позволяющих судить о течении репаративных процессов после замещения костных дефектов имплантами различного происхождения.

Цель исследования: изучить гематологические показатели крови кроликов в динамике после замещения костного дефекта ксеноматериалами на основе костного матрикса лошади.

**Материалы и методы исследования.** Исследование выполнено на 18 кроликах-самцах породы Шиншилла в возрасте от 6 до 10 месяцев, средний вес  $3,6 \pm 0,1$  кг.

Цилиндрический костный дефект, сформированный на медиальной поверхности дистального метафиза большеберцовой кости при помощи стоматологической фрезы размером 2х6 мм в соответствии с ГОСТ Р ИСО 10993-1-2009, заполняли имплантационным материалом на основе ксеноматрикса лошади. В I (контрольную) группу вошли животные без заполнения костного дефекта имплантационным материалом (n=6), во II (n=6) – костный дефект заполняли ксеноматриksom костной ткани лошади; в III (n=6) – ксеноматриksom лошади совместно с комплексом антибактериальных препаратов. В течение 3 суток после оперативного вмешательства проводилась стандартная антибактериальная терапия: инъекция раствора энроксила 10% в дозе 0,5 мл в сутки и обезболивание инъекцией диклофенака в дозе 0,5 мл в сутки. Забор крови производили венепункцией краевой вены уха. Гематологические показатели крови определяли на полуавтоматическом геманализаторе ABX PENTRA 60 (Horiba ABX, Франция – Япония) на соответствующих сроках эксперимента (дооперационный уровень, 3-и, 7-е, 14-е, 30-е сутки после операции).

Анализировали следующие гематологические показатели: количество эритроцитов (RBC), количество лейкоцитов (WBC), гемоглобин (HGB), гематокрит (HCT), средний объем эритроцита (MCV), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), среднюю концентрацию гемоглобина в эритроците (MCHC), коэффициент анизотропии (RDW), тромбоциты (PLT), средний объем тромбоцита (MPV), ширину распределения тромбоцитов (PDW).

Статистическая обработка полученных данных выполнена с помощью программного обеспечения AtteStat Версия 13.0. Цифровые данные представлены в виде медианы (Me), 25% и 75% квартилей (Q25 – Q75); для принятия или отклонения нулевой гипотезы при сравнении групп использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Различия между группами наблюдений считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Для исследования получено одобрение этического комитета. Эксперимент проведен при соблюдении принципов гуманного обращения с лабораторными животными в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей; «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу Минздрава СССР от 12.08.1977 № 755); требованиями инструкции № 12/313 Министерства здравоохранения РСФСР «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментальных биологических клиник» от 06.01.1973 г.

### **Результаты исследования и обсуждение**

В ранний послеоперационный период в зонах оперативного вмешательства наблюдали асептическое воспаление: гиперемию краев раны, умеренный послеоперационный отек, наличие серозного отделяемого. Температура тела животных повышалась на 0,2–0,3°C, потеря в весе составила не более 350 г. Аппетит восстанавливался к 5–7-м суткам. На 7-е сутки исчезали признаки асептического воспаления. К 10-м суткам наблюдали заживление ран.

Содержание лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, гематокрита и тромбоцитов в дооперационном периоде не имело статистически значимых межгрупповых отличий (таблица).

Гематологические показатели крови кроликов

Гематологические показатели	Группы	Срок эксперимента, сутки				
		До операции	3-и сутки	7-е сутки	14-е сутки	30-е сутки

Лейкоциты (WBC), x10 <sup>9</sup> /л	I (n=6)	8,4 (7,2; 9,6)	<b>12,9*</b> (11,9; 13,0)	<b>13,1*</b> (12,8; 14,0)	7,8 (6,2; 7,6)	9,6 (8,9;10,2)
	II (n=6)	8,4 (7,9; 9,4)	<b>12,8*</b> (11,9; 13,4)	10,4 (9,9; 11,2)	8,8 (8,5; 9,7)	9,4 (8,7; 9,9)
	III (n=6)	8,5 (8,0; 9,8)	<b>12,8*</b> (11,0; 12,9)	11,0 (9,8; 11,4)	8,6 (7,2; 10,2)	9,2 (8,9; 10,1)
Эритроциты (RBC), x10 <sup>12</sup> /л	I (n=6)	6,8 (6,7; 7,2)	<b>5,2*</b> (4,6; 6,3)	<b>5,9*</b> (5,6; 6,1)	6,6 (6,4; 6,9)	6,9 (6,7; 7,0)
	II (n=6)	6,9 (6,6; 7,1)	6,1 (5,9; 6,3)	6,1 (5,7;6,2)	6,4 (6,3;6,7)	7,2 (6,9; 7,3)
	III (n=6)	6,9 (6,6;7,2)	6,2 (5,9; 6,4)	6,1 (5,7;6,2)	6,5 (6,3;6,8)	6,9 (6,8; 7,1)
Гемоглобин (HGB), г/л	I (n=6)	155,7 (144,1; 159,9)	<b>126,8*</b> (120,4; 145,1)	<b>119,5*</b> (118,6; 124,9)	141,5 (139,9; 143,5)	142,5 (141,4; 144,6)
	II (n=6)	152,1 (149,0; 154,3)	130,6 (121,2; 136,1)	135,1 (132,1; 136,0)	135,1 (129,4; 136,8)	147,7 (145,5; 151,2)
	III (n=6)	153,3 (148;1;156,0)	133,2 (129,1; 130,0)	131,5 (129,8; 134,6)	134,5 (132,2; 138,9)	146,8 (142,4; 148,0)
Гематокрит (HCT), %	I (n=6)	42,4 (41,2; 43,3)	<b>35,9*</b> (39,8; 41,2)	<b>34,8*</b> (32,9; 41,1)	42,1 (41,4; 43,2)	43,4 (42,2; 43,9)
	II (n=6)	45,9 (44,6; 46,2)	39,3 (38,9; 40,1)	40,8 (40,1; 41,2)	40,7 (39,8; 41,2)	45,1 (44,6; 47,4)
	III (n=6)	44,5 (43,8; 45,1)	37,8 (37,0; 39,1)	40,6 (40,0; 42,2)	45,1 (44,8; 46,2)	43,7 (42,6; 44,1)
Средний объем эритроцита (MCV), фл	I (n=6)	63,6 (62,8; 64,5)	63,0 (62,6; 63,6)	62,9 (62,4; 63,6)	63,4 (63,1; 64,2)	63,0 (62,2; 64,0)
	II (n=6)	63,8 (63,0; 65,4)	65,2 (64,9; 66,3)	64,2 (63,8; 65,3)	64,2 (63,7; 65,6)	62,7 (61,9; 63,2)
	III (n=6)	64,4 (63,9; 65,4)	63,9 (62,8; 64,1)	63,5 (63,1; 66,2)	65,1 (63,5; 66,2)	63,4 (63,1; 64,1)
Среднее	I	21,6	<b>19,9*</b>	21,1	21,4	20,7

содержание гемоглобина (MCH), пг.	(n=6)	(21,5; 21,8)	(19,6; 20,2)	(21,0; 21,4)	(21,0; 21,9)	(20,5; 20,9)
	II	21,8	21,6	21,2	21,2	20,5
	(n=6)	(21,6; 22,0)	(21,2; 22,0)	(21,1; 21,4)	(21,0; 21,6)	(20,1; 20,8)
	III	22,1	21,7	21,4	20,9	20,4
	(n=6)	(22,0; 22,4)	(21,6; 21,8)	(21,0; 21,5)	(20,7; 21,2)	(20,0; 21,1)
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/л	I	344	<b>321,2*</b>	<b>321,9*</b>	335,7	327,6
	(n=6)	(315,2; 351,1)	(319,4; 332,5)	(308,8; 364,6)	(305,5; 340,8)	(315,6; 366,6)
	II	338	331,1	331,1	331,1	329,7
	(n=6)	(329,1; 344,0)	(321,6; 342,4)	(325,5; 349,8)	(325,5; 345,9)	(300,9; 340,6)
	III	342,2	338,8	327,7	329,2	332,2
	(n=6)	(332,2; 354,0)	(328,8; 354,2)	(309,9; 336,9)	(325,4; 333,3)	(315,8; 338,9)
Коэффициент анизотропии эритроцитов (RDW), %	I	12,7	12,9	12,8	12,7	12,8
	(n=6)	(12,5; 12,9)	(12,8; 13,3)	(12,4; 12,9)	(12,4; 13,0)	(12,3; 13,1)
	II	12,8	13,0	12,8	12,7	12,6
	(n=6)	(12,4; 12,9)	(12,9; 13,1)	(12,2; 12,9)	(12,2; 12,9)	(12,1; 12,8)
	III	12,6	12,8	12,8	12,8	12,4
	(n=6)	(12,2; 12,8)	(12,5; 12,9)	(12,3; 13,2)	(12,6; 13,1)	(11,9; 12,7)
Тромбоциты (PLT), $\times 10^9/\text{л}$	I	458,8	546,7	479,6	533,6	460,5
	(n=6)	(397,9; 500,7)	(490,8; 580,9)	(388,9; 504,5)	(460,1; 580,6)	(430,0; 510,5)
	II	427,6	463,0	421,9	421,9	438,1
	(n=6)	(388,9; 450,9)	(390,6; 550,0)	(344,4; 500,4)	(360,2; 468,4)	(395,9; 470,8)
	III	462,2	<b>645,2*</b>	<b>639,7*</b>	627,3	534,8
	(n=6)	(390,9; 510,4)	(534,4; 680,8)	(578,8; 640,4)	(580,4; 655,3)	(490,4; 560,3)
Средний объем тромбоцита (MPV), фл	I	6,3	6,4	6,2	6,2	6,3
	(n=6)	(5,9; 6,6)	(6,3; 6,6)	(6,0; 6,4)	(5,9; 6,3)	(6,0; 6,5)
	II	6,6	6,5	6,3	6,3	6,5
	(n=6)	(6,3; 6,8)	(6,3; 6,6)	(5,9; 6,4)	(6,0; 6,5)	(6,4; 6,8)
	III	5,9	6,5	5,7	5,7	5,8

	(n=6)	(5,7; 6,1)	(6,3; 6,6)	(5,6; 5,9)	(5,4; 5,9)	(5,4; 5,9)
Ширина распреде- ления тромбоцитов (PDW), %	I	11,6	<b>14,2*</b>	13,6	13,5	13,8
	(n=6)	(11,2; 12,0)	(13,6; 15,1)	(12,5; 13,9)	(11,9; 14,2)	(12,0; 14,1)
	II	11,8	13,1	12,4	12,8	13,4
	(n=6)	(11,0; 12,8)	(12,4; 13,9)	(12,0;13,2)	(11,9; 13,4)	(12,8; 14,1)
III	12,3	<b>14,5*</b>	<b>14,8*</b>	14,0	13,9	
(n=6)	(11,9; 12,4)	(14,3; 15,6)	(16,3,7; 15,8)	(13,8; 14,7)	(13,5; 14,0)	

Примечание\*: уровень значимости различий по сравнению с дооперационными значениями при  $p < 0,05$

По данным различных авторов, референтные значения лейкоцитов у кроликов колеблются от  $3,8 \times 10^9$  до  $12,0 \times 10^9$  в 1 л, эритроцитов – от  $6,4 \times 10^{12}$  до  $8,9 \times 10^{12}$  в 1 л, гемоглобина – от 72 до 160 г/л, тромбоцитов – от  $126 \times 10^6$  до  $330 \times 10^6$  в 1 л (иногда до  $990 \times 10^6$ /л). В нашем исследовании дооперационные значения эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина крови соответствовали референтным интервалам, принятым в качестве физиологической нормы. Количество тромбоцитов в дооперационном периоде колебалось от  $388 \times 10^6$  до  $510 \times 10^6$  в 1 л.

В послеоперационном периоде в контрольной группе наблюдали снижение числа эритроцитов, что приводило к значимому снижению концентрации гемоглобина и гематокрита. Также в течение первых двух недель происходило снижение показателей МСН и МСНС (содержание и концентрация гемоглобина в эритроците соответственно). В течение всего эксперимента незначительно изменялись размеры эритроцитов, увеличивалась ширина распределения их по объему. Содержание лейкоцитов значимо увеличивалось на 3-и и 7-е сутки после операции. Изменения количества тромбоцитов, их среднего объема и ширины были незначительны. К концу эксперимента исследуемые гематологические показатели значимо не отличались от дооперационных.

В опытных группах в раннем послеоперационном периоде наблюдали лейкоцитоз, незначительную эритроцитопению, снижение гемоглобина и гематокрита с нормализацией показателей к 14-м суткам. В ходе эксперимента наблюдали умеренные колебания эритроцитарных индексов. В группе с трансплантацией ксеноматрикса лошади совместно с комплексом антибактериальных препаратов (III группа) на 3-и, 7-е сутки наблюдали значимое повышение количества тромбоцитов относительно дооперационных значений, увеличивалась ширина распределения их по объему. Во II опытной группе количество тромбоцитов в течение всего исследования было в пределах дооперационных значений.

В работе по изучению динамики показателей лейкограммы в процессе применения имплантационных материалов различного происхождения, созданных на основе внеклеточного матрикса ксенокости, установлено, что наиболее благоприятные изменения показателей белой крови отмечаются в группе с трансплантацией ксеноматрикса костной ткани лошади [11]. В другой работе авторы в сформированный дефект большеберцовой кости вводили препарат, содержащий ионы лантаноидов и кальция. При этом наблюдали незначительные изменения гематологических параметров, характерных для воспалительного процесса, сопровождающего репаративную регенерацию мягких и костных тканей [12].

Согласно проведенному нами исследованию у животных после заполнения костного дефекта ксеноматриksom лошади в ранний послеоперационный период наблюдаются умеренная эритроцитопения и лейкоцитоз, снижение концентрации гемоглобина и повышение концентрации тромбоцитов относительно дооперационных значений. Выявленные незначительные сдвиги в показателях периферической крови в раннем послеоперационном периоде связаны с ответной реакцией организма на оперативное вмешательство. Отсутствие выраженных изменений со стороны гематологических показателей крови в ответ на заполнение костного дефекта ксеноматриksom лошади свидетельствует о благоприятном течении восстановительного периода. Менее выраженные изменения клеточного состава периферической крови после использования ксеноматериалов могут быть обусловлены биологической инертностью и антисептическими свойствами ксеногенной кости.

**Заключение.** Результаты исследования показали, что воспалительный процесс при заполнении костных дефектов ксеноматриksom лошади не выходил за рамки общего адаптационного синдрома, развивающегося после оперативного вмешательства.

### Список литературы

1. Кирилова И.А., Подорожная В.Т., Легостаева Е.В., Шаркеев Ю.П., Уваркин П.В., Аронов А.М. Костно-пластические биоматериалы и их физико-механические свойства // Хирургия позвоночника. 2010. №1. С.81-87. DOI: 10.14531/ss2010.1.81-87.
2. Шестакова В.Г., Некрасова И.Л., Шабанов Р.А., Донсков С.А. Экспериментальное исследование влияния остеопластического материала на репарацию костной ткани // Журнал анатомии и гистопатологии. 2015. №4(4). С. 62-66. DOI:10.18499/2225-7357-2015-4-4-62-66.
3. Бартов М.С., Карягина А.С., Громов А.В., Мишина Д.М., Трунова Г.В., Сидорова Е.И., Андреева Е.В., Донченко С.В., Мухаметов Ф.Ф., Мухаметов У.Ф., Миргазизов М.З., Миргазизов А.М., Хафизов Р.Г., Лунин В.Г., Филиппова Н.Е., Гинцбург А.Л.

Остеопластические препараты нового поколения «ГАМА-ЛАНТ», содержащие факторы роста и регенерации костной ткани // Кафедра травматологии и ортопедии. 2012. №2. С. 21-25.

4. Афанасьев Д.С., Скороглядоев А.В., Копенкин С.С., Бут - Гусаим А.Б., Зинченко А.В., Розаев В.Ю. Сравнительный анализ использования аутоотрансплантата из связки надколенника и учетверенного сухожильного трансплантата *M. semitendinosus* и *M. gracilis* для пластики ПКС // VIII Конгресс Российского артроскопического общества: программа и тезисы. СПб.: Человек и его здоровье, 2009. 104 с.

5. Подгайский В.Н., Ладутько Д.Ю., Мечковский С.Ю., Батюков Д.В., Подгайский А.В., Мечковский С.С., Петрова Д.Ю., Держинский И.Э. Аутоотрансплантация васкуляризованных костных лоскутов как метод лечения дефектов костей различной этиологии // Хирургия. Восточная Европа. 2012. №2. С.102-113.

6. Подорожная В.Т., Садовой М.А., Кирилова И.А., Шаркеев Ю.П., Легостаева Е.В. Аллогенные костные материалы: структура, свойства, применение // Известия высших учебных заведений. Физика. 2013. №56 (12/3). С.14-21.

7. Кириллова И.А., Фомичев Н.Г., Подорожная В.Т., Трубников В.И. Новые виды материалов для костной пластики в свете современных представлений о костных трансплантатах // Хирургия позвоночника. 2007. №2. С. 66-70. DOI: 10.14531/ss2007.2.66-70.

8. Накоскин А.Н., Дюрягина О.В., Ковинька М.А. Замещение дефектов кости у кроликов ксеноимплантатами на основе костной ткани // Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии: Сборник тезисов VII Всероссийского симпозиума с международным участием. Астрахань, 2017. С. 142-145.

9. Мудрая В.Н., Степаненко И.Г., Шаповалов А.С. Применение костнопластических материалов в современной стоматологии // Украинский журнал клинической лабораторной медицины. 2010. №5(1). С.52-57.

10. Мухтиар Хуссаин. Экспериментальное изучение реакции тканей на аллопластические материалы при герниопластике // Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья. 2007. №27. С.46-52.

11. Лунева С.Н., Чепелева М.В., Сбродова Л.И., Шипицына И.В., Ковинька М.А., Дюрягина О.В. Динамика показателей лейкограммы в процессе применения имплантационных материалов различного происхождения, созданных на основе внеклеточного матрикса ксенокости // Ветеринария Кубани. 2017. №3. С.25-27.

12. Шакирова Ф.В., Житлова Е.А. Изменение гематологических показателей экспериментальных животных при введении препарата на основе этидронатов лантаноидов и

кальция в дефект большеберцовой кости // Вестник алтайского государственного аграрного университета. 2016. №5(139). С.149-152.