

ВЛИЯНИЕ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ТРОМБОЦИТОВ НА МЕХАНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СИСТЕМЫ «КОСТНАЯ ТКАНЬ — ИМПЛАНТАТ» В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Д.А. Челчушев¹, И.П. Антропова², Д.В. Зайцев³

^{1, 2} ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург, Россия

³ ФГБОУ ВО Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный горный университет», Екатеринбург, Россия

³ ФГБОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Екатеринбург, Россия

¹ ortoped80@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6179-8878>

² aip.hemolab@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2430-002X>

³ dmitry.zaytsev@urfu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8045-5309>

Аннотация

Применение биологических материалов на основе тромбоцитов привлекает особое внимание в регенеративной медицине. Цель работы — изучить особенности механических свойств системы «периимплантная костная ткань — имплантат» в зависимости от морфофункциональных свойств тромбоцитов в условиях имплантации титанового стержня в бедренную кость кроликов. Определяли количество тромбоцитов, средний объем (MPV), тромбоцитрит, отношение крупных тромбоцитов к их общему количеству, АДФ-индуцированную агрегацию. При проведении механических испытаний определяли максимальную нагрузку на систему «периимплантная кость — имплантат» и ее упругие свойства. В соответствии с результатом дооперационного определения морфофункциональных характеристик тромбоцитов кролики были разделены на 2 группы: с низким тромбоцитарным потенциалом (НТП) и высоким тромбоцитарным потенциалом (ВТП). Определение механических параметров системы «периимплантная костная ткань — имплантат» показало, что в группе НТП максимальная нагрузка была ниже, чем в группе ВТП. В то же время по параметру, характеризующему упругость (Elastic), значимых различий не выявлено. Количество, а также морфофункциональные характеристики циркулирующих в крови тромбоцитов оказывают значимое влияние на прочностные характеристики новообразованной периимплантной костной ткани.

Ключевые слова: тромбоциты, регенерация, костная ткань, механические свойства, кролики.

Для цитирования: Челчушев, Д. А. Влияние морфофункциональных свойств тромбоцитов на механические характеристики системы «костная ткань — имплантат» в эксперименте / Д. А. Челчушев, И. П. Антропова, Д. В. Зайцев // Уральский медицинский журнал. — 2022. — Т. 21, № 2. — С. 59-62. — <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2022-21-2-59-62>.

@ Челчушев Д.А., Антропова И.П., Зайцев Д.В.
@ Chelchushev D.A., Antropova I.P., Zaitsev D.V.

INFLUENCE OF MORPHOFUNCTIONAL PROPERTIES OF PLATELETS ON THE MECHANICAL CHARACTERISTICS OF THE «BONE TISSUE-IMPLANT» SYSTEM IN THE EXPERIMENT

D.A. Chelchushev ¹, I.P. Antropova ², D.V. Zaitsev ³

^{1, 2} Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia

³ Ural Federal University, Ekaterinburg, Russia

³ Ural State Mining University, Ekaterinburg, Russia

¹ ortoped80@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6179-8878>

² aip.hemolab@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2430-002X>

³ volokitina_elena@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5994-8558>

⁴ dmitry.zaitsev@urfu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8045-5309>

⁵ axr@usma.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3069-8150>

Abstract

The use of platelet-based biological materials attracts special attention in regenerative medicine. The aim of the work was to study the peculiarities of mechanical properties of the system «peri-implant bone tissue-implant» depending on the morphofunctional properties of platelets under conditions of titanium rod implantation into the femur bone of rabbits. The number of platelets, mean volume (MPV), thrombocrit, ratio of large platelets to their total number, and ADP-induced aggregation were determined. During mechanical testing, we determined the maximum load on the «peri-implant bone-implant» system and its elastic properties. According to the result of preoperative determination of the morphofunctional characteristics of the platelets, the rabbits were divided into 2 groups: low platelet potential (LTP) and high platelet potential (HPP). Determination of the mechanical parameters of the «peri-implant bone tissue-implant» system showed that the maximum load in the NTP group was lower than in the VTP group, at the same time, no significant differences were found in the parameter characterizing elasticity (Elastic). The number as well as the morphofunctional characteristics of the circulating platelets in the blood have a significant impact on the strength characteristics of the newly formed peri-implant bone tissue.

Keywords: platelets, regeneration, bone tissue, mechanical properties, rabbits.

For citation:

Chelchushev, D. A. Influence of morphofunctional properties of platelets on the mechanical characteristics of the «bone tissue-implant» system in the experiment / D. A. Chelchushev, I. P. Antropova, D. V. Zaitsev // Ural medical journal. – 2022. – Vol. 21 (2). – P. 59-62. – <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2022-21-2-59-62>.

ВВЕДЕНИЕ

Основным методом лечения тяжелых форм дегенеративных поражений тазобедренного сустава является хирургический, а именно эндопротезирование [1-3]. Кровопотеря, венозный тромбоз, асептическая нестабильность компонентов протеза и перипротезная инфекция — наиболее тяжелые осложнения, встречающиеся в ближайшем и отдаленном послеоперационных периодах [4-8]. Регенеративные технологии рассматриваются в настоящее время как один из способов повышения эффективности лечения и профилактики осложнений при проведении ортопедических операций [9, 10]. Особое внимание в регенеративной медицине приобрела проблема применения биологических материалов на основе тромбоцитов [11, 12]. Однако результаты проведенных на сегодняшний день исследований неоднозначны, что в значительной степени связано с недостаточной изученностью влияния функциональной активности тромбоцитов на регуляцию репаративного остеогенеза и свойства перимплантной кости.

Цель работы — изучить особенности механических свойств системы «перимплантная костная ткань — имплантат» в зависимости от морфофункциональных свойств тромбоцитов в

условиях имплантации титанового стержня в бедренную кость кроликов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на 15 кроликах породы Шиншилла массой 3–3,5 кг. Животные содержались в виварии Уральского государственного медицинского университета, были здоровы, имели ветеринарный сертификат качества и состояния здоровья. Животные находились в идентичных условиях кормления и содержания. Эксперимент проводился в соответствии с «Методическими рекомендациями по содержанию лабораторных животных в вивариях научно-исследовательских институтов и учебных заведений» РД-АПК 3.10.07.02-09». Имплантацию титанового стержня осуществляли по принципу press fit в канал 0,2×0,6 см, который рассверливали в области надмыщелка бедренной кости перпендикулярно оси. Забор венозной крови осуществляли до операции в вакуумные пробирки, содержащие 3,8% цитрат натрия. Автоматический гематологический анализатор Sysmex XN-1000 использовали для исследования тромбоцитарных гематологических показателей: количество тромбоцитов, средний объем тромбоцита (MPV), тромбоцитрит, отношение крупных тромбоцитов к их общему количеству. Определение АДФ-индуцированной

агрегации тромбоцитов проводили турбидиметрическим оптическим методом на анализаторе ChronoLog 700.

Для механических испытаний на одноосное сжатие изготавливали образцы высотой 8 мм (по 2 образца от каждого животного, включенного в эксперимент). Торцевые стороны образцов полировали для достижения плоскопараллельности. Окончательная высота образцов составила 6 мм. Механические испытания образцов на одноосное сжатие было проведено на испытательной машине Shimadzu AG-X 50kN (Япония) со скоростью нагружения 1 мм/мин. Определяли максимальную нагрузку на систему «периимплантная кость — имплантат» и ее упругие свойства.

Для статистической обработки данных использовали программы Statistica 10.0. Сравнение групп проводили с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Результат выражали как медиана [интерквартильный интервал]. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В соответствии с результатом дооперационного определения морфофункциональных характеристик тромбоцитов, рассчитанных с использованием тромбоцитарных параметров, кролики были разделены на 2 группы: группа с низким уровнем тромбоцитарного потенциала (НТП) и группа с высоким тромбоцитарным потенциалом (ВТП). Перед операцией в группах НТП и ВТП соответственно уровень тромбоцитов крови составлял $349 [320; 392] \times 10^9/\text{л}$ и $464 [396; 484] \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$); средний объем тромбоцитов — $6,7 [6,7; 7,0]$ фл и $7,2 [6,9; 7,5]$ фл ($p < 0,05$); тромбокрит — $0,255 [0,215; 0,270]\%$ и $0,335 [0,295; 0,340]\%$ ($p < 0,01$); АДФ ($2,5 \text{ мкМ}$) индуцированная агрегация — $31,5 [27,0; 37,5]\%$ и $41,5 [35,0; 42,5]\%$ ($p < 0,05$). Определение механических параметров системы «периимплантная костная ткань — имплантат» показало, что в группе НТП максимальная нагрузка (Max strain) была ниже, чем в группе ВТП: $7,2 [4,5; 8,6]\%$ и $9,0 [8,2; 10,4]\%$ ($p < 0,05$) соответственно. В то же время по параметру, характеризующему упругость (Elastic), значимых различий не выявлено: $0,069 [0,043; 0,076]$ ГПа и $0,046 [0,026; 0,082]$ ГПа в группах НТП и ВТП соответственно.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Основные тренды в эндопротезировании тазобедренного сустава на основании данных регистра артропластики НМИЦ ТО им. Р.Р. Вредена с 2007 по 2020 г / Шубняков И. И., Риахи А., Денисов А. О. [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2021. – Т. 27. № 3. – С. 119-142.
2. Standard versus custom-made acetabular implants in revision total hip arthroplasty / Tikhilov R. M., Dzhavadov A. A., Kovalenko A. N. [et al.] // Journal of Arthroplasty. – 2022. – Т. 37, № 1. – С. 119-125.
3. Soffin EM, Wainwright TW. Hip and Knee Arthroplasty // Anesthesiol Clin. – 2022 Mar;40(1):73-90. doi: 10.1016/j.anclin.2021.11.003.
4. Остеопороз как фактор риска асептической нестабильности при эндопротезировании тазобедренного сустава / Родионова С. С., Нуждин В. И., Морозов А. К., Ключниченко И. В. // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2007, № 2. – С. 35-40.
5. Ревизионное эндопротезирование при асептической нестабильности вертлужного компонента / Г. М. Кроитор, М. И. Дарчук, О. П. Пулбер [и др.] // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2008. – № 4. – С. 67-70.
6. Парапротезные переломы проксимального отдела бедренной кости при эндопротезировании тазобедренного сустава в ФГУ «32 ЦВМКГ» / Грицюк А. А., Середа А. П., Кострица А. Н. [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2009. – № 3 (53). – С. 122-124.
7. Lieberman J. R., Bell J. A. Venous Thromboembolic Prophylaxis After Total Hip and Knee Arthroplasty // J Bone Joint Surg Am. – 2021. Aug 18;103(16):1556-1564. doi: 10.2106/JBJS.20.02250.
8. Tranexamic acid use to decrease blood loss in primary shoulder and elbow replacement: A systematic review and meta-analysis. / Donovan R. L., Varma J. R., Whitehouse M. R. [et al.] // J Orthop. – 2021 Mar 18;24:239-247. doi: 10.1016/j.jor.2021.03.003.
9. Engineering multi-tissue units for regenerative Medicine: Bone-tendon-muscle units of the rotator cuff / Wang D., Zhang X., Huang S. [et al.] // Biomaterials. – 2021 May;272:120789. doi: 10.1016/j.biomaterials.2021.120789.

ОБСУЖДЕНИЕ

Важнейшим участником регенерации тканей организма являются тромбоциты. В процессе репаративного остеогенеза активированные тромбоциты являются первыми клетками, контактирующими с травмированными тканями и поверхностью имплантатов; они катализируют формирование стабильного сгустка, который помимо обеспечения гемостаза, является механическим и биохимическим компонентом, необходимым для привлечения и миграции остеогенных клеток [13]. Именно сгусток функционирует как биodeградируемая матрица, и тромбоциты служат важным источником сигнальных молекул, опосредующих остеоиндукцию [14].

Состав и структура органических и неорганических компонентов кости в значительной мере определяют ее механические свойства [15]. Это дает основание предположить, что популяционный спектр и морфофункциональное состояние тромбоцитов, контактирующих с имплантатом, формирующих регенеративную матрицу и стимулирующих остеогенез оказывают влияние и на механические свойства периимплантной кости.

Механические свойства костной ткани описываются рядом параметров. В частности, максимальное напряжение характеризует максимальную нагрузку, которую кость выдерживает без разрушения; упругость указывает насколько можно деформировать кость без фатальных изменений в ее структуре. Наша работа показала, что большее количество тромбоцитов большего объема и более высокой агрегационной активности стимулируют формирование более прочной кости.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Количество, а также морфофункциональные характеристики циркулирующих в крови и принимающих непосредственное участие в остеогенезе тромбоцитов оказывают значимое влияние на прочностные характеристики новообразованной периимплантной костной ткани. Дальнейшие исследования позволят определить терапевтический потенциал и эффективность в регенераторном процессе популяций тромбоцитов, имеющих различные функциональные особенности.

10. Tissue-specific engineering: 3D bioprinting in regenerative medicine / Wang Z., Kapadia W., Li C. [et al.] // J Control Release. – 2021 Jan 10;329:237-256. doi: 10.1016/j.jconrel.2020.11.044.
11. The use of platelet-rich plasma in studies with early knee osteoarthritis versus advanced stages of the disease: a systematic review and meta-analysis of 31 randomized clinical trials. / Vilchez-Cavazos F., Blázquez-Saldaña J., Gamboa-Alonso A. A. [et al.] // Arch Orthop Trauma Surg. – 2022 Jan 19. doi: 10.1007/s00402-021-04304-1.
12. A New Treatment for the Reconstruction of the Medial Compartment of the Ankle: The Combined Use of Biological Materials. / Lughì M., Campagna A., Purpura V., Bondioli E. // Joints. – 2021 Jun 18;7(4):228-232. doi: 10.1055/s-0041-1730380.
13. Platelet adhesion on commercially pure titanium plates in vitro I: effects of plasma components and involvement of the von Willebrand factor and fibronectin. / Takahashi S., Tsujino T., Isobe K. [et al.] // Int J Implant Dent. – 2019 Feb 25;5(1):5. doi: 10.1186/s40729-019-0160-z.
14. Ozaki Y., Tamura S., Suzuki-Inoue K. New horizon in platelet function: with special reference to a recently-found molecule, CLEC-2 // Thromb J. – 2016 Oct 4;14(Suppl 1):27. eCollection 2016. Review.
15. Morgan E. F., Unnikrisnan G. U., Hussein A. I. Bone Mechanical Properties in Healthy and Diseased States // Annu Rev Biomed Eng. – 2018 4 июня;20:119-143. doi: 10.1146/annurev-bioeng-062117-121139.

Сведения об авторах:

Д. А. Челчушев — аспирант
И. П. Антропова — доктор биологических наук
Д. В. Зайцев — доктор физико-математических наук, доцент

Information about the authors

D. A. Chelchushev — postgraduate student
I. P. Antropova — Doctor of Science (Biology)
D. V. Zaitsev — Doctor of Science (Physics and Mathematics), Associate Professor

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflicts of interests. The authors declare no conflicts of interests.

Источник финансирования. Государственное задание, регистрационный номер 121031900054-8 от 19.03.2021

Funding source. Government assignment, registration number 121031900054-8 of 19.03.2021

Этическая экспертиза. Исследование одобрено локальным этическим комитетом УГМУ.

Ethics approval. The study was approved by the local ethics committee of the USMU.

Информированное согласие. Не требуется.

Informed consent. Not required.

Статья поступила в редакцию 18.03.2022; одобрена после рецензирования 21.03.2022; принята к публикации 28.03.2022.

The article was submitted 18.03.2022; approved after reviewing 21.03.2022; accepted for publication 28.03.2022.