

Влияние дооперационной секреции α -гранул тромбоцитов на показатели гемостаза и кровопотерю при эндопротезировании крупных суставов

И.П. Антропова^{1,2*}, Б.Г. Юшков^{1,3}, С.М. Кутепов¹

¹Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург, Россия;

²Институт высокотемпературной электрохимии Уральского отделения
Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия;

³Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской
академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Реферат

Актуальность. В настоящее время доказано, что роль тромбоцитов не ограничивается формированием сгустка, купирующего кровопотерю и обеспечивающего репарацию сосудистой стенки. Важность определения функциональных особенностей тромбоцитов у пациентов, перенёсших травматичные операции, не вызывает сомнения, однако работы, посвящённые этой проблеме немногочисленны.

Цель. Определить влияние дооперационной секреторной активности α -гранул тромбоцитов на изменение параметров гемостаза и объём кровопотери при эндопротезировании тазобедренного сустава.

Методы. В исследование включены 58 пациентов, поступивших в стационар для проведения им первичного эндопротезирования тазобедренного сустава. Все пациенты были разделены на две группы в соответствии с дооперационным уровнем высвобождения специфического тромбоцитарного белка β -тромбоглобулина. Группу с низким уровнем β -тромбоглобулина в крови (<30 МЕ/мл) составили 30 пациентов, группу с высоким уровнем (≥ 30 МЕ/мл) — 28 пациентов. Отбор крови проводили за сутки до операции, через 30 мин после неё, на 1-е, 3-е, 7-е и 14-е сутки после эндопротезирования тазобедренного сустава. Определяли количество тромбоцитов, уровни β -тромбоглобулина и D-димера, процесс коагуляции плазмы регистрировали с помощью тромбозластографии. Интраоперационную кровопотерю определяли гравиметрически, послеоперационную — по дренажам. Статистический анализ выполнен с применением критериев Фридмана, Уилкоксона, Манна-Уитни, вычислением коэффициента корреляции Спирмена, использовали пакет программ Statistica 8.0.

Результаты. До операции в группе с высоким уровнем β -тромбоглобулина обнаружено более высокое содержание D-димера, чем в группе с низким уровнем: 132 [73; 191] нг/мл и 79 [37; 123] нг/мл ($p=0,024$); а также более короткий латентный период формирования сгустка R: 13,7 [11,5; 15,3] мин и 15,5 [13,0; 18,1] мин ($p=0,048$) соответственно. Максимум количества β -тромбоглобулина зарегистрирован по окончании операции. В группе с низким уровнем β -тромбоглобулина его выброс значительно более интенсивный, чем в группе с высоким уровнем: 35,6 [10,5; 78,0] МЕ/мл и 19,0 [0; 41,3] МЕ/мл соответственно ($p=0,027$). Обнаружена связь между уровнем β -тромбоглобулина и концентрацией D-димера в раннем послеоперационном периоде (30 мин), коэффициенты корреляции Спирмена для групп с низким и высоким уровнями β -тромбоглобулина: $r=0,57$ и $r=0,48$ соответственно ($p < 0,05$ для обеих). Кровопотеря в группе с низким уровнем β -тромбоглобулина была больше, чем в группе с высоким уровнем: 850 [550; 1050] мл и 600 [500; 850] мл соответственно ($p < 0,05$).

Вывод. У пациентов, нуждающихся в эндопротезировании тазобедренного сустава, при усилении секреции α -гранул тромбоцитов повышается активность фибринообразования, сокращается латентный период формирования сгустка; при операции секреторная активность тромбоцитов имеет прямую связь с активностью коагуляции и оказывает влияние на объём кровопотери.

*Для переписки: aip.hemolab@mail.ru

Поступила 25.06.2021; принята в печать 14.09.2021;
опубликована 15.02.2022.

© Эко-Вектор, 2022. Все права защищены.

*For correspondence: aip.hemolab@mail.ru

Submitted 25.06.2021; accepted 14.09.2021;
published 15.02.2022.

© Eco-Vector, 2022. All rights reserved.

Ключевые слова: тромбоциты, β -тромбоглобулин, эндопротезирование тазобедренного сустава.

Для цитирования: Антропова И.П., Юшков Б.Г., Кутепов С.М. Влияние дооперационной секреции α -гранул тромбоцитов на показатели гемостаза и кровопотерю при эндопротезировании крупных суставов. *Казанский мед. ж.* 2022;103(1):5–13. DOI: 10.17816/KMJ2022-5.

ORIGINAL STUDY | DOI: 10.17816/KMJ2022-5

Effect of preoperative platelet alpha-granules secretion on hemostasis and blood loss in large joint arthroplasty

I.P. Antropova^{1,2*}, B.G. Yushkov^{1,3}, S.M. Kutepov¹

¹Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia;

²Institute of High-Temperature Electrochemistry of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia;

³Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia

Abstract

Background. Currently, it was proven that the role of platelets is not limited to the formation of a clot that stops blood loss and provides vascular wall repair. The importance of determining the functional characteristics of platelets in patients who underwent traumatic surgery is beyond doubt. However, there are few studies on this subject.

Aim. To determine the effect of the preoperative platelet α -granules secretory activity on the coagulation parameters and blood loss in total hip arthroplasty (THA).

Material and methods. The study included 58 patients admitted to the hospital for primary total hip arthroplasty. All patients were divided into 2 groups according to the preoperative plasma level of the specific platelet α -granules protein β -thromboglobulin (β -TG). The group with a low plasma level of β -thromboglobulin (<30 IU/ml) consisted of 30 patients, the group with a high level (≥ 30 IU/ml) — 28 patients. Blood sampling was carried out 1 day before the operation, 30 minutes after surgery, on the 1st, 3rd, 7th 14th days after the total hip arthroplasty. The platelet count, β -thromboglobulin, and D-dimer levels were determined. The plasma coagulation was examined by using thromboelastography. The volume of intraoperative blood loss was estimated by the gravimetric method, postoperative blood loss — by drainage volume. Statistical analysis was carried out by using the Friedman, Wilcoxon, Mann–Whitney tests, calculating Spearman's rank correlation coefficient. All calculations were performed using the Statistica 8.0 software.

Results. Before surgery, the group with a high level of β -thromboglobulin showed significantly higher levels of D-dimer than the group with low levels: 132 [73; 191] ng/ml and 79 [37; 123] ng/ml ($p=0.024$); and shorter R times (time to onset of clotting): 13.7 [11.5; 15.3] min and 15.5 [13.0; 18.1] min ($p=0.048$), respectively. The maximum β -thromboglobulin was observed at the end of the operation. The release of β -thromboglobulin was significantly more intense in the group with low levels of β -thromboglobulin than in the group with high levels: 35.6 [10.5; 78.0] IU/ml and 19.0 [0; 41.3] IU/ml, respectively ($p=0.027$). A relationship was found between β -thromboglobulin levels and D-dimer concentration early after surgery (30 minutes), Spearman's correlation coefficients for groups with low and high levels of β -thromboglobulin: $r=0.57$ and $r=0.48$, respectively ($p < 0.05$ for both). Blood loss in the group with low β -thromboglobulin levels was significantly higher than in the group with high levels: 850 [550; 1050] ml and 600 [500; 850] ml, respectively ($p < 0.05$).

Conclusion. In patients requiring total hip arthroplasty, an increase in the activity of platelet α -granules secretion is associated with an increase in the activity of fibrin formation and a shortening of reaction time to onset of clotting; during surgery, the secretory activity of platelets is directly related to the activity of coagulation and affects blood loss volume.

Keywords: platelets, β -thromboglobulin, total hip arthroplasty (large joint replacement).

For citation: Antropova IP, Yushkov BG, Kutepov SM. Effect of preoperative platelet alpha-granules secretion on hemostasis and blood loss in large joint arthroplasty. *Kazan Medical Journal*. 2022;103(1):5–13. DOI: 10.17816/KMJ2022-5.

Актуальность

В настоящее время доказано, что роль тромбоцитов не ограничивается формированием сгустка, купирующего кровопотерю и обеспечивающего репарацию сосудистой стенки [1]. Тромбоцит признают также ключевой

эффекторной клеткой, принимающей участие в регуляции иммунологических реакций и воспаления [2, 3]. При проведении обширных ортопедических операций, сопряжённых с введением имплантата, таких как эндопротезирование тазобедренного сустава (ЭТС), роль тромбоци-

тов особенно важна, поскольку необходимо не только справиться с последствиями массивного повреждения сосудов, но и создать условия для эффективной остеоинтеграции протеза [4].

Взаимодействуя как с субэндотелием, так и с имплантатом, тромбоциты быстро активируются и высвобождают содержимое своих гранул. Три основных типа гранул тромбоцитов — α -гранулы, плотные гранулы и лизосомы [5]. Их своевременное высвобождение необходимо для осуществления адекватного эффективного ответа организма на обширное хирургическое вмешательство [6]. Секреция гранул имеет решающее значение не только для регулирования «канонических» функций тромбоцитов, компоненты гранул опосредуют действие тромбоцитов на другие клетки [5].

Наиболее многочисленны α -гранулы тромбоцитов, в которых хранятся факторы, способствующие активации кровяных пластинок (фактор фон Виллебранда, фибриноген), коагуляции (факторы V, XI, XIII, протромбин), антикоагуляции (ингибитор пути тканевого фактора, протеин S), фибринолиза (плазминоген, плазмин) [7]. В α -гранулах находятся адгезивные рецепторы: от половины до двух третей общего α IIb β 3-тромбоцитарного рецептора для фибриногена, и более трети рецепторов GPVI для коллагена, которые переносятся на поверхность тромбоцитов после их активации, дополнительно усиливая адгезивно-агрегационные свойства [8]. В α -гранулах содержатся также факторы роста и цитокины, контролирующие регенеративные процессы, способствующие восстановлению тканей и стабильности установленного имплантата [9, 10].

Один из специфических тромбоцитарных белков — β -тромбоглобулин (β -ТГ), являющийся промежуточным продуктом протеолиза основного белка тромбоцитов (PBP — от англ. Platelet Basic Protein). β -ТГ обладает выраженной хемоаттрактивной активностью, стимулирует миграцию фибробластов и нейтрофилов в зоны воспаления и повреждения сосудов [11]. Данный белок признан в качестве маркера активности секреции тромбоцитарных факторов из α -гранул [12, 13].

Известно, что циркулирующие в крови тромбоциты гетерогенны. Факторами, определяющими неоднородность, могут быть различия между мегакариоцитами и старение тромбоцитов. Кроме того, циркулирующие тромбоциты находятся под активирующим и ингибирующим влиянием различных биомолекул и биомеханических условий кровотока, эти воздействия модулируют тромбоцитар-

ную реакцию на последующий стимул, то есть происходит положительное или отрицательное праймирование тромбоцитов [14, 15].

Эндопротезирование крупных суставов — травматичная операция, которая сопряжена с высоким риском как значительной кровопотери, так и тромбоэмболических осложнений [16, 17]. Важность определения функциональных особенностей тромбоцитов у пациентов, перенёвших такие операции, не вызывает сомнения, однако работы, посвящённые этой проблеме немногочисленны.

Цель

В связи с этим целью нашей работы стало определение влияния дооперационного уровня секреторной активности α -гранул на изменение параметров гемостаза и объём кровопотери при ЭТС.

Материал и методы исследования

В исследование были включены 58 пациентов, поступивших в стационар для проведения им первичного ЭТС. Критерии включения: возраст от 40 до 75 лет, наличие коксартроза III–IV стадии. Критерии исключения: наличие хронических заболеваний в стадии декомпенсации, патология системы гемостаза, приём антикоагулянтных или антитромбоцитарных препаратов в течение 2 нед до операции.

Работа одобрена локальным комитетом по биомедицинской этике ФГУ «Уральский институт травматологии и ортопедии им. В.Д. Чаклина» (протокол № 6 от 03.07.2011).

Всем пациентам была проведена операция ЭТС. Все включённые в исследование пациенты получали стандартную антикоагулянтную профилактику низкомолекулярным гепарином — эноксапарином натрия. Антикоагулянт вводили подкожно в дозе 40 мг/сут в течение 14 дней после операции.

Отбор образцов крови для исследования проводили из вены в утренние часы за 1 сут до операции, по окончании операции (через 30 мин), на 1-е, 3-е, 7-е и 14-е сутки после ЭТС. Для определения количества тромбоцитов забор крови производили в пробирки с калиевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты, для тромбоэластографических исследований — в пробирки с 3,8% (0,129 M) раствором цитрата натрия в стандартном соотношении 1:9 по отношению к забираемой крови, для определения β -ТГ — в STAD-пробирки в том же соотношении крови и антикоагулянта. Бедную тромбоцитами плазму получали центрифугированием со скоростью 3000 об./мин в течение 15 мин.

Таблица 1. Характеристика групп пациентов, перенёвших эндопротезирование тазобедренного сустава и имеющих низкий и высокий исходный уровень β -тромбоглобулина

Показатель	Группа НТГ	Группа ВТГ	p
Возраст, годы ¹	59,4 $\pm$ 11,2	58,8 $\pm$ 9,6	0,663
Пол, мужчины/женщины, абс.	12/18	14/14	0,617
Вид анестезии, общая/регионарная, абс.	8/22	5/23	0,299
Тип протеза, цементный/бесцементный, абс.	11/19	7/21	0,638
Время операции, мин ¹	116 $\pm$ 25	119 $\pm$ 24	0,817

Примечание: ¹результаты представлены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение; НТГ — группа с низким уровнем β -тромбоглобулина; ВТГ — группа с высоким уровнем β -тромбоглобулина.

Для последующего проведения иммуноферментного анализа образцы плазмы крови замораживали и хранили при температуре -20°C .

Количество тромбоцитов определяли в цельной крови на гематологическом анализаторе Cell-Dyn 170 (Abbot Laboratories, США). Тромбоэластографические исследования выполняли на компьютеризированном тромбоэластографе TEG-5000 (Haemoscope Corporation, США), определяли показатели R и MA. R — реакционное время от начала анализа образца до достижения уровня детекции сгустка, уменьшение R происходит в условиях гиперкоагуляции. MA — максимальная амплитуда, характеризует максимум прочности сформированного сгустка, в физиологических условиях бывает результатом действия двух компонентов: умеренный вклад фибрина и наиболее существенный вклад тромбоцитов [18].

Активность β -ТГ определяли количественно, методом иммуноферментного анализа, наборами Asserachrom β -ТГ, Diagnostica Stago (France). Калибровочные растворы получали путём последовательного разведения (1; 1:2; 1:4; 1:8; 1:16) коммерческой стандартной плазмы. Контроль качества осуществляли на низком и высоком уровнях.

D-димер — специфический продукт деградации поперечно сшитого фибрина в процессе его плазминовой деградации. Он служит одним из наиболее важных маркёров активации свёртывающей и фибринолитической систем. Определение D-димера проводили иммуноферментным методом реактивами Technozym D-dimer ELISA, Technoclone (Austria).

Объём интраоперационной кровопотери определяли гравиметрически, послеоперационную кровопотерю — как потерю крови по дренажам.

Для того чтобы установить влияние дооперационного уровня секреции из α -гранул на послеоперационную активность их высвобождения, на коагуляцию, параметры форми-

рования сгустка и уровень кровопотери, все пациенты были разделены на две группы в соответствии с дооперационным уровнем высвобождения β -ТГ. Группу с низким содержанием β -ТГ (НТГ) составили 30 пациентов, концентрация β -ТГ в крови у которых была <30 МЕ/мл, группу с высоким уровнем β -ТГ (ВТГ) — 28 пациентов, имевших содержание β -ТГ ≥ 30 МЕ/мл.

Характеристика групп представлена в табл. 1, они не различались по возрасту, полу, типу используемого протеза, виду анестезиологического пособия, времени проведения хирургического вмешательства.

Обработку полученных данных проводили в рамках правил вариационной статистики с использованием пакета программ Statistica 8.0. Характер распределения вариационных рядов оценивали с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. При изучении динамики показателей использовали критерий Фридмана, сравнение с исходным значением осуществляли с применением критерия Уилкоксона, сравнение показателей между изучаемыми группами проводили с помощью теста Манна–Уитни, для оценки связи между показателями применяли корреляционный анализ с вычислением коэффициента Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Определение концентрации β -ТГ перед ЭТС и в динамике послеоперационного периода показало, что реакция тромбоцитов на оперативное вмешательство стереотипна, но различается по выраженности у клеток с разной исходной активностью. Максимальный уровень данного белка зарегистрирован непосредственно по окончании операции, с 1-х суток происходит постепенное снижение количества β -ТГ в крови в обеих исследуемых группах (рис. 1). Однако в группе НТГ концентрация β -ТГ сохраняется на повышенном относительно исходного уровне до конца периода наблюде-

ния (β -ТГ_{исх} = 22,4 [17,7; 26,6]; β -ТГ_{14сут} = 31,0 [27,7; 43,4], $p_{\beta\text{ТГ}14\text{сут}-\beta\text{ТГ}исх} = 0,0001$, критерий Уилкоксона), в то время как в группе ВТГ возвращается к дооперационным значениям (β -ТГ_{исх} = 40,0 [34,2; 61,5]; β -ТГ_{14сут} = 41,5 [31,7; 61,0], $p_{\beta\text{ТГ}14\text{сут}-\beta\text{ТГ}исх} = 0,581$, критерий Уилкоксона).

Обнаружен сходный характер изменений маркера тромбоцитарной секреции в обеих группах, однако если в группе НТГ выраженность этих изменений относительно исходного уровня имеет статистическую значимость (критерий Фридмана $p = 0,0001$), то в группе ВТГ динамика менее выражена (критерий Фридмана $p = 0,269$) (см. рис. 1).

Нами было обнаружено, что в случае низкого дооперационного уровня тромбоцитарной секреции выброс β -ТГ при операции был значительно более интенсивным, чем при высоком дооперационном уровне высвобождения данного белка: 35,6 [10,5; 78,0] МЕ/мл и 19,0 [0; 41,3] МЕ/мл в группах НТГ и ВТГ соответственно ($p = 0,027$).

В результате различий в секреции β -ТГ в ответ на хирургическую операцию по окончании ЭТС происходит нивелирование уровней данного белка в крови в обеих группах. Выравнивание концентраций β -ТГ в группах по окончании операции можно объяснить тем, что пул данного белка в гранулах ограничен и сопоставим по количеству у всех пациентов, включённых в исследование, различия касались лишь способа и скорости его высвобождения.

Ранее было выявлено, что кинетика и степень экзоцитоза тромбоцитов варьируют [19]. В недавно опубликованной работе К. Karolczak и соавт. (2021) было показано, что белки α -гранул могут высвобождаться разными способами и в течение различных отрезков времени [20].

С 1-х суток после операции на фоне постепенного снижения концентрации β -ТГ в крови различия между группами вновь становятся значимыми (см. рис. 1). Это может свидетельствовать о сохранении исходной тромбоцитарной неоднородности даже после мощного хирургического воздействия на организм. Ограничение данного исследования — невозможность установить, связана данная неоднородность с генетическими факторами либо с особенностями течения заболевания, что требует дальнейшего исследования.

В нашем исследовании выраженность секреторной активности тромбоцитов не зависела от пола и возраста (см. табл. 1). Для пациентов, имеющих тяжёлый артроз тазобедренного сустава, тяжесть патологии, по-видимому, становится ведущим фактором, определяющим

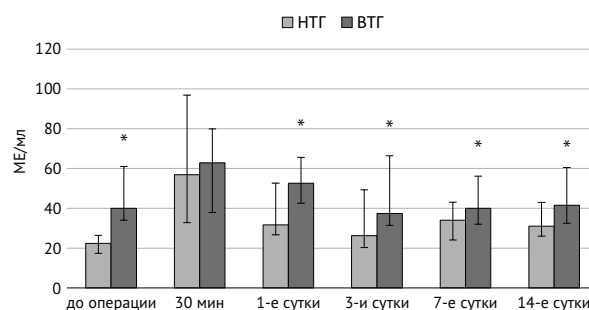


Рис. 1. Концентрация β -тромбоглобулина в крови при эндопротезировании тазобедренного сустава. Результаты представлены как медиана [интерквартильный размах]; *различия между группами имеют статистическую значимость ($p < 0,05$ в тесте Манна–Уитни); НТГ — группа с низким уровнем β -тромбоглобулина, ВТГ — группа с высоким уровнем β -тромбоглобулина

степень положительного праймирования тромбоцитов. Это наблюдение согласуется с данными, полученными ранее в работе В. Savage и соавт., где было показано, что различия в содержании α -гранул тромбоцитов не были следствием возрастных изменений [21], а также в работе G. Weibrich и соавт., которая доказывала, что ни возраст, ни пол не влияют на уровни высвобождения факторов роста, продуцируемых тромбоцитами [22].

Эффективность репаративной регенерации после травмирования тканей, в том числе и после крупных хирургических вмешательств, во многом определяется наличием оптимального уровня факторов роста и молекул, обеспечивающих привлечение, пролиферацию, дифференциацию стволовых клеток [23]. В α -гранулах тромбоцитов содержатся все основные факторы роста, поэтому важно понимать, каков уровень секреции из данных гранул, не только в период формирования сгустка, но и в более позднем послеоперационном периоде. Наше исследование показало, что повышенный уровень секреции сохраняется не менее 2 нед после операции (см. рис. 1).

Важно подчеркнуть, что активность послеоперационного высвобождения α -гранул в значительной степени определяется исходной активностью секреции, что позволяет предположить возможность определения специфических тромбоцитарных белков для прогнозирования течения репаративных процессов при крупных ортопедических хирургических вмешательствах.

Динамика количества циркулирующих тромбоцитов после ЭТС отличается от динамики секреции β -ТГ (рис. 2).

Количество тромбоцитов снижается в раннем послеоперационном периоде и повышает-

Таблица 2. Коагуляционные показатели до и после эндопротезирования тазобедренного сустава

Показатель	Группа	До операции	После операции				
			Через 30 мин	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки	14-е сутки
D-димер, нг/мл	НТГ	79 [37; 123]	945 [488; 1496]	1025 [500; 2380]	364 [266; 648]	1540 [1111; 2232]	1650 [1018; 2448]
	ВТГ	132 [73; 191]*	1020 [505; 1815]	1202 [612; 1589]	408 [266; 644]	1430 [842; 2483]	1995 [1061; 576]
	p	0,024	0,655	0,957	0,875	0,728	0,398
R, мин	НТГ	15,5 [13,0; 18,1]	12,9 [9,3; 16,5]	15,1 [12,4; 20,2]	14,1 [9,6; 19,0]	15,1 [11,2; 21,2]	17,1 [12,5; 20,0]
	ВТГ	13,7 [11,5; 15,3]*	11,7 [9,7; 15,1]	13,0 [10,7; 16,2]	11,7 [9,6; 15,3]	12,5 [9,2; 17,8]	17,0 [10,1; 22,3]
МА, мм	НТГ	56,5 [51,0; 59,4]	57,6 [52,5; 59,9]	61,2 [58,7; 64,8]	70,1 [66,5; 73,0]	70,6 [68,8; 73,3]	67,7 [63,0; 72,2]
	ВТГ	54,2 [49,9; 59,2]	57,8 [52,2; 60,0]	59,0 [56,5; 62,0]	66,3 [64,0; 70,3]	71,6 [67,8; 73,2]	68,0 [63,8; 71,1]
	p	0,048	0,555	0,327	0,234	0,237	0,900

Примечание: результаты представлены как медиана [интерквартильный размах]; *различия между группами имеют статистическую значимость ($p < 0,05$ в тесте Манна–Уитни); НТГ — группа с низким уровнем β -тромбоглобулина; ВТГ — группа с высоким уровнем β -тромбоглобулина.

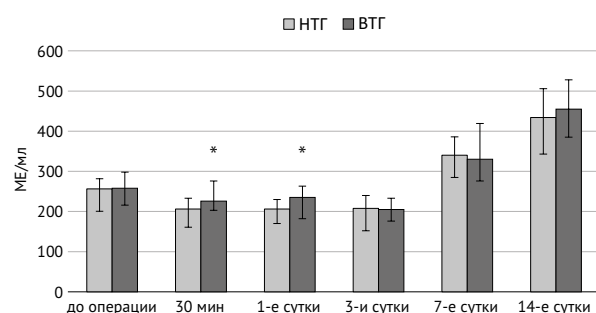


Рис. 2. Концентрация тромбоцитов в крови при эндопротезировании тазобедренного сустава. Результаты представлены как медиана [интерквартильный размах]; *различия между группами имеют статистическую значимость ($p < 0,05$ в тесте Манна–Уитни); НТГ — группа с низким уровнем β -тромбоглобулина, ВТГ — группа с высоким уровнем β -тромбоглобулина

ся с 7-х послеоперационных суток (критерий Фридмана $p < 0,001$ для обеих групп). До операции значимых различий между группами нет, в раннем послеоперационном периоде большее количество тромбоцитов зарегистрировано в группе ВТГ. С 1-х суток количество тромбоцитов в крови вновь не имеет значимых различий между группами (см. рис. 2). Корреляционной связи между количеством тромбоцитов и уровнем β -ТГ в крови не обнаружено ни в одной из временных точек.

Таким образом, уровень секреции β -ТГ тромбоцитами ни до, ни после ЭТС не связан с их количеством. Отсутствие связи между количеством тромбоцитов и концентрацией высвобождаемого ими β -ТГ в крови подтверждает положение о наличии у разных людей различных популяционных спектров тромбоцитов, обладающих различными секреторной активностью и степенью активации в ответ на патологические воздействия. В на-

стоящее время доказано, что и в норме, и при патологии можно выделить популяции тромбоцитов с разными спектрами ответа в гемостатических и сосудистых процессах [14, 15].

Исходное повышение концентрации β -ТГ в крови ассоциировано с повышенным уровнем маркера фибринообразования D-димера, а также со скоростью латентного периода формирования сгустка крови, которую отражает тромбоэластографический показатель R (табл. 2). Ассоциированность более высокой исходной концентрации β -ТГ с более высоким уровнем D-димера, отражающего активность формирования фибрина, а также со скоростью начального этапа процесса свёртывания крови свидетельствует о наличии существенной связи между дооперационной активностью секреции тромбоцитами компонентов α -гранул и коагуляционной активностью у обследованных пациентов.

Хирургическая операция индуцирует мощную активацию коагуляционного процесса даже на фоне применения антикоагулянтов [24]. В данном исследовании мы также обнаружили резкое повышение концентрации D-димера в крови (критерий Фридмана, $p < 0,001$), сокращение латентного периода (до достижения уровня детекции) формирования сгустка крови (тромбоэластографический показатель R, критерий Фридмана, $p < 0,05$), повышение плотности сгустка (тромбоэластографический показатель МА, критерий Фридмана, $p < 0,05$) (см. табл. 2). В послеоперационном периоде различия по данным показателям между группами были, но статистической значимости не достигали; возможно, это связано с их значительной вариабельностью.

Высокую вариабельность концентрации D-димера можно объяснить тем, что данный

показатель отражает два процесса: образование фибрина и его плазминую деградацию [25]. Вариабельность тромбоэластографических показателей также, по-видимому, определяется многофакторным влиянием на параметры формирования сгустка [18].

Корреляционная связь между уровнем β -ТГ и концентрацией D-димера в крови обнаружена в самом раннем послеоперационном периоде (через 30 мин после операции): коэффициенты корреляции Спирмена в группах НТГ и ВТГ — $r=0,575$ ($p < 0,01$) и $r=0,481$ ($p < 0,02$) соответственно. Значимой корреляционной связи между количеством тромбоцитов и концентрацией D-димера в крови не выявлено, коэффициенты корреляции Спирмена в группах НТГ и ВТГ — $r=0,065$ и $r=0,187$ соответственно.

В то же время по окончании операции обнаружена корреляционная связь между количеством тромбоцитов и показателем МА: коэффициенты корреляции Спирмена в группах НТГ и ВТГ — $r=0,391$ ($p < 0,05$) и $r=0,467$ ($p < 0,04$) соответственно.

Данные корреляционного анализа позволяют сделать заключение, что в раннем послеоперационном периоде количество образующегося фибрина в большей степени связано с интенсивностью высвобождения компонентов гранул, тогда как прочность формирующейся фибриновой матрицы будет в большей мере определяться количеством тромбоцитов.

Наличие выявленной нами в раннем послеоперационном периоде связи активности фибринообразования с уровнем специфического компонента α -гранул, а параметров прочности сгустка — с количеством тромбоцитов свидетельствует о важности как количества, так и функциональной активности тромбоцитов для эффективного формирования сгустков, которые не только купируют кровопотерю, но и служат первичной матрицей для процесса регенерации [26].

Сравнение интраоперационной кровопотери в двух изучаемых группах пациентов показало, что потеря крови была выше в группе НТГ по сравнению с группой ВТГ: 350 [250; 550] мл и 250 [200; 400] мл соответственно ($p=0,031$). Общая кровопотеря также была больше в группе НТГ, чем в группе ВТГ: 850 [550; 1050] мл и 600 [500; 850] мл соответственно ($p=0,041$).

Исходное количество тромбоцитов было сходным в обеих группах, но в группе ВТГ была выше их предоперационная активация с выходом компонентов α -гранул. Можно предположить, что у пациентов, нуждаю-

щихся в ЭТС, дооперационное положительное праймирование тромбоцитов совместно с повышенной коагуляционной активностью, с одной стороны, приводит к частичному истощению секреторного пула циркулирующих тромбоцитов с выходом компонентов α -гранул в кровоток, с другой стороны, создаёт более благоприятные условия для срочного формирования сгустков в условиях массивного повреждения сосудов при хирургической операции и обеспечивает меньшую потерю крови.

Выводы

1. У пациентов, нуждающихся в тотальной замене тазобедренного сустава, коагуляционный потенциал крови имеет прямую связь с активностью высвобождения α -гранул тромбоцитов: при усилении секреции повышается активность фибринообразования, сокращается латентный период формирования сгустка.

2. При эндопротезировании тазобедренного сустава уровень специфического белка α -гранул тромбоцитов β -тромбоглобулина коррелирует с продолжительностью латентного периода формирования сгустка и интенсивностью фибринообразования. Активность секреторной активности тромбоцитов оказывает влияние на объём кровопотери.

3. Послеоперационная активность высвобождения α -гранул имеет зависимость от исходного уровня секреции. Содержание в данных гранулах основных факторов роста даёт основание предположить возможность прогнозирования не только потери крови, но и течения репаративного процесса с использованием тромбоцитарных маркёров у пациентов, нуждающихся в протезировании крупных суставов, что требует дальнейших исследований.

Участие авторов. И.П.А. — планирование, сбор и анализ результатов; Б.Г.Ю. — планирование, анализ и обсуждение результатов; С.М.К. — руководитель работы.

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке государственного задания «Разработка технологий применения аутологических биоматериалов из тромбоцитарной массы в качестве оптимизирующей среды для улучшения процессов остеорегенерации и остеointеграции при хирургическом лечении костных дефектов, несращений и нестабильности имплантатов у больных травматолого-ортопедического и онкологического профиля», номер регистрации 121031900054-8 от 2021 г.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Van der Meijden PEJ, Heemskerk JWM. Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives. *Nat Rev Cardiol.* 2019;16(3):166–179. DOI: 10.1038/s41569-018-0110-0.
2. Духинова М.С., Пономарёв Е.Д. Роль тромбоцитов в нейровоспалительных заболеваниях. Обзор. *Вестник Московского университета. Серия 16. Биология.* 2018;73 (3):125–131. [Dukhinova MS, Ponomarev ED. Role of platelets in neuroinflammatory disorders. A review. *Moscow university biological sciences bulletin.* 2018;73(3):97–103. (In Russ.)] DOI: 10.3103/S0096392518030069.
3. Manne BK, Xiang SC, Rondina MT. Platelet secretion in inflammatory and infectious diseases. *Platelets.* 2017;28(2):155–164. DOI: 10.1080/09537104.2016.1240766.
4. Sun P, Wang Y, Xu D, Gong K. The calcium phosphate modified titanium implant combined with platelet-rich plasma treatment promotes implant stabilization in an osteoporotic model. *J Craniofac Surg.* 2021;32(2):603–608. DOI: 10.1097/SCS.00000000000006836.
5. Golebiewska EM, Poole AW. Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Rev.* 2015;29(3):153–162. DOI: 10.1016/j.blre.2014.10.003.
6. Тихилов Р.М., Серебряков А.Б., Шубняков И.И., Плиев Д.Г., Шильников В.А., Денисов А.О., Мясоедов А.А., Бояров А.А. Влияние различных факторов на кровопотерю при эндопротезировании тазобедренного сустава. *Травматология и ортопедия России.* 2012;65(3):5–11. [Tikhilov RM, Serebryakov AB, Shubnyakov II, Pliev DG, Shilnikov VA, Denisov AO, Myasoev AA, Boyarov AA. The influence of various factors on blood loss in patients undergoing total hip replacement. *Traumatology and Orthopedics of Russia.* 2012;65(3):5–11. (In Russ.)] DOI: 10.21823/2311-2905-2012--3-5-11.
7. Gould WR, Silveira JR, Tracy PB. Unique *in vivo* modifications of coagulation factor V produce a physically and functionally distinct platelet-derived cofactor: characterization of purified platelet-derived factor V/Va. *J Biol Chem.* 2004; 279 (4): 2383–2393. DOI: 10.1074/jbc.M308600200.
8. Blair P, Flaumenhaft R. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. *Blood Rev.* 2009;23(4):177–189. DOI: 10.1016/j.blre.2009.04.001.
9. De Pascale MR, Sommesse L, Casamassimi A, Napoli C. Platelet derivatives in regenerative medicine: an update. *Transfus Med Rev.* 2015;29(1):52–61. DOI: 10.1016/j.tmr.2014.11.001.
10. Heijnen H, van der Sluijs P. Platelet secretory behaviour: as diverse as the granules... or not? *J Thromb Haemost.* 2015;13(12):2141–2151. DOI: 10.1111/jth.13147.
11. Мазуров А.В. *Физиология и патология тромбоцитов.* М.: Литтерра; 2011. 480 с. [Mazurov AV. *Fiziologiya i patologiya trombotsitov.* (Physiology and pathology of platelets.) M.: Litterra; 2011. 480 p. (In Russ.)] ISBN: 978-5-4235-0049-8.
12. Mumford AD, Frelinger III AL, Gachet C, Gresele P, Noris P, Harrison P, Mezzano D. A review of platelet secretion assays for the diagnosis of inherited platelet secretion disorders. *Thrombosis and Haemostasis.* 2015;114 (1):14–25. DOI: 10.1160/th14-11-0999.
13. Chen CH, Lo RW, Urban D, Pluthero FG, Kahr WH. Alpha-granule biogenesis: from disease to discovery. *Platelets.* 2017;28(2):147–154. DOI: 10.1080/09537104.2017.12805999.
14. Van der Meijden PEJ, Heemskerk JWM. Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives. *Nat Rev Cardiol.* 2019;16(3):166–179. DOI: 10.1038/s41569-018-0110-0.
15. Baaten CCFMJ, Ten CH, van der Meijden PEJ. Platelet populations and priming in hematological diseases. *Blood Reviews.* 2017;31(6):389–399. DOI: 10.1016/j.blre.2017.07.004.
16. Santana DC, Emara AK, Orr MN, Klika AK, Higuera CA, Krebs VE, Molloy RM, Piuze NS. An update on venous thromboembolism rates and prophylaxis in hip and knee arthroplasty in 2020. *Medicina.* 2020;56(9):416. DOI: 10.3390/medicina56090416.
17. Liu WB, Li GS, Shen P, Zhang FJ. Comparison between epsilon-aminocaproic acid and tranexamic acid for total hip and knee arthroplasty: A meta-analysis. *J Orthop Surg.* 2020;28(3): 2309499020959158. DOI: 10.1177/2309499020959158.
18. Alexander DC, Butt WW, Best SM, Donath JD, Monagle PT, Shekerdemian LS. Correlation of thromboelastography with standard tests of anticoagulation in paediatric patients receiving extracorporeal life support. *Thromb Res.* 2010;125(5):387–392. DOI: 10.1016/j.thromres.2009.07.001.
19. Jonnalagadda D, Izu LT, Whiteheart SW. Platelet secretion is kinetically heterogeneous in an agonist-responsive manner. *Blood.* 2012;120(26):5209–5216. DOI: 10.1182/blood-2012-07-445080.
20. Karolczak K, Watala C. Blood platelets as an important but underrated circulating source of TGFbeta. *Int J Mol Sci.* 2021;22(9):4492. DOI: 10.3390/ijms22094492.
21. Savage B, McFadden PR, Hanson SR, Harker LA. The relation of platelet density to platelet age: survival of low- and high-density ¹¹¹indium-labeled platelets in baboons. *Blood.* 1986;68(2):386–393. DOI: 10.1182/blood.V68.2.386.386.
22. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G, Hitzler WE. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. *J Craniofac Surg.* 2002;30(2):97–102. DOI: 10.1054/jcms.2002.0285.
23. Everts P, Onishi K, Jayaram P, Lana JF, Mautner K. Platelet-rich plasma: New performance understandings and therapeutic considerations in 2020. *Int J Mol Sci.* 2020;21(20):7794. DOI: 10.3390/ijms21207794.
24. Антропова И.П., Рейно Е.В., Юшков Б.Г. Клоттинговые тесты и молекулярные маркеры в оценке коагуляционных изменений на фоне антитромботической профилактики дабигатраном после крупных ортопедических операций. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2017;62(1):25–30. [Antropova IP, Reino EV, Yushkov BG. The clotting tests and molecular markers in evaluating of coagulation alterations against the background of anti-thrombotic prevention by dabigatran after large orthopedic operations. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2017;62(1):25–30. (In Russ.)] DOI: 10.18821/0869-2084-2017-62-1-25-30.
25. Johnson ED, Schell JC, Rodgers GM. The D-dimer assay. *Am J Hematol.* 2019;94(7):833–839. DOI: 10.1002/ajh.25482.
26. Miron RJ, Zhang Y. Autologous liquid platelet rich fibrin: A novel drug delivery system. *Acta Biomater.* 2018;75(7):35–51. DOI: 10.1016/j.actbio.2018.05.021.

Сведения об авторах

Антропова Ирина Петровна, докт. биол. наук, вед. науч. сотrud., ФГБОУ ВО Уральский ГМУ Минздрава России; зав., лаборатория медицинского материаловедения и биокерамики, Институт высокотемпературной электрохимии, УрО РАН; aip.hemolab@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9957-2505>

Юшков Борис Германович, чл.-кор. РАН, проф., зав., лаборатория иммунофизиологии и иммунофармакологии, Институт иммунологии и физиологии УрО РАН; проф., каф. патологической физиологии, ФГБОУ ВО Уральский ГМУ Минздрава России; b.yushkov@iip.uran.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8780-9889>

Кутепов Сергей Михайлович, чл.-кор. РАН, проф., главн. науч. сотrud., ФГБОУ ВО Уральский ГМУ Минздрава России; kcm@usma.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3069-8150>

Author details

Irina P. Antropova, D.Sci. (Biol.), Leading Researcher, Ural State Medical University, Russia; Head, Laboratory of Medical Material Science and Bioceramics, Institute of High Temperature Electrochemistry, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; aip.hemolab@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9957-2505>

Boris G. Yushkov, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Prof., Head, Laboratory of Immunophysiology and Immunopharmacology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences; Prof., Depart. of Pathological Physiology, Ural State Medical University, Russia; b.yushkov@iip.uran.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8780-9889>

Sergey M. Kutepov, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Prof., Chief research scientist, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia; kcm@usma.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3069-8150>