

# **RĪGAS TEHNISKĀ UNIVERSITĀTE**

Transporta un mašīnzinību fakultāte

Biomedicīnas inženierzinātņu un nanotehnoloģiju institūts

**Alevtīna LEICE**

Doktora studiju programmas „Inženiertehnika, mehānika un mašīnbūve  
(RMDM8)” doktorante

Virziens „Medicīniska inženierzinātne un medicīnas fizika”

## **DINAMISKĀ TESTĒŠANAS METODE BIOIMPLANTA IETEKMES NOVĒRTĒŠANAI UZ HEMATOLOĢISKIEM PARAMETRIEM**

Nozare: Mašīnzinātne

Apakšnozare: Mēraparāti un metroloģija

### **Promocijas darba kopsavilkums**

Zinātniskais vadītājs

Dr.hab.phys., profesors

**J.DEHTJARS**

Zinātniskais konsultants:

Dr. Biol., profesors

**U.TEIBE**

**Rīga 2010**

UDK 615.46(043.2)  
Le 290 d

Leice A. Dinamiskā testēšanas metode bioimplanta ietekmes  
novērtēšanai uz hematoloģiskiem parametriem. Promocijas  
darba kopsavilkums. R.: RTU, BINI, 2010.g.- 34 lpp.

Iespiests saskaņā ar RTU BINI institūta 2009.gada  
05 novembra lēmumu, protokols No 153

**PROMOCIJAS DARBS  
IZVIRZĪTS INŽENIERZINĀTŅU DOKTORA GRĀDA IEGŪŠANAI RĪGAS  
TEHNISKAJĀ UNIVERSITĀTĒ**

Promocijas darbs inženierzinātņu doktora grāda iegūšanai tiek publiski aizstāvēts  
2010.04.20. Rīgas Tehniskās universitātes Transporta un mašīnzinību fakultātē, Ezermalas ielā  
6, 405. auditorijā

**OFICIĀLIE RECENZENTI**

Profesors, Dr.habil.med. Jānis Vētra  
Rīgas Stradiņa Universitāte

Profesors, Dr.habil.sc.ing. Aleksandrs Urbahs  
Rīgas Tehniskā Universitāte

Profesors, Dr.habil.med. I. A. Khlusov  
Sibīrijas Valsts Medicīnas Universitāte, Tomsk, Krievija; Politehniska  
Universitāte, Fizikas Augsto Tehnoloģiju Instituts, Tomsk, Krievija

**APSTIPRINĀJUMS**

Apstiprinu, ka esmu izstrādājusi doto promocijas darbu, kas iesniegts izskatīšanai  
Rīgas Tehniskajā universitātē inženierzinātņu doktora grāda iegūšanai. Promocijas darbs nav  
iesniegts nevienā citā universitātē zinātniskā grāda iegūšanai.

Alevtīna Leice \_\_\_\_\_

Datums: 11.11. 2010.

## Satura rādītājs

Promocijas darba aktualitāte.....	5
Darba mērķis un uzdevumi.....	6
Darba zinātniskā novitāte un galvenie pētījumu rezultāti.....	7
Praktiskais pielietojums .....	7
Autors šajā darbā aizstāv.....	7
Darba aprobācija .....	8
Publikācijas .....	9
Darba struktūra un apjoms .....	9
Metodes un materiāli.....	10
Pētījumu metodika.....	10
Bioimplantu materiāls un modelis.....	11
Rezultātu statistiskā apstrāde.....	11
Atkārtotamības novērtēšana.....	11
Laika faktora ietekme.....	12
Asins paraugu individuālo īpašību ietekmes novērtēšana .....	12
Bioimplanta modeļa ietekme uz asins šūnu parametriem.....	15
Titāna implants, pārklāts ar hidroksilapatītu.....	15
Testēšanas reižu laika intervālā rezultātu verifikācija.....	20
Bioimplanta materiāla ietekme uz asinīm ar pazeminātu hemoglobīna saturu .....	22
Titāna implants .....	23
Dinamiskā testēšanas metode.....	24
Secinājumi .....	25
Saīsinājumi un simbolu atšifrējumi .....	26
Literatūra.....	27

## PROMOCIJAS DARBA AKTUALITĀTE

Sākot ar 20.gs. 60. gadiem biomateriāla izmantošana bojāto orgānu vai to daļas atjaunošanai vai aizvietošana ir nozīmīgi paplašinājusies lai uzlabotu un pagarinātu pacientu dzīvi. Mūsdienās izmanto vairāk nekā 40 dažādu veidu materiālu, lai aizvietotu vairāk nekā 40 organisma ķermeņa daļas. Implantu daudzums visā pasaulē sastāda 4 – 5 milj. gadā [116].

Sakarā ar to, ka eksperimentāli klīniskajā praksē plaši palielinājies implantu skaits, kurus izmanto īslaicīgā vai pastāvīgā kontaktā tieši ar asinīm, izmeklēt jauno biomateriālu ietekmi uz asins šūnu parametriem ir **aktuāli** un tas **veicinās** mūsdienu bioimplantu **tehnoloģiju attīstību** [74, 112].

Implantējamā biomateriāla veida izvēli nosaka vairāki un dažādi faktori[3, 14,101, 102, 114]., tomēr viens no svarīgākajiem faktoriem attiecināms uz visiem materiālu veidiem ir **biosaderība**. Biomateriāls ir **biosaderīgs** tad, ja savienojams ar visām dzīva organisma svarīgākajām funkcijām un nerada tam problēmas [114].

Biomateriāls, ievietots organismā, atrodas pastāvīgā vai īslaicīgā kontaktā ar dzīvā organisma iekšējo vidi, saskaras ar asinīm un ietekmē asins šūnas. Savukārt, bioimplantu sabrukšanas produkti var saindēt organismu, bet paši implanti var izsaukt apkārtējo audu iekaisumu un tikt atgrūsti [40, 75, 82, 103]. Vispārējās biomateriāla ietekmes rezultātā organismā var notikt būtiskas izmaiņas audu un asins šūnu sastāvā [17, 114].

Pēc implantācijas organismā vienmēr notiek blakus esošo audu ietekme [26, 74, 114]. Tādēļ biomateriāls ir apveltīts ar *specifisko bioaktivitāti* [9, 10, 16, 86, 99]. *Bioaktivitāte* var būt gan kaitīga organisma eksistencei (trombu, hemolīzes veicinoša ietekme, iekaisums utt.), gan lietderīga (osteogēnēzes aktivizēšanas gadījumi — hidroksiapatīta nogulsņējums uz titāna implantu virsmas, kas uzlabo bioloģisku izdzīvošanu implantiem) [13, 14].

Mūsdienās, pie lielas bioimplantu daudzveidības, ir ļoti **aktuāli noteikt ar implantu kontaktējamo šūnu atbildes reakciju**.

Biomateriālu ietekmes novērtēšana pamatojas uz *in vivo* un *in vitro* eksperimentiem lai pārbaudīt biomateriāla visaptverošo ietekmi uz biosistēmu [20, 116]. Biosistēmas atbildes reakciju uz bioimplanta ietekmi pēta, izmantojot dažādus testus, kuri atkarībā no implantācijas mērķa, risina vispirms svarīgākos biosaderības jautājumus saistībā ar pacienta dzīvību apdraudošām situācijām [12, 20, 24, 52, 53, 56, 62, 70]. Kad implants saskaras ar asinīm biosaderības pētījumiem izmanto [11, 26, 112]: *in vitro* statisko, *ex vivo* dinamisko un *in vivo* dinamiskas metodes.

Savukārt nav piedāvāta neviena asins šūnu hematoloģisko parametru izmeklēšanas dinamiskā metode, kas ļautu bioimplantu ietekmi novērtēt *in vitro* dinamikā. Dinamiskais *in vitro* izmeklēšanas process ļaus samazināt izdevumus, dos iespēju ātrāk izvērtēt pētījuma rezultātus, kā arī nodrošinās daudzpusīgu izmeklējumu.

Pēc asins un bioimplanta kontakta organismā jau no pirmās saskaršanās minūtes norisinās biosaderības reakcija, kad 60–120 minūšu inkubācijas laikā notiek asins proteīnu adsorbpcija uz bioimplanta virsmas [5, 112]. Ir publicēti pētījumi par asins proteīnu adsorbpciju uz bioimplantiem [45, 49, 66, 77, 114, 116], tomēr bioimplanta ietekme uz asins šūnu hematoloģisko parametru pārmaiņu dinamikā nav vērtēta. Tādu datu trūkums apgrūtina bioimplantu novērtēšanu **agrīnai biosaderībai**.

Ņemot vērā augstāk minēto, promocijas darbs, kas ir veltīts dinamiskās testēšanas metodes izstrādei par bioimplanta ietekmes novērtēšanu uz asins šūnu hematoloģiskiem parametriem, **ir aktuāls un palīdzēs vērtēt bioimplantu agrīno biosaderību**.

## DARBA MĒRĶIS UN UZDEVUMI

Mērķis:

- 1) Izstrādāt dinamisku testēšanas *in vitro* metodi bioimplanta ietekmes novērtēšanai uz perifēro asins šūnu hematoloģiskiem parametriem.

Uzdevumi:

- 1) Izstrādāt eksperimenta veikšanas metodiku.
- 2) Izvēlēties bioimplanta paraugus.
- 3) Atlasīt un sagatavot asins paraugus.
- 4) Izvēlieties asins šūnu skaitīšanas analizatoru un hematoloģisko parametru izmeklēšanas metodes.
- 5) Noteikt eksperimentālo rezultātu atkārtojamību.
- 6) Veikt eksperimentus un novērojumus, izmeklējot *in vitro* asins šūnu hematoloģisko parametru dinamiskās izmaiņas, kad asinis kontaktē ar bioimplanta materiālu.
- 7) Veikt iegūto rezultātu statistisko apstrādi un salīdzinošo analīzi.

## DARBA ZINĀTNISKĀ NOVITĀTE UN GALVENIE PĒTĪJUMU REZULTĀTI

- 1) Izstrādāta „ **dinamiskās testēšanas in vitro metode bioimplanta ietekmes novērtēšanai uz perifēro asins šūnu hematoloģiskiem parametriem**”.
- 2) Noskaidrots, ka dažādiem perifēro asins šūnu hematoloģiskiem parametriem statistiski ticamas izmaiņas notiek jau vienas stundas laikā pēc asins noņemšanas.
- 3) Konstatēts, kā eksperimentu ietekmē pacientu asins **individuālās īpašības**, asins „novecošanas” process (**laika faktors**) un **bioimplanta faktors**.
- 4) Noskaidrots, kā jānovērš asins **individuālo īpašību** ietekmi:
  - veicot pārbaudi vienlaicīgi gan eksperimentālā, gan referentā (kontroles) grupās un izveidojot kontroles grupu no tās pašas personas asinīm;
  - rezultātu novērtēšanai izmanto asins hematoloģisko parametru **novirzi** no to sākuma lieluma.

## PRAKTISKAIS PIELIETOJUMS

Izstrādāta metode var tikt izmantota:

- 1) Dažādu veidu implantu materiālu biosaderības pārbaudei;
- 2) Dinamiskai hematoloģisko parametru novirzes (no sākuma lieluma) novērtēšanai, kuras parādās asinīs mijiedarbībā ar bioimplantu.
- 3) Bioimplanta ietekmes novērtēšanai uz asins šūnām arī asins paraugos, kuros sākotnējo hematoloģisko parametru lielumi bija ārpus referentām robežām;
- 4) Optimāla izmeklējumu skaita noteikšanai bioimplanta ietekmes novērtēšanai uz hematoloģiskiem parametriem.

## AUTORS ŠAJĀ DARBĀ AIZSTĀV

Izstrādāto dinamisko testēšanas in vitro metodi, kas ļaus novērtēt implanta ietekmi uz organisma atbildes reakciju asins šūnu hematoloģisko parametru līmenī un palīdzēs vērtēt bioimplantu un audu agrīno biosaderību;

## DARBA APROBĀCIJA

Metode tika izmantota praksē:

- 1) Eiropas projektā PERCERAMICS notika bioimplantu materiāla kvalitātes novērtēšana;
- 2) „Paula Stradiņa veselības un sociālās aprūpes koledžā” —zinātniski pētnieciskos projektos:
  - „Asins šūnu adhēzijas īpašības”;
  - „Titāna un hidroksilapatīta slāņa ietekmes uz hematoloģiskiem rādītājiem izvērtēšanas analīzes metode ”.

Promocijas darba rezultāti izmantoti mācību procesā:

- 1) „Paula Stradiņa veselības un sociālās aprūpes koledžā” izglītības nozarēs: hematoloģijā, koaguloloģijā.
- 2) Tālākizglītības pasākumos laboratorijas speciālistiem un biomedicīnas laborantiem – Klīniski-diagnostiskajā laboratorijā SIA „BALT INFO LAB”;
- 3) Izstrādāti: 1 kvalifikācijas darbs, 1 maģistra darbs.

Disertācijas rezultāti atspoguļoti:

7 zinātnisko rakstu publikācijās un 8 konferenču tēzes, kas prezentēti 7 starptautiskas konferencēs un 10 zinātniskos semināros (6 – RTU BINI, , 2 – „Latvijas Universitātes Paula Stradiņa medicīnas koledžā, 1- Eksperimentālās un Klīniskās Medicīnas Institūtā, 1- Sarkana Krusta Medicīnas koledžā).

Darba un sadarbības bāzes:

- 1) RTU BINI „Medicīniska inženierzinātne un medicīnas fizika”;
- 2) Latvijas Universitātes Kardioloģijas zinātniskais Institūts (Latvijas Universitātes Kardioloģijas zinātniskā institūta klīniski-fizioloģisko pētījumu, zāļu un farmaceitisko produktu klīniskās izpētes Ētikas komiteja);
- 3) Eksperimentālās un Klīniskās Medicīnas Institūts;
- 4) Latvijas Universitātes P.Stradiņa Medicīnas koledža;
- 5) Sarkana Krusta Medicīnas koledža;
- 6) Klīniski-diagnostiskā laboratorijā SIA „BALT INFO LAB”, sertifikāta Nr.L-216, kur tika atlasīti **254** venozie asins paraugi, kuriem atkārtoti izmeklēti **1280** perifēro asins testi, uz **19200** hematoloģiskiem parametriem.

## PUBLIKĀCIJAS

- 1) Leice Alevtina, Dekhtyar Yuri, Britzina Natalya, "Behavior of Blood Cells being in contact with Hydroxyapatite Coated Titanium plate within an hour" 8<sup>th</sup> International Conference & Workshop, Medical Physics 2010., 14-16 oktobris 2010. Kaunas (pieņemts publikācijai).
- 2) Leice Alevtina, Dekhtyar Yuri, Britzina Natalya. "Method to test influence of bio-implants on blood cells by consecutive measurements" "Enviromental and experimental Biology" – 8.sējuma, 1-4 numurā 2010.
- 3) Leice A., Dekhtyar Y., Britzina N., Arabere L., Arhipovich V. „Human Blood Cells Affected by Hydroxyapatite Coated Titanium”. 14th. IFMBE Proceedings , volume 20, NBC – 14th Nordic-Baltic Conference on Biomedical Engineering and Medical Physics. June 16 – 20, 2008, Riga, Latvia. (*CD publikācija Nr. 157*)
- 4) Roth W., Leice A., Dekhtyar Y., Britzina N., Arabere L., Arhipovichs V. „Influence of hydroxyapatite coated titanium on human blood cell” „Biomedical Engineering”. – Kaunas University of Technology, 25-26 October 2007, pp 264-267.
- 5) Leice A., Brūvere R., Gabruseva N., Balodis V.. Evaluation of Chernobyl Accident Late Health Effects by Hematological and Clinical Biochemistry tests. Acta Universitatis Latviensis. Medicine, 2001, N 643, p. 76 – 84.
- 6) Mazarevica G., Freivalds T., Bruvere R., Gabruseva N., Leice A., Zvagule T.. Reactive Properties of separate erythrocytes of Chernobyl clean-up workers at different pH. - SPIE Proceedings. Optical Diagnostic of Living Cells. III, San Jose, USA, 2000, vol. 3921, p. 163 – 171.
- 7) Mazarevica G., Freivalds T., Bruvere R., Gabruseva N., Leice A., Zvagule T.. Changes in optical properties of erythrocytes at different pH in Chernobyl clean-up workers. - Scientific Problems of Disaster Medicine and Emergency Medical Aid. Proceedings Acad Sci Ukraine. Kiev, Ukraine. 2000, p. 509 – 516.

## DARBA STRUKTŪRA UN APJOMS

Promocijas darbs ir uzrakstīts latviešu valodā, satur ievadu, 3 nodaļas, secinājumus, literatūras sarakstu, pielikumus, zīmējumus un ilustrācijas, kopā 97 lappuses. Literatūras sarakstā ir 120 nosaukumi.

# METODES UN MATERIĀLI

## Pētījumu metodika

Šajā darbā veiktie eksperimenti ir veikti ar Latvijas Universitātes Kardioloģijas zinātniskā institūta klīniski-fizioloģisko pētījumu, zāļu un farmaceitisko produktu klīniskās izpētes Ētikas komitejas atļauju.

Pētījumā kopumā no brīvprātīgām personām vecumā no 18. līdz 70. gadiem tika atlasīti **254** pārpalikušie anonīmie venozie perifēro asins paraugi [53], kuriem bija veikti **1280** testi, uz **19200** hematoloģiskiem parametriem. Pētniecības metode ir kvantitatīvi eksperimentālā.

Venozās asinis bija savāktas Becton-Dickinson vakutaineros ar K<sub>2</sub>EDTA antikoagulantu. Katra parauga tilpums ir 3 ml. Starp izmeklējumiem asins paraugi atrodas pie temperatūrā no +18° līdz +22° C un tiek izmeklēti vienas stundas laikā ar hematoloģisko analizatoru ABX Micros OT.

Analīze veikta SIA „BALT INFO LAB” sertificētā klīniski-diagnostiskā laboratorijā 15 asins parametriem, kurus izmanto klasiskajos klīniskos izmeklējumos: eritrocītu skaits, eritrocītu vidējais tilpums, eritrocītu lieluma sadales plašums, hemoglobīna saturs asinīs, hemoglobīna vidējais saturs eritrocītā, hemoglobīna vidējā koncentrācija eritrocītā, hematokrīts, trombocītu skaits, vidējais trombocītu tilpums, trombocītu lieluma sadales plašums, trombocitokrīta %, leukocītu skaits, un leukocītu sadalījums trīs % daļās — granulocīti, monocīti, limfocīti [1, 31, 34, 35, 36, 39, 40, 43, 50, 61, 63, 84, 85, 93, 96, 98, 108, 111].

Katrs asins paraugs tika sadalīts divās porcijās, no kurām viena porcija ņemta kā referentais paraugs, bet testējamais bioimplants tiek ievietots otra eksperimentālajā asins porcijā (attiecības 1:10). Abu grupu asins paraugi atkārtoti testēti laika dinamikā (eksperimenta sākumā – 0, un tālāk, pēc 10, 20, 40 un 60 minūtēm no eksperimenta sākuma).

Izstrādājot bioimplanta testēšanas metodi [57, 59] tika novērsti pētījuma rezultātu ietekmējošie faktori [2, 4, 5, 7, 8, 11, 13, 15, 21, 22, 27, 29, 30, 33, 41, 42, 44]:

- 2) pirmsanalītiskās izmeklēšanas fāzes subjektīvais faktors tika novērsts, ievērojot asins noņemšanas, glabāšanas un sagatavošanas procedūras noteikumus;
- 3) ar analītisko fāzi saistītie faktori [13,28,] tika stabilizēti, izmantojot automatizēto precīzo tehnoloģiju un to kļūdu lielumi novērtēti atkārtotam eksperimentā [28, 105];
- 4) Pētāmā objekta faktori — asins „novecošanās” *in vitro* un pacienta asins individuālas īpašības tika analizētas izmeklējot referento paraugu [25, 30, 60, 69, 73, 74, 76, 100].

## Bioimplantu materiāls un modelis

Bioimplanta materiāls testēšanai tika izvēlēts, ņemot vērā to plašo izmantošanu transplantoloģijā. Eksperimentiem tika izvēlēts implanta modelis [110], kas izgatavots no titāna (Ti) sakausējuma **Ti6Al4V**, kas savukārt ir pārklāts ar hidroksilapatītu (HAP) slāni [16, 19, 23, 35, 46, 55, 65, 80, 115, 116]. Titāna paraugi 2 mm biezas plāksnītes (1 x 2 cm) tika izgrieztas no titāna lentes, kas bija saņemti no Eiropas projekta PERCERAMICS.

## Rezultātu statistiskā apstrāde

Tika izmantoti statistiskie rādītāji [6]: aritmētiskā vidējā vērtība ( $\bar{x}$ ); standartnovirze (SD); vidējās vērtības standartkļūda (SEM); vidējās vērtības ticamības intervāls (TI).

Statistiskai novērtēšanai un rezultātu salīdzinājumam tika izmantoti: datu noteikšanas atkārtojamības analīze; viena faktora dispersijas analīze; divu faktoru dispersijas analīze; korelācijas analīze.

Referentā un eksperimentālā paraugu asins parametru rezultāti tika statistiski salīdzināti (ticamība 95%).

## Atkārtojamības novērtēšana

Eksperimentam izmantots venozais asins paraugs, kurš izmeklēts 14 reizes stundas laikā ar vienu konkrēto analizatoru ABX Micros OT. No iegūtiem datiem aprēķināta atkārtojamība [28, 105].

Asinis ņemtas no vienas personas un ar to dažādu cilvēku asins individuālās atšķirības ir izslēgtas. Laika intervāls starp mērīšanas cikliem ir 4 minūtes, un ar laiku noritošs asins novecošanās process *in vitro* ir nebūtisks.

Precīzi ievēroti izmeklēšanas noteikumi, uzturot pastāvīgo istabas temperatūras lielumu +18... +22 °C, stobriņu maisīšanas režīmu un ātrumu (8 apgriezieni / 8 sekundēs). Analītiska procesa apstākļi eksperimenta laikā bija pastāvīgi: vienas un tādas pašas noteikšanas metodes, kalibratori, kontrolmateriāli, reaģenti.

Pie šiem nosacījumiem starpības, kas parādās asins parametros, noteiktas īsā laika intervālā (4 min), ņemot vērā aprēķinātas parametru  $SD_w$ , ir esošā eksperimenta atkārtojamības

kļūdās, kuras iekļaujas analizatora ražotāja noteiktajās robežās [28] un kuras **ir nebūtiskas**, tādēļ metode ļauj notvert pat minimālas asins parametru izmaiņas.

Tā kā 4 minūšu laika intervālā asins parametru atkārtojamības nenoteiktība ir daudz mazāka par asins parametru vērtībām, ir pieņemts veikt mērījumus 4 minūšu laikā, bet testējot bioimplantu ietekmi ar intervāliem 10, 20, 40 un 60 minūtes, kas ir daudz lielāki par 4 minūtēm.

### **Laika faktora ietekme**

Bioimplanta ietekmes novērtēšanai uz asins šūnām nepieciešams izveidot salīdzinājuma (references) grupu. Šim nolūkam veikts eksperiments ar 111 venoziem asins paraugiem, kuri savākti vakutainerā ar K<sub>2</sub>EDTA. Asinis izmeklētas 2 reizes ar laika intervālu viena stunda pēc izstrādātas eksperimenta metodes noteikumiem. No iegūto datu rezultātiem izveidota referento paraugu datu bāze (DB.RP).

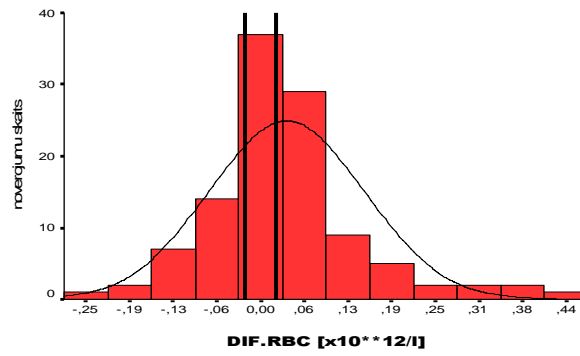
Pielietojot vienfaktora dispersijas analīzi ir aprēķināti *laika faktora* („K”) ietekmes piecpadsmiit asins parametriem *Fišera* kritēriji, izmantojot ANOVA datorprogrammu.

*Laika faktors* statistiski ticami ietekmē [51, 72, 77, 81, 87, 88, 89, 90, 92, 97, 104, 106, 107, 109, 113, 118, 119] DIF.RBC, DIF.HGB, DIF.HCT, DIF.MCV, DIF.RDW, DIF.MPV, DIF.PDW asins parametru starpības, kas norāda uz būtiskām izmaiņām asins rādītājos, kuras parādās pēc vienas stundas pēc asins noņemšanas, glabājot asinis istabas temperatūrā +18... +22 °C .

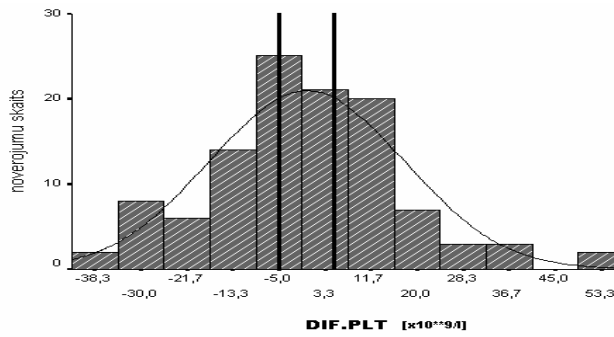
### **Asins paraugu individuālo īpašību ietekmes novērtšana**

Lai redzētu individuālas asins parametru novirzes no sākuma lielumiem, kas raksturo pētāmo objektu (asinis), tika analizētas iegūtās asins parametru starpības [DIF], no kurām konstruētas histogrammas, piemēram DIF.RBC, DIF.PLT, DIF.WBC (Attēli 1.- 3.). Katrā histogrammā ir iezīmētas divas vertikālās līnijas, kuras norāda asins parametru atkārtojamības standarta deviācijas ( $SD_a$ ) lieluma robežas, kas ņemtas no atkārtojamības kļūdās novērtēšanas iegūtiem rezultātiem.

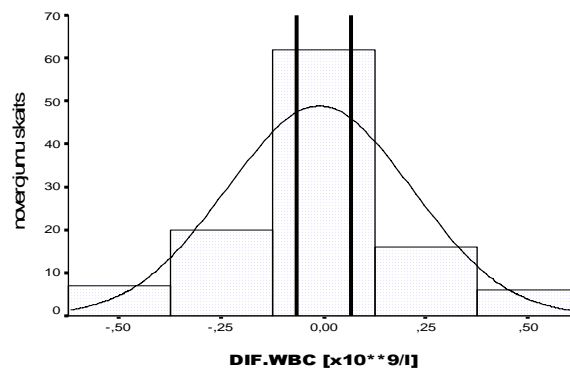
Tika novērtēts, cik lielā mērā asins parametru dispersija ir salīdzināma ar atkārtojamības standarta novirzi ( $SD_a$ ). Histogrammu (Att.1.-3.)analīze norāda uz to, ka asins parametru lielumu variācijas nav saistītas ar noteikšanas kļūdām analizatorā.



1.att. DIF.RBC histogramma



2.att. DIF.PLT histogramma



3.att. DIF.WBC histogramma

Lai iegūtu papildu pierādījumu, ka iegūtie rezultāti nav saistīti ar noteikšanas kļūdām analizatorā, ir izrēķinātas **lineārās** korelācijas koeficienti starp 3 asins šūnu skaitu izmaiņām (1. tabula), kuru noteikšanas principi nav metodoloģiski saistīti.

1. tabula

Korelācijas koeficienti starp 3 asins parametru izmaiņām

Asins parametru starpības [DIF]	Statistiskie rādītāji	DIF.RBC [10 <sup>12</sup> /l]	DIF.PLT [10 <sup>9</sup> /l]	DIF.WBC [10 <sup>9</sup> /l]
DIF.RBC [10 <sup>12</sup> /l]	<i>r</i>	1	<b>0,248(**)</b>	<b>0,319(**)</b>
	<i>p</i> -vērtība	.	0,009	0,001
	N	111	111	111
DIF.PLT [10 <sup>9</sup> /l]	<i>r</i>	0,248(**)	1	<b>0,361(**)</b>
	<i>p</i> -vērtība	,009	.	0,000
	N	111	111	111
DIF.WBC [10 <sup>9</sup> /l]	<i>r</i>	0,319(**)	0,361(**)	1
	<i>p</i> -vērtība	0,001	0,000	.
	N	111	111	111

\*\* Korelācija ir ticama ar *p*-vērtību < 0.01.

1. tabulā ir konstatēta cieša pozitīva korelācija ar *p*-vērtību < 0.01 starp eritrocītu un leikocītu skaita starpībām (DIF.RBC un DIF.WBC), starp eritrocītu un trombocītu skaita starpībām (DIF.RBC un DIF.PLT), kā arī starp leikocītu un trombocītu skaita starpībām (DIF.WBC un DIF.PLT). Tas pierāda, ka asins parametros ir likumsakarīgas izmaiņas, kuras var rasties, saglabājot asinis 1 stundas laikā *in vitro* istabas temperatūrā, kas saistītas ar pašu asiņu individuālām īpašībām, nevis ar noteikšanas metodēm.

Lai novērstu asins **individuālo īpašības** ietekmi, nosakot bioimplanta ietekmi, jāveic eksperimentālo un referento paraugu izmeklēšanu vienlaicīgi, izveidojot kontroles grupu no vienu un to pašu personu asinīm un, otrkārt, jāanalizē asins parametru starpības no sākuma lieluma. Sākuma lielumi (asins parametru individuālas atšķirības) šajā gadījumā pielīdzinās nullei, kas samazina pacienta individuālo īpašību ietekmi.

# BIOIMPLANTA MODEĻA IETEKME UZ ASINS ŠŪNU PARAMETRIEM

## Titāna implants, pārklāts ar hidroksilapatītu

70 brīvprātīgo abu dzimumu personu venozās asinis tika savāktas vakutaineros ar K<sub>2</sub>EDTA un izmeklētas atbilstoši eksperimenta metodes aprakstītiem apstākļiem, aparāturu un nosakot 15 asins parametrus.

Uzsākot asins parametru mērījumus to rezultātiem tika piešķirts indekss „0”. Piemēram, RBC<sub>0</sub> — eritrocītu skaits, kas ir noteikts eksperimenta sākumā. Pēc tam katrs asins paraugs pēc šūnu netraumējošas samaisīšanas sadalīts divās porcijās. Viena porcija ņemta tālāk kā eksperimenta asins paraugs (EP), kurā tiek ievietots testējamais bioimplanta paraugs, bet otra paliek kā referentās (kontroles) grupas paraugs (RP).

Pēc 10 minūšu glabāšanas istabas temperatūrā katram no paraugiem — referentajam un eksperimentālajam tika noteikti 15 asins parametri. Rezultātiem piešķirts testēšanas indekss „10” (RBC<sub>10</sub>, WBC<sub>10</sub>, HGB<sub>10</sub> utt.). Līdzīgi asins parametru noteikšana atkārtota pēc 20 minūšu inkubācijas/glabāšanas laika — testēšanas indekss „20”. Testēšana ar indeksu „40” veikta pēc 40 minūtēm un ar indeksu „60” — pēc 60 minūšu inkubācijas/glabāšanas. No iegūtiem datiem izveidota datu bāze (DB.TEST).

Katram asins parametram katrā testēšanas reizē un katram parauga veidam atsevišķi aprēķināti vidējie lielumi ar 95% ticamības intervālu.

Katram asins parametram tika aprēķināts no laika atkarīgs pieaugums, salīdzinot ar sākuma testa lielumu. Šis pieaugums (starpība) ir nosaukts par „DIF”. Piemēram, eritrocītu skaita pieaugums  $DIF.RBC_{10} = RBC_{10} - RBC_0$ . Tas ir: no eritrocītu skaita, kas noteikts paraugā pēc 10 minūtēm no eksperimenta sākuma (RBC<sub>10</sub>), ir atņemts sākuma eritrocītu skaits (RBC<sub>0</sub>). Attiecīgi tika rēķinātas pārējās starpības:

$$DIF.RBC_{20} = RBC_{20} - RBC_0$$

$$DIF.RBC_{40} = RBC_{40} - RBC_0$$

$$DIF.RBC_{60} = RBC_{60} - RBC_0$$

Šajā gadījumā  $DIF.RBC_0 = RBC_0 - RBC_0 = 0$ . Starpības tika aprēķinātas visiem 15 asins parametriem. Asins parametru izmaiņu procesā iesaistīti 2 faktori — **laika faktors** un **bioimplanta faktors**. Tādēļ datu statistiskam aprēķinam tika pielietota divu faktoru dispersijas analīze, gan absolūtiem parametru skaitļiem, gan parametru lielumu starpībām. Par faktoriem tika pieņemti „laiks” („K” faktors) un „bioimplants” („B” faktors).

Testēšanas laiks pēc testēšanas kārtības tiek sadalīts klasēs, piešķirot katrai klasei vērtību, kas ir vienāda ar laika intervālu starp testēšanas laika brīdi un asins parauga noņemšanu no pacienta: „0” – sākuma testēšana;

„10” – testēšana, kas tika veikta pēc 10 minūšu asins parauga uzglabāšanas (t.i. 10 minūtes pēc sākuma testēšanas);

„20” – testēšana, kas tika veikta pēc 20 minūšu asins parauga uzglabāšanas (t.i. 20 minūtes pēc sākuma testēšanas);

„40” – testēšana, kas tika veikta pēc 40 minūšu asins parauga uzglabāšanas (t.i. 40 minūtes pēc sākuma testēšanas);

„60” – testēšana, kas tika veikta pēc 60 minūšu asins parauga uzglabāšanas (t.i. 60 minūtes pēc sākuma testēšanas).

Bioimplantam („B” faktoram) ir divas gradācijas: „0” – referenta asins paraugs, „1” – eksperimentālais asins paraugs ar ievietotu bioimplanta plātnīti.

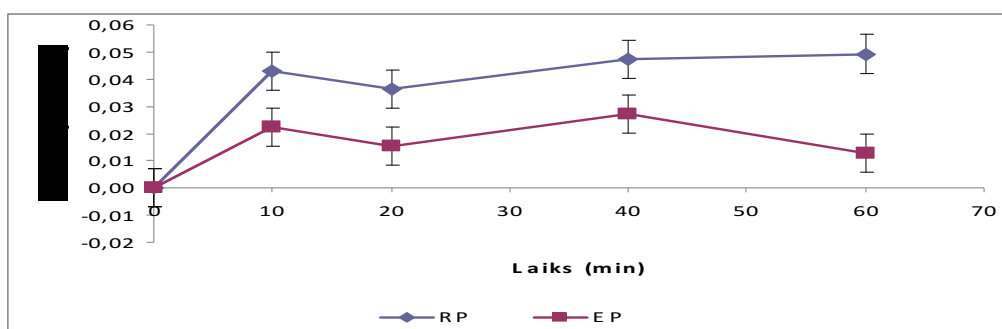
2. tabula

Laika faktora (K) un bioimplanta faktora (B) ietekmes uz asins parametru izmaiņu DIF dispersijas analīze

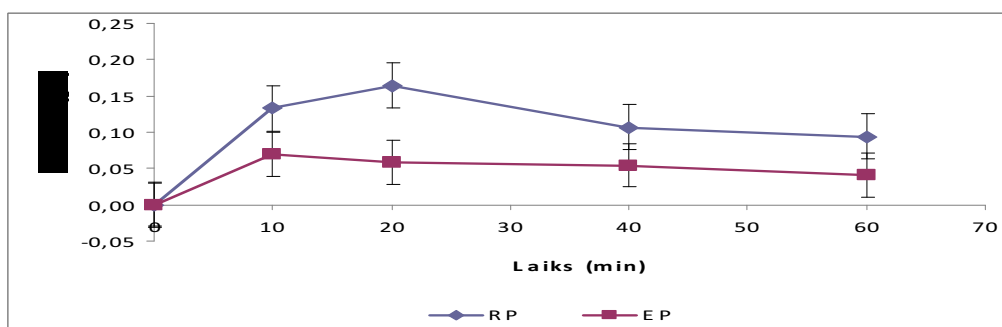
DIF	n	K” faktors		“B” faktors	
		F	p	F	p
<b>DIF.RBC</b>	700	3,05	<b>0,016</b>	6,72	<b>0,010</b>
<b>DIF.HGB</b>	700	3,3	<b>0,010</b>	6,5	<b>0,011</b>
<b>DIF.HCT</b>	700	1,48	0,206	4,27	<b>0,039</b>
DIF.MCV	700	1,46	0,212	3,02	0,083
DIF.MCH	700	2,45	<b>0,044</b>	0,041	0,840
DIF.MCHC	700	2,396	<b>0,049</b>	0,250	0,617
DIF.RDW	700	11,9	<b>0,000</b>	0,048	0,827
<b>DIF.PLT</b>	700	0,41	0,800	12,9	<b>0,000</b>
<b>DIF.PCT</b>	700	2,3	<b>0,054</b>	6,9	<b>0,009</b>
DIF.MPV	700	11,2	<b>0,000</b>	0,526	0,469
DIF.PDW	700	0,62	0,648	0,26	0,611
DIF.WBC	700	0,7	0,557	0,10	0,752
<b>DIF.LY</b>	698	15,2	<b>0,000</b>	14,5	<b>0,000</b>
<b>DIF.MON</b>	698	20,3	<b>0,000</b>	20,6	<b>0,000</b>
<b>DIF.GRA</b>	698	7,843	<b>0,000</b>	4,643	<b>0,032</b>

Iegūtie rezultāti no asins parametru absolūto lielumu dispersijas analīzes norāda uz nebūtiskām izmaiņām ( $p > 0,05$ ) gan attiecībā pret laika faktoru, gan attiecībā pret bioimplanta faktoru. Turpretim dispersijas analīzē, kur par mainīgo atkarīgo ņemta asins parametru starpība

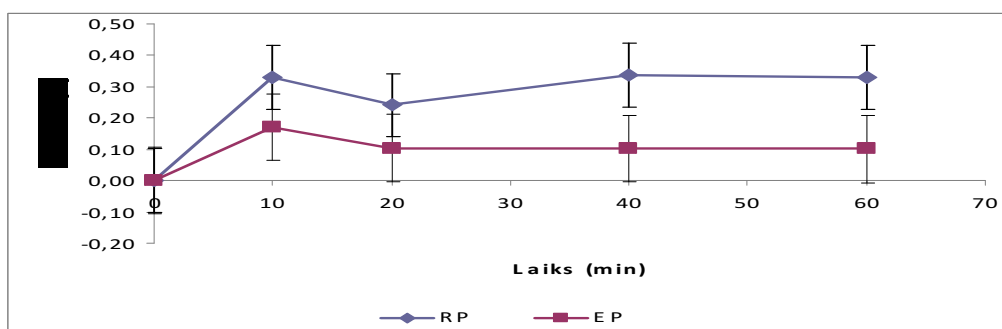
(DIF), vairākiem no rādītājiem ir statistiski ticamas abu faktoru ietekmes — gan **laika faktoram**, gan **bioimplanta faktoram** (Tabula 2.). Piemēram, attēli 4.–11. arī ilustrē asins parametru DIF dinamiku testējot stundas laikā asins EP un RP paraugus. Katram DIF asins parametram aprēķināta vidējās vērtības standartklūda (SEM), ņemot aprēķinam 5 testu rezultātus EP un RP asins paraugiem atsevišķi. Iegūtā SEM dubultota (ievērojot likumu par kļūdu summēšanu) un iezīmētā attēlos:



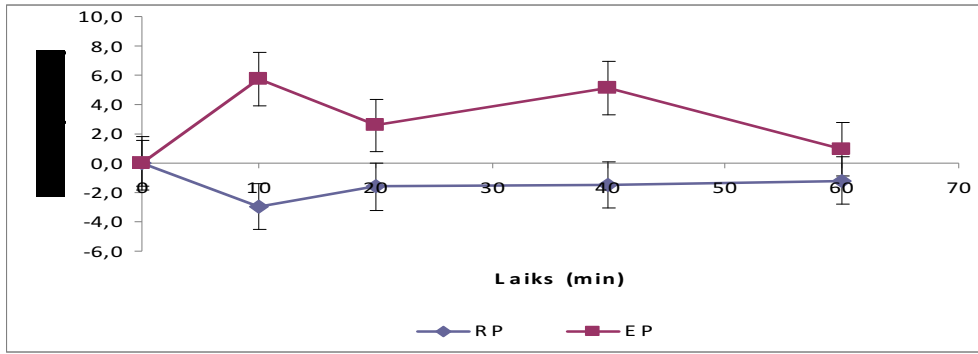
4. att. Eritrocītu skaita starpību (DIF) izmaiņas RP un EP asins paraugiem



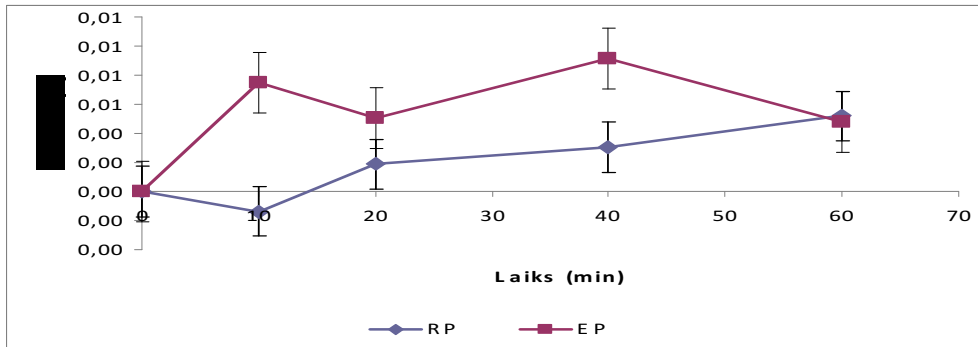
5. att. Hemoglobīna daudzuma starpību (DIF) izmaiņas RP un EP asins paraugiem



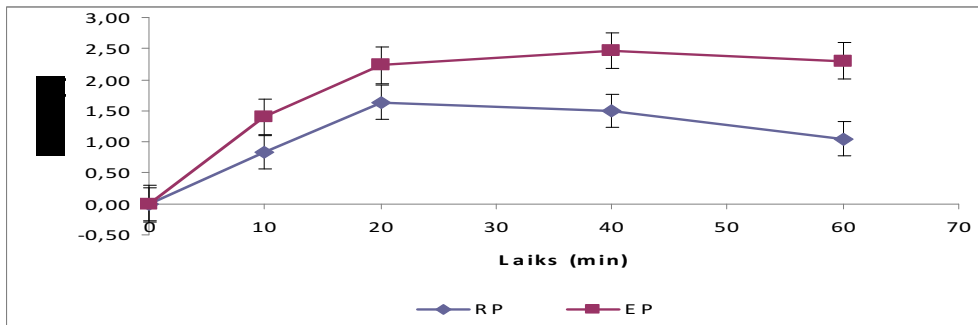
6. att. HCT lieluma starpību (DIF) izmaiņas RP un EP asins paraugiem



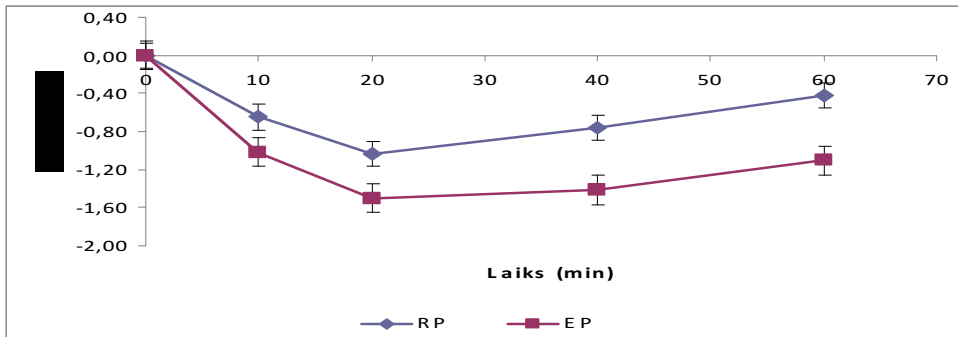
7 att.. Trombocītu skaita starpību (DIF) izmaiņas RP un EP asins paraugiem



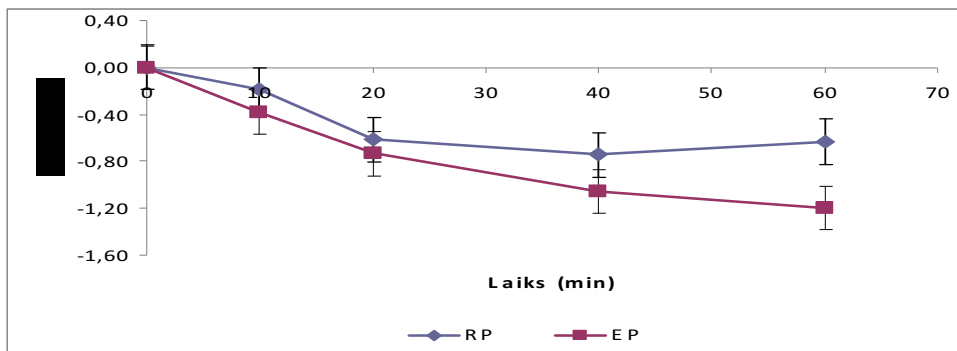
8. att.PCT lieluma starpību (DIF) izmaiņas RP un EP asins paraugiem



9. att.Limfocītu % starpību (DIF) izmaiņas RP un EP asins paraugiem



10. att. Monocītu % starpību (DIF) izmaiņas RP un EP asins paraugiem



11. att. Granulocītu % starpību (DIF) izmaiņas RP un EP asins paraugiem

Novērtējot dažādu asins parametru starpību (DIF) EP un RP paraugos var secināt, ka EP un RP starpība pierāda būtisko bioimplanta (Ti-HAP) ietekmi uz asins parametriem: DIF RBC ( $p < 0.010$ ), DIF HGB ( $p < 0.011$ ), DIF HCT ( $p < 0.039$ ), DIF PLT ( $p < 0.001$ ), DIF PCT ( $p < 0.009$ ), DIF LY ( $p < 0.001$ ), DIF MON ( $p < 0.001$ ) un DIF GRA ( $p < 0.032$ ).

Trombocītu skaita izmaiņas būtiski atšķīrās referentajam un eksperimentālajam paraugam, norādot uz pārmaiņām bioimplanta (Ti-HAP) klātbūtnē. Var domāt, ka vai nu trombocīti pakļaujas disagregācijas procesam, vai eritrocīti (kas ir 3–4 reizes lielāki par trombocītiem) daļēji sabrūk un to mazās daļiņas tiek skaitītas analizatorā kā trombocīti, vai arī bioimplants izsauc trombocītu antiagregāciju. Šo procesu iespējami ietekmē hidroksilapatīta slānis, kas atrodas kontaktā ar asins šūnām, jo ir zināms, ka hidroksilapatīts ir bioaktīvs [16].

Izteikti mainās eritrocītu skaits. DIF.RBC skaits, spriežot pēc divu faktoru dispersijas analīzes rezultātiem, pakļauts laika izmaiņām (**laika faktoram**), palielinoties gan eksperimentālajā, gan referentajā paraugā. Bet eritrocītu skaita pieaugums ir atkarīgs no šūnu kontakta ar bioimplantu, kurš samazina šī procesa intensitāti: **bioimplanta faktoram** ir statistiski ticama ietekme ( $p$ -vērtība  $< 0.010$ ).

Novērotie dati saskan ar rezultātiem, kas iegūti pētījumā, kur eritrocītu membrāna tika mērīta ar atomspēka mikroskopu [71]. Darbā iegūtie dati liecina par to, ka eritrocītu membrāna paliek „cietāka”, ja asins paraugā ievietota Ti-HAP plāksnīte. Tas var liecināt, ka **kontakts ar bioimplantu stabilizē eritrocīta membrānu**.

Leikocīti (vislielākās pēc izmēra asins šūnas) ir visstabilākās attiecībā pret **laika** ( $p = 0,557 > 0.05$ ) un **bioimplanta faktoriem** ( $p = 0,752 > 0.05$ ). Kaut gan, leikocītu subpopulāciju sadalījums izteikti mainās ar laiku (DIF.LY, DIF.GRA un DIF.MON **laika faktora**  $p < 0.001$ ), pieaugot mazāko pēc izmēra leikocitāro šūnu skaitam — DIF.LY un samazinoties lielāka izmēra leikocitāro šūnu skaitam (DIF.GRA un DIF.MON subpopulācijas), kas saskan ar literatūras datiem un pamatojas uz automātiskās skaitīšanas šūnu klasifikācijas izmaiņām [76].

Šo procesu būtiski ietekmē bioimplants (**bioimplanta faktora** DIF.LY un DIF.MON  $p < 0.001$ , DIF.GRA  $p < 0.032$ ).

Novērojumu ar monocītu izmēra samazināšanos līdz limfocītu izmēram, kas savukārt noveda pie izmaiņām automātiskās skaitīšanas šūnu klasifikācijas, var izskaidrot ar šūnu rekrutāciju mazākajā leikocītu subpopulācijas grupā. Limfocitārās un monocitārās leikocītu subpopulācijas dinamiskas izmaiņas ir cieši saistītas ar laiku ( $p < 0.001$ ), bet to intensitāti modulē bioimplanta klātbūtne ( $p < 0.001$ ).

### Testēšanas reižu laika intervālā rezultātu verifikācija

70 asins paraugi testēti 5 reizes vienas stundas laikā, nosakot 15 asins parametrus. Dispersijas analīzē **laika faktora** („K” faktors) un Ti-HAP **bioimplanta faktora** („B” faktors) ietekmes novērtēšanai tika aprēķinātas  $p$ -vērtības (3. tabula). Dispersijas analīze tika atkārtota 4 reizes, dažādi kombinējot analīžu testēšanas laikus. Izmantotas sekojošas testēšanas laika intervāla kombinācijas:

- 1) divu testu kombinācija (0. un 60. minūtēs veiktos testus);
- 2) trīs testu kombinācija (0., 40. un 60. minūtēs veiktos testus);
- 3) četru testu kombinācija (0., 20., 40. un 60. minūtēs veiktos testus);
- 4) piecu testu kombinācija (0., 10., 20., 40. un 60. minūtēs veiktos testus).

Divu testu kombinācijas rezultātiem, kas veikti ar 1 stundas intervālu, ir lielāka starpība referento un eksperimentālo paraugu asins parametriem (atšķirībā no piecu testu kombinācijas), jo šajā gadījumā ir maksimālais ekspozīcijas laiks bioimplantam ar asinīm, bet aprēķiniem ņemto gadījumu skaits ir vismazākais.

Savukārt piecu testu kombinācijas rezultātiem ir maksimālais analizēto gadījumu skaits statistikai, bet ar mazāko katra testēšanas laika rezultātu atšķirību (jo laika starpība ir īsāka). Divu faktoru dispersijas analīzē iegūtās  $p$ -vērtības, kuras raksturo **laika faktora** („K” faktors) un **bioimplanta faktora** („B” faktors) ietekmes būtiskumu 15 asins parametru starpībām atspoguļotas tabulā 3. Ja nozīmīguma līmenis  $p < 0.05$ , tad faktora ietekme uzskatīta par būtisku (attēlos apzīmēts ar \*), un faktora ietekmes būtiskums palielinājās ar nozīmīguma līmeņa ( $p$ -vērtību) samazināšanos. Nozīmīguma līmenis  $p > 0.05$  noraida faktora ietekmi.

Divu faktoru dispersijas analizē iegūtas  $p$ -vērtības, raksturojošas laika („K”) un bioimplanta Ti-HAP(„B”) faktoru būtiskumu pie dažādām testēšanas laika kombinācijām.

Asins parametri (atkarīgais mainīgais)	Pārbaudāmie faktori (neatkarīgie mainīgie)	Dažādo testēšanas laika kombināciju un neatkarīgo mainīgo faktoru $p$ -vērtības			
		0. un 60. min. testi	0., 40. un 60. min. testi	0., 20., 40. un 60. min. testi	0., 10., 20., 40. un 60. min. testi
DIF.RBC [ $10^{12}/l$ ]	„K” faktors	<b>0.001</b>	<b>0.001</b>	<b>0.006</b>	<b>0.016</b>
	„B” faktors	<b>0.049</b>	<b>0.030</b>	<b>0.016</b>	<b>0.010</b>
DIF.HGB [g/l]	„K” faktors	<b>0.008</b>	<b>0.018</b>	<b>0.007</b>	<b>0.010</b>
	„B” faktors	0,297	0,159	<b>0.023</b>	<b>0.011</b>
DIF.HCT [%]	„K” faktors	<b>0,013</b>	0,062	0,160	0,206
	„B” faktors	0,187	0,077	<b>0,058</b>	<b>0,039</b>
DIF.MCV [ $\mu\text{m}^3$ ]	„K” faktors	<b>0,003</b>	<b>0,028</b>	0,109	0,212
	„B” faktors	0,244	0,115	0,106	0,083
DIF.MCH [pg]	„K” faktors	0,182	0,432	<b>0,019</b>	<b>0,044</b>
	„B” faktors	0,260	0,439	0,866	0,840
DIF.MCHC [g/dl]	„K” faktors	0,942	0,982	<b>0,019</b>	<b>0,049</b>
	„B” faktors	0,346	0,790	0,673	0,617
DIF.RDW [%]	„K” faktors	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>
	„B” faktors	0,848	0,870	0,849	0,827
DIF.PLT [ $10^9/l$ ]	„K” faktors	0,937	0,506	0,727	0,800
	„B” faktors	0,511	<b>0,057</b>	<b>0,017</b>	<b>0,001</b>
DIF.PCT [%]	„K” faktors	<b>0,006</b>	<b>0,012</b>	<b>0,029</b>	<b>0,054</b>
	„B” faktors	0,915	0,285	0,147	<b>0,009</b>
DIF.MPV [ $\mu\text{m}^3$ ]	„K” faktors	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>
	„B” faktors	0,143	0,276	0,198	0,469
DIF.PDW [%]	„K” faktors	0,296	0,606	0,704	0,648
	„B” faktors	0,191	0,446	0,359	0,611
DIF.WBC [ $10^9/l$ ]	„K” faktors	0,376	0,475	0,697	0,557
	„B” faktors	0,670	0,942	0,836	0,752
DIF.LY [%]	„K” faktors	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>
	„B” faktors	<b>0,010</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>
DIF.MON [%]	„K” faktors	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>
	„B” faktors	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>
DIF.GRA [%]	„K” faktors	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>
	„B” faktors	0,105	0,070	0,090	<b>0,032</b>

Asins parametru starpību divu faktoru dispersijas analīzē iegūtās  $p$ -vērtības no 3. tabulas var redzēt, ka **bioimplanta faktoru ietekmes novērtēšanai** ir raksturīga vismazākā  $p$ -vērtība testējot paraugus 5 reizes un vislielākā — testējot divas reizes ar vienas stundas intervālu, bet vismazākā  $p$ -vērtība ir **laika faktoram**, ja analīzē iekļauti divu testu rezultāti: sākuma testa (0. minūtes) un beigu testa (60. minūtes) rezultāti.

Bioimplanta ietekmi vislabāk var novērtēt, ja ir ņemti piecu testēšanas laiku intervāli, bet **laika faktora** ietekmi uz asins parametriem var novērtēt, veicot dispersijas analīzi tikai ar divu testu (stundu laika intervālā) asins parametru datiem.

Izvērtētie divu faktoru dispersijas analīzes rezultāti ļauj secināt, kā testēšanas reižu kombinācijas nav vienādi jūtīgas pret **laika faktoru** un pret **bioimplanta faktoru**.

## **Bioimplanta materiāla ietekme uz asinīm ar pazeminātu hemoglobīna saturu**

Var domāt, ka patoloģiskās asinīs ir asins šūnas ar izmainītu membrānas caurlaidību un tādēļ var nereaģēt vai reaģēt uz bioimplantu. Lai pārbaudītu šo pieņēmumu, ir veikts asins parametru dinamisko pārmaiņu *in vitro* novērtējums asins paraugos ar samazinātu hemoglobīna saturu.

Tika izveidota asins paraugu grupa (20 asins paraugi) ar bieži sastopamo patoloģiju — pazeminātu hemoglobīna saturu ( $HGB \leq 12.5$  g/dl). Saskaņā ar izstrādāto dinamiskās testēšanas metodi, noteikti 15 asins parametri atbilstoši eksperimenta metodes aprakstītiem apstākļiem.

Katrs asins paraugs tika sadalīts divās porcijās — referentais un eksperimentālais. Eksperimentālajos asins paraugos ievietotas ar hidroksilapatītu pārklātas titāna plāksnītes. Visi asins paraugi testēti 10, 20, 40 un 60 minūtes pēc sākuma testēšanas. Matemātiskai datu apstrādei izmantota divu faktoru dispersijas analīze.

Tabulā 4. atspoguļotas **bioimplanta faktoru**  $p$ -vērtības grupā ar pazemināto hemoglobīna saturu ir novērots:

1) Ti-HAP ietekmē asinis ar pazeminātu hemoglobīna saturu statistiski ticami reaģē uz bioimplanta klātbūtni: DIF.RBC  $p = 0.053$ , DIF.HGB  $p = 0.048$ , DIF.HCT  $p = 0.090$ , DIF.PLT  $p = 0.020$ , DIF.PCT  $p = 0.029$ , DIF.LY  $p = 0.020$  un DIF.MON  $p = 0.008$ .

2) Novērotās būtiskās izmaiņas liecina par to, ka izstrādāto dinamiskās testēšanas *in vitro* metodi uz asins parametriem var izmantot implanta bioaktivitātes novērtēšanai asins paraugos ne tikai asinīs ar normālo sastāvu, bet arī asinīs ar novirzi no referentiem lielumiem.

4. tabula

*Bioimplanta* („B”) – dispersijas analīzē iegūtas *p*-vērtības piecu testu (0., 10., 20., 40. un 60. min.) dinamikā 20 asins paraugiem ar pazeminātu HGB līmeni ( $HGB \leq 12.5$  g/dl)

Asins parametri (atkarīgais mainīgais)	Pārbaudāmie faktori (neatkarīgie mainīgie)	neatkarīgo mainīgo faktoru <i>p</i> -vērtības
<b>DIF.RBC</b> [ $\cdot 10^{12}/l$ ]	„B” faktors	<b>0,053</b>
<b>DIF.HGB</b> [g/l]	„B” faktors	<b>0,048</b>
<b>DIF.HCT</b> [%]	„B” faktors	<b>0,090</b>
DIF.MCV [ $\mu m^3$ ]	„B” faktors	0,540
DIF.MCH [pg]	„B” faktors	0,629
DIF.MCHC [g/dl]	„B” faktors	0,784
DIF.RDW [%]	„B” faktors	0,357
<b>DIF.PLT</b> [ $\cdot 10^9/l$ ]	„B” faktors	<b>0,020</b>
<b>DIF.PCT</b> [%]	„B” faktors	<b>0,029</b>
DIF.MPV [ $\mu m^3$ ]	„B” faktors	0,154
DIF.PDW [%]	„B” faktors	0,070
DIF.WBC [ $\cdot 10^9/l$ ]	„B” faktors	0,524
<b>DIF.LY</b> [%]	„B” faktors	<b>0,020</b>
<b>DIF.MON</b> [%]	„B” faktors	<b>0,008</b>
DIF.GRA [%]	„B” faktors	0,283

## Titāna implants

Tika izveidota asins paraugu grupa (16 asins paraugi), lai pārbaudītu titāna implanta (nepārklāto ar HAP) ietekmi uz asins parametriem. Saskaņā ar izstrādāto dināmiskās testēšanas metodi, noteikti 15 asins parametri eksperimenta sākumā. Eksperimentālajos asins paraugos ievietoti titāna plāksnītes. Visi asins paraugi testēti 10, 20, 40 un 60 minūtes pēc sākuma testēšanas.

Matemātiskai datu apstrādei izmantota viena faktora dispersijas analīze (ANOVA). Bioimplants būtiski ietekmē (5.tabula) sarkanās rindas rādītājus – DIF.HGB ( $p < 0,021$ ), DIF.HCT ( $p < 0,053$ ), DIF.MCV ( $p < 0,003$ ) un DIF.MCH ( $p < 0,029$ ).

5. tabula

RP un EP (ar titānu nepārklāto ar HAP) paraugu salīdzinājums

Viena faktora dispersijas analīze

Asins parametri	<i>n</i>	<i>Fišera kritērijs</i>	<i>Nozīmīguma līmenis (p-vērtība)</i>
DIF.RBC [ $10^{12}/l$ ]	158	2,375	0,125
<b>DIF.HGB [g/l]</b>	158	5,406	<b>0,021</b>
<b>DIF.HCT [%]</b>	158	3,799	<b>0,053</b>
<b>DIF.MCV [<math>\mu\text{m}^3</math>]</b>	158	9,200	<b>0,003</b>
<b>DIF.MCH [pg]</b>	158	4,829	<b>0,029</b>
DIF.MCHC [g/dl]	158	0,739	0,391
DIF.RDW [%]	158	0,136	0,713
DIF.PLT [ $10^9/l$ ]	158	0,018	0,895
DIF.PCT [%]	158	0,001	0,971
DIF.MPV [ $\mu\text{m}^3$ ]	158	0,366	0,546
DIF.PDW [%]	158	0,135	0,713
DIF.WBC [ $10^9/l$ ]	158	0,069	0,792
DIF.LY [%]	158	3,556	0,061
DIF.MON [%]	158	1,756	0,187
DIF.GRA [%]	158	1,533	0,218

Titāna bioimplanta būtiska ietekmē tikai uz sarkanās rindas parametriem apstiprina literatūras datus par titāna zemu bioaktivitāti salīdzinoši ar hidroksilapatītu.

Novērotās starpattiecības liecina par to, ka izstrādātu asins šūnu *in vitro* dinamiskās testēšanas metodi var izmantot dažādu veidu implantu pārbaudei.

### Dinamiskā testēšanas metode

Izmantojot *in vitro* eksperimentus, tika novērtēta dažādu bioimplantu ietekme uz asins parametriem un ir izstrādātas dinamiskās testēšanas metodes norādījumi bioimplanta *in vitro* ietekmes novērtēšanai uz asins šūnu hematoloģiskiem parametriem.

## SECINĀJUMI

- 1) Izstrādāta **dinamiskā testēšanas metode bioimplanta materiāla ietekmes novērtēšanai in vitro uz asins šūnu hematoloģiskiem parametriem.**
  - tika pārbaudīti **254** venozie asins paraugi, kuros izmeklēti **1280** perifēro asins testi, kopumā uz **19200** hematoloģiskiem parametriem. Mērījumu rezultāti tika iegūti ar ticamību 95%.
  - konstatēts, ka lai novērstu asins *individuālās īpašības ietekmi*, pētot bioimplanta ietekmi uz asins parametriem, nepieciešams veidot referento un eksperimentālo paraugu grupas no vienām un tām pašām asinīm un testēt tos vienlaicīgi.
  - noteikts, ka asins hematoloģiskos parametrus *jākontrolē pēc novirzes no to sākuma lieluma.*
  - noskaidrots, ka statistiski ticamas *izmaiņas* dažādiem asins parametriem *notiek jau pirmās stundas laikā* pēc asins noņemšanas un tāpat tas nosaka *ierobežot mērījumu ilgumu*, tādēļ izmeklēšanu jāveic *1 stundas laikā*, testējot asinis ar atkārtotu mērījumu vismaz 5 reizes 15 asins parametriem, kas nodrošina testēšanas reižu skaitu datu statistiskai analīzei un arī *pēc iespējas ilgāku* bioimplanta kontaktu ar asinīm.
- 2) Noteikts, ka *metodi var izmantot dažādu veidu implantu ietekmes novērtēšanai.* Piemēram, Ti-HAP implanti ietekmē asins parametrus: RBC, HGB, HCT, PLT, PCT, LY, MON un GRA, bet titāna implants ietekmē: HGB, HCT, MCV, MCH.
- 3) Novērots, ka *metodi var izmantot bioimplantu agrīno biosaderību novērtēšanai in vitro* ne tikai asinīs ar normālu sastāvu, bet arī asinīs, kurās parametru lielumi ir ārpus klīniski referentām robežām. Piemēram, asinīs ar pazeminātu hemoglobīna saturu uz bioimplanta klātbūtni reaģē šādi hematoloģiskie parametri: RBC, HGB, HCT, PLT, PCT, LY un MON.
- 4) Bioimplanta Ti-HAP klātbūtne izsauc *trombocītu antiagregāciju, eritrocīti iegūst lielāku stabilitāti un leukocītu subpopulāciju procentuālā sadalījumā in vitro* stundas laikā ir ievērota statistiski ticama (95%) *bioimplanta ietekme.*

## Saīsinājumi un simbolu atšifrējumi

DIF. RBC	Eritrocītu starpība (diference)
DIF. WBC	Leikocītu starpība (diference)
DIF. LY	Limfocītu starpība (diference)
DIF.GRA	Granulocītu starpība (diference)
DIF.MON	Monocītu starpība (diference)
DNS	Dezoksiribonukleīnskābe
EDTA	Etilēndiamīntetraetiķskābe
F	Faktiskā testa vērtība, Fišera kritērijs
fl	Tilpuma mērvienība (femtolitrs, 1 fl = 10 <sup>-15</sup> l)
GRA%	Granulocītu procents [%]
GRA#	Granulocītu absolūtais skaits [10 <sup>9</sup> /l]
HAP	Hidroksilapatīts
HCT	Hematokrīts [%]
HGB	Hemoglobīns
MCH	Hemoglobīna vidējais saturs vienā eritrocītā [pg]
MCHC	Vidējais eritrocītu tilpums [μm <sup>3</sup> ]
MPV	Vidējais trombocītu tilpums [μm <sup>3</sup> ]
LY%	Limfocītu procents [%]
LY#	Limfocītu absolūtais skaits [10 <sup>9</sup> /l]
MON%	Monocītu procents [%]
MON#	Monocītu absolūtais skaits [10 <sup>9</sup> /l]
p	Nozīmīguma (ticamības) kritērijs
PDW	Trombocītu lieluma sadales plašums [%]
PCT	Trombokrīts [%]
PTL	Trombocīti (platelets)
RBC	Eritrocīti (red blood cells)
RDW	Eritrocītu lieluma sadales plašums [%]
SD	Standarta deviācija
WBC	Leikocīti (white blood cells)

## LITERATŪRA

1. Aberberga-Augškalne L., Koroļova O. Fizioloģija ārstiem. – Rīga: Medicīnas Apgāds, 2007. – 516 lpp.
2. Addonizio VP. Platelet function in cardiopulmonary bypass and artificial organs. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1990; 4: 145–155.
3. Alehander W. and Street A., Metals in the Service of Man, 11th edition, New York. Penguin, 1998.
4. Alexiewicz J., *et al.* Impaired phagocytosis in dialysis patients. Studies on mechanisms. *Am. J. Nephrol.*, 1991 – 11 – p. 102–111.
5. Andrade J.D., Hlady V. Protein adsorption and material biocompatibility; A tutorial review and suggested hypotheses // *Advances in Polymers Science*, 1986. – Vol. 79. – p. 1–63.
6. Arhipova I., Bāliņa S. Statistika ekonomikā un biznesā. Risinājumi ar SPSS un MS Excel. – Rīga: Datorzinību centrs, 2006. – 364 lpp.
7. Averbukh Z. *et.al.*, Red Eye Syndrome: Clinical and Experimental Experience in a New Aspect of Diffuse Eosinophilic Infiltration. *Artif. Organs*, 25, 2001. p. 437-440.
8. Biological Evaluation of Medical Devices, Part 4: Selection of Tests for Interactions With Blood, ISO 10993-4, 2<sup>nd</sup> Edition; Biological Evaluation of Medical Devices, Part 12: Sample Preparation and Reference Materials, ISO 10993-12, 2<sup>nd</sup> Edition Corrected version 2003-03-01.
9. Biomaterials, artificial organs and tissue engineering, Edited by Larry L. Hench and Julian R. Jones, Imperial College London, UK, 2005.,304 p.
10. Bonucci E.,Marini E., Valdinucci F., Fortunato G. Osteogenetic response to hydroxyapatite-fibrin implants in maxillofacial bone defects. // *Europ.J.Oral.Sci.* – 1997. – 105, No. 6. – p.557–561.
11. Brian A. Koeneman, Kee-Keun Lee, Amarjit Singh, Jiping He, Gregory B. Raupp, Alyssa Panitch and David G. Capco. “An ex vivo method for evaluating the biocompatibility of neural electrodes in rat brain slice cultures” *Journal of Neuroscience Methods* Volume 137, Issue 2, 30 August 2004, p. 257-263
12. Cannas M., Denicolat P., Webb L.X., Gristina A.G. Bioimplant surfaces: Binding of fibronectin and fibroblast adhesion. // *J.Orthop. Res.* – 1988. – 7. – p. 316–325.
13. Chen Z.,Chen Y.K., Huang H.H. Blood Coagulation on Titanium Surface with Different TiO<sub>2</sub> Crystal Structures. 23 European Conference on Biomaterials, 11-15th September, 2010, Tampere. FI.
14. Clupper D.C., Hench L.L.and Mecholsky J.J."Strength and toughness of tape cast bioactive glass 45S5 following heat treatment" *Journal of the European Ceramic Society*, 2004. 24, 2929-2934.
15. Coleman D.L., Lim D., Kessler T., Andrade Y.D. Calcification of nontextured implantable blood pumps // *Trans. Amer. Soc. Artif. Intern. Organs*, 1981. – Vol. 27. – p. 97–103.

16. Courteney-Harris R.G., Kayser M.V., Downess S. Comparison of the early production of extracellular matrix on dense hydroxyapatite and hydroxyapatite-coated titanium in cell and organ culture. // *Biomaterials*. – 1995. – 16, No.6. – p.489–495.
17. Curtis A.S.B., Clark P. The effect of topographic and mechanic properties of materials on cell behavior. // *Crit. Rev. Biocompatibility*. – 1990. – No 5. – p. 362–374.
18. de Gruyter W. *Clin Chem Lab Med* – 2003 – Berlin – 884. lpp.
19. Deb, S., Giri, J., Dasgupta, S., Datta, D. & Bahadur, D., Synthesis and characterization of biocompatible hydroxyapatite coated ferrite. *Bull. Mater. Sci.*, Vol. 26, No. 7, December 2003, pp. 655–660.
20. Exbrayat P., Couble M.L., Magloire H., Hartmann D.J. Evaluation of the biocompatibility of Ni-Cr-Mo dental alloy with human gingival explant culture in vitro: morphological study, immunodetection of fibronectin and collagen production. // *Biomaterial*. – 1987. – 8. – p 385–392.
21. Fishbein M.S., Levy R.J., Ferrans V.J. *et al.* Calcification of cardiovalve bioprostheses: bioprostheses, histological and ultrastructural observations in a subcutaneous implantation model systems // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 1982. – Vol. 82. – p. 602–609.
22. Fogh-Andersen N., Christiansen T.F. *et al.* Measurement of free calcium ion in capillary blood and serum // *Clin. Chem.*, 1978. – Vol. 24. – p. 1545–1552.
23. Gabrielli, M. A. C., Marcantonio Junior, E., Goissis, G., Okamoto, T., Gabrielli, M. F. R. & Vieira E.H., Hydroxylapatite Implants with or without Collagen in the Zygomatic Arch of Rats. *Histological Study. Braz. Dent. J.* 2001, 12(1) pp. 9-15
24. Groth T., Atlankov G. Studies on cell-biomaterial interaction: role of tyrosine phosphorylation during fibroblast spreading on surfaces varying in wettability. // *Biomaterial*. – 1996. – 17, No 12. – p 1227–1234.
25. Gulati G., Hyland L. Changes in automated complete blood cell and differential leukocyte count results induced by storage of blood at room temperature // *Arch pathol, lab Med*. – 2002 – 126(3), p. 42–336.
26. *Handbook of Biomaterial Properties / Jonathan Black and Garth Hasting. – CHAPMAN HALL, 1998; p. 590.*
27. Harasaki H., McHaron J., Richard T. *et al.* Calcification in cardiovascular implants: degraded cell related phenomena // *Trans. Amer. Soc. Artif. Intern. Organs*, 1985 – Vol. 31. – p. 489–494.
28. Hematologijas analizators ABX Micros OT, Manuals, Invitros SIA. Lietotāja instruk..2000,-98 lpp.
29. Himmelfarb J., *et al.* Increased Reticulated Platelets in Dialysis Patients, *Kidney Int.*, 1997 – 51 – p. 834–839.
30. Hirase Y., Makatsuka H., Kawai T., Horiguchi S., Ikeda M. Stable blood cell count after one-week storage at room temperature // *Bull Environ Contam Toxicol*. – 1992 – 49(4), – p. 8–504.

31. Hofbauere G. Laboratorijas analīzes. Padomdevējs pacientam. Rīga: JUMAVA – 2006. 21.lpp.
32. Horbett T.A., Weathersby P.K. Adsorption of proteins from plasma to a series of hydrophilic hydrophobic copolymers. I. Analysis with the *in situ* radioiodination technique. // *J.Biomed. Mater. Res.* – 1981 –Vol. 15 – p. 403–423.
33. Hsin-Kai Chen, Gabi Nindi Waite, Penney L. Miller, Ellen F. Hughes, Lee R. Waite. Monitoring temperature and light exposure of biosamples exposed to ultraviolet and low energy radiation. // *Biomedical Sciences Instrumentation*, – 2007 – Nr. 43 – p. 312–317.
34. Jacqueline H., Bernadette F. Clinical hematology atlas. – Indianapolis, 2004. – p. 256.
35. Joo, L., Ong, D.L. David, L. Carnes & Kazuhisa Bessho. Evaluation of titanium plasma-sprayed and plasma-sprayed hydroxyapatite implants in vivo. *Biomaterials*, August 2004, Vol.25, Issue 19, pp. 4601-4606.
36. Kafka M., Yermiahu T. // *Clin. Lab. Haematol.* – 1998 – Vol.20, №4 – p. 213–216.
37. Kailner A., Quality management in the medical laboratory: a comparison of draft standards. // ELSEVIER., *Clinica Chimica Acta* – 1998 – 278 – 111–119.
38. Kishida A., Kato S., Ohmura K., Sugimura K., *et.al.* Evaluation of biological responses to polymeric biomaterial by RT-PCR analysis. 1. Study of IL-1 beta mRNA expression. // *Biomaterials.* – 1996. – 17, No 13. – p.1301–1305.
39. Klīniska medicīna. Prof.Aivara Lejniece redakcija. Medicīnas apgads. 2010. 942 lpp.
40. Kononen M., Hornia M., Kivilahti J., Hautaniemi J., *et al.* Effect of surface processing on the attachment, orientation, and proliferation of human gingival fibroblasts on titanium. // *J. Biomed. Mater. Res.* – 1992. – 26, No 10. – p. 1325–1341.
41. LaFayette N., *et al.* An *in vitro* method for assessing biomaterial-associated platelet activation. *ASAIO J.*, 2007 – 53 – p. 159–162.
42. Lee S.S. et al., Strain Handening of Red Blood by Accumulated Cyclic Suprphysiological Stress , *Artif. Organs*, 31, 2007. p. 80-86.
43. Lejniece S. Klīniskā hematoloģija. Rīga: Nacionālais medicīnas apgāds, 2005. – 324 lpp.
44. Levy R.J., Shoen F.J., Howard S.L., Oshry L. Mechanism of glutaraldehyde porcine aortic valve calcification // *Trans. Biomater.*, 1983. – Vol. 6. – p. 98–103.
45. A.Leice, Y.Dekhtyar, N.Britzina, V.Arhipovich and L.Arabere. Human Blood Cells Affected by Hydroxyapatite Coated Titanium. 14th Nordic-Baltic conference on Biomedical Engineering and Medical Physics. Abstracts. Starptautiskas konferences grāmatā. Rīga, Latvija, Jūnijā 16 – 20, 2008 p.147.
46. Li D.J., Ohsaki K., Ili K., Cui P.C. *et al.* Thickness of fibrous capsules after implantation of hydroxyapatites in subcutaneous tissue in rats. // *J. Biomed. Mater. Res.* – 1999. – Vol. 45, No 4, – p. 322–326.
47. Lian I.B., Bernhard W., Levy R.J., Szycher M. Blood material interactions // *Devices and technology branch contractors meeting proceedings*, 1981. – p. 177.

48. Lian I.B., Levy R.J., Bernhard W., Szycher M. LVAD mineralization and j-carboxyglutamic acid containing proteins in normal and pathologically mineralized tissues // *Trans. Amer. Soc. Artif. Intern. Organs*, 1981. – Vol. 27. – p. 683–690.
49. Long J., De Santis S., Shors E. *Et al.* Thrombogenicity and the interaction of proteins, platelet and white cells. // *Biomaterials, Med. Dev., Artif. Organs.* – 1983. – Vol. 11. – p. 633–72.
50. Mahmudi M., Hajizadeh M., Rashidinejad H., Asadikaram G. Survey of changes in complete blood count and red cell indices of whole blood incubated *in vitro* at different temperatures up to 48 hours // *J Ayub Med Coll Abbottabad.* –2006 – 18(1). //www.aybmed.edu.pk/Jamc/PAST
51. Maloney W.J., Smith R.L., Castro F., Schurman D.J. Fibroblast response to metallic debris *in vitro*. // *J. Bone Joint. Surg.* – 1993. – 75-A, No 6. – p. 835–844.
52. Marois Y., Guidon R., Roy R., Vidovsky T., *et al.* Selecting valid *in vitro* biocompatibility tests that predict the *in vivo* healing response of synthetic vascular prostheses. // *Biomaterials.* – 1996. – 17, No 19. – p. 1835–1842.
53. Medicīnas laboratorijas. Ipašas prasības kvalitātei un kompetencei.”LVS EN ISO 15189”, sadaļa C.9, 2007.
54. Mueller X., *et al.* Hemolysis and hematology profile during perfusion; Inter-species comparison. // *Int. J. Artif. Organs,* – 2001 – 24 – p. 89–94.
55. Negroiu Gabriela , Piticescu Roxana M. , Chitanu Gabrielle C. , Mihailescu Ion N., Zdrentu Livia and Miroiu Marimona. Biocompatibility evaluation of a novel hydroxyapatite-polymer coating for medical implants (in vitro tests) *Journal of Materials Science* , LLC 2007/10 / 007-3300-6
56. Nishimura Ichiro et al. Discrete deposition of hydroxyapatite nanoparticles on a titanium implant with predisposing substrate microtopography accelerated osseointegration. 2007. *Nanotechnology* 18 245101 -9. pp.
57. Ozoliņš D. Preanalītiskā posma kontrole – attīstības tendences // *Medicine* – 2007 – Novembris, 8.–10. lpp.
58. Pakr JY. Davies JE. Red blood cell and platelet interactions with titanium implant surfaces. *Clin Oral Implants Res.* 2000 Dec;11(6):530-9.
59. Patient – centred care – preanalytical factors demand attention // *Scand J Clin Lab Invest* – 2007 Nr.67, 836.–847. lpp.
60. Paul J., *et al.* Influence of Uremia on Polymorphonuclear Leukocytes Oxidative Metabolism in Endstage Renal Disease and Dialysed Patients. // *Nephron*, 1991 – 57 – p. 428–432.
61. Pinkowski R. Лейкоциты. Автоматический анализ, трудности, разногласия. – Lodz: Artdruk, 2000. с. 155.
62. Pizzoferrato A., Vespucci A., Capetti G., Stea S. Biocompatibility testing of prosthetic implant materials by cell cultures. // *Biomaterials.* – 1985. – 6. – p.346–351.
63. Praktiskā alergoloģija. Vernera Lozovska redakcijā. LU Akadēmiskais apgāds, 2009. – 623 lpp.

64. Pūga I. Dažādu faktoru ietekme uz asins analīžu rezultātiem. // *Jums, Kolēģi*. 1996. Nr.8, –36. lpp.
65. Rodriguez-Lorenzo L.M., Vallet-Reg M. and Ferreira J.M.F. "Fabrication of hydroxyapatite bodies by uniaxial pressing from a precipitated powder". 2001. *Biomaterials*, 22, 583-588.
66. Schuler M., Gethin Rh. Owen, Douglas W. Hamilton, Michael de Wild, Marcus Textor. Biomimetic modification of titanium dental implant model surfaces using the RGDSP-peptide sequence: A cell morphology study. *Biomaterials Volume 27, issue 21, July 2006*. pp. 4003 – 4015.
67. Sinkeviča D. Laboratorijas Testu Interpretācijas Rokasgrāmata Ārstiem – Nacionālais Medicīnas Serviss – Laboratorija – 2008. – 52.–87.lpp.
68. Stenner E., Piccinini C., Biasioli B., Bussani A., Delbello G. Red cell and core temperature in spelunking. // *International Journal of Sports Medicine*, – 2007 – vol.28, Nr.9, – p.727–731.
69. Szycher M. Thrombosis, hemostasis and thrombolysis at prosthetic interface // *Biocompatible polymers, metals and composites / Ed. Szycher M., Techom. Publ. Co. Inc., 1983*. – p. 1–33.
70. Thomson L.A., Law F.C., James K.H., Matthew C.A, *et al.* Biocompatibility of particulate polymethylmethacrylate bone cements: a comparative study *in vitro* and *in vivo*. // *Biomaterials*. – 1992. – 13., No 12. – p. 811–818.
71. Tjuļkins F. Bioimplantu un asins šūnu morfoloģijas un mehānisko īpašību pētījums ar atomspēka mikroskopu. // Rīga, RTU, bakalaura darbs.-2009. – 35.lpp.
72. Veliks V. Magnētiskais lauks un tā ietekme uz organismu // *Doctus*. – 2005 – № 8, 44.–47. lpp.
73. Viayanand K., Deepak K. Pattanayak, T.R. Rama Mohan and R.Banerjee. Interpreting Blood-Biomaterial Interactions from Surface Free energy and work of Adhesion. In: *Trends Biomater. Artif. Organs*. Vol 18 (2), January, 2005.
74. Vienken J. The need for a systems approach in biomaterials testing. // *MDT* — September 2007 — Germany. <http://www.devicelink.com/mdt/archive/07/09/004.html>
75. Vijayanand, K., Deepak, K., Pattanayak, K., Rama Mohan T., & R.Banerjee, R., Interpreting Blood-Biomaterial Interactions from Surface Free Energy and Work of Adhesion. *Trends Biomater. Artif. Organs*, Vol. 18 (2), January 2005. pp. 73-83.
76. Vinķele R. Medicīnas svešvārdu vārdnīca. — Rīga: Avots, 2007, 959 lpp.
77. Vogelaar S.A., Posthuma D., Boomsma D., Kluft C. Blood sample stability at room temperature for counting red and white blood cells and platelets. // *Vascular Pharmacology* – 2002 – Nr.39 – p. 123–125.
78. Wooley P.H., Nasser S., Fitzgerald R.H. jr. The immune response to implant materials in humans. // *Clin. Orthopaed.* – 1996. – 326. – p.63–70.
79. Zaharāne S. Preanalītiskie faktori // *Latvijas Ārsts*. – 1995 – №6 – 40.–43. lpp.
80. Балаба Т.Я., Красовская Г.П., Слуцкий Л.И., Торбенко В.П. Некоторые данные о биохимических механизмах репаративного остеогенеза. // *Труды II всец. съезда травматологов-ортопедов*. – Рига, 1969, М., 1970. – с. 140–144.

81. Биология. Под ред. В.Нярычина, М.: Медицина, 1985. –(397)560 с..
82. Бобро Л.И. Фибробласты и их значение в тканевых реакциях. // *Арх. Патол.* – 1990. – 52, № 12, с. 65–68.
83. Бордюшков Ю., Горошинская И., Франциянц Е., Ткачева Г., Горло Е., Нескубина И. Структурно-функциональные изменения мембран лимфоцитов и эритроцитов под воздействием переменного магнитного поля. // *Вопросы медицинской химии*, – 2000 – №.3.
84. Борисов Ю., Спиридонов В., Суглобова Е. Резистентность эритроцитарных мембран: механизмы, тесты, оценка // *Клиническая лабораторная диагностика*. 2007. №12, 36–40 с.
85. Вохминцев П.А., Сайфиев Р.Р., Фролова О.В. Экзогенная регуляция деформабильности эритроцитов. // *Успехи современного естествознания* – 2004 – № 2 –46. с.
86. Друх В., Фархутдинов Р., Загидуллин Ш. Метод изучения хемилюминесценции лейкоцитов цельной крови // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2004 – №12 – 41–43 с.
87. Елемесов Р.Е., Акоев В.Р., Ким Ю.А. Влияние электромагнитного излучения на гемолиз эритроцитов, истощенных по АТФ. // II съезд биофизиков России. Тезисы. – Москва, 1999.
88. Жербин Е., Чухловин А. Радиационная гематология. – Москва: Медицина, 1989, – 176 с.
89. Зинчук В.В. Деформируемость эритроцитов: физиологические аспекты. // *Успехи физиологических наук*. – 2001. – Т. 32, № 3. – с. 66–78.
90. Каманина Н.В. Отличие (и взаимосвязь) эффекта ориентирования эритроцитов в нематической жидкокристаллической среде от электрических вибраций Fröhlich'a. // *Письма в ЖТФ* – 1997 – том 23, №.23.
91. Клинико–диагностическое значение лабораторных показателей / Долгов В, Морозова В., Марцишевская Р. и др. – М, – 1995. – 215 с.
92. Козинец Г. ред., Макаров В. Исследование системы крови в клинической практике. – Москва: Медицина, 1997.– 480 с.
93. Козинец Г., Погорелов В., Дягилева О., Наумова И. Кровь. – Москва: Медицина, 2006. – XXI – 251 с.
94. Козинец Г.И., Каюмова Д.Ф., Погорелов В.М. Клетки периферической крови и экологические факторы внешней среды. // *Клиническая и лабораторная диагностика*. – 1993 – .№.1 – с. 14–20.
95. Козинец Г.И., Погорелов В.М. и др. Клетки крови. Современные технологии их анализа. – М: Триада – Фарм, 2002 –534- с.
96. Козинец Г.И., Шишкапова З.Г., Сарычева Т.Г., и др. Клетки крови и костного мозга. Цветной атлас. – М.: МИА, 2004. –202- с.
97. Козинец Т.И. Анализы крови и мочи. Клинического значение. – М.: МИА, 2006. –99. с.
98. Кузник Б., Максимова О. Общая гематология. – Чита: Феникс, 2007. – 573 с.

99. Лаврентьев Б.Л., Моисеев Ю.В., Русецкий А.Н., Садов Б.Д. Кинетика адсорбции гамма-глобулина на стеклянной поверхности, регистрируемая методом флюоресценции при полном внутреннем отражении. // Лаб. Дело. – 1982. – № 10. с. 612.
100. Лакин К.М., Макаров В.А., Новикова Н.В. Пути лекарственной регуляции функции гемостаза // Актуальные вопросы исследования системы гемостаза в клинической практике. Материалы симпозиума. Москва–Вена. – 1985, 27–28 марта – с. 53–57.
101. Лаксина О.В., Пестова М.Б., Немец Е.А. Влияние чистоты и природы полиэфирной составляющей на гемосовместимые свойства полиуретанов // *Проблемы трансплантологии и искусственных органов.* – М., 1981 – с. 150–152.
102. Мансурова Л.А., Скорнякова А.Б., Казимировская В.Б., Трофимов В.В., Слуцкий Л.И., Воронков М.Г. Изучение биосовместимых свойств имплантируемых биоматериалов. // *Докл. АН.* – 1996. – 350, №3. – с. 408–410.
103. Мансурова Л.А., Скорнякова А.Б., Севастьянова Н.А., Казимировская В.Б., Слуцкий Л.И., Жданкович Е.Л., Абзаева К.А. Исследование биосовместимости новых полимерных материалов. // *Хим. Фарм. журнал.* – 1991. – 25, № 9. – с. 19–20.
104. Мизун Ю.Г., Хаснулин В.И., Наше здоровье и магнитные бури. – М.: Знание, 1991. – 190 с.
105. Мошкин А.В., Долгов В.В. Обеспечение качества в клинической лабораторной диагностике: практ. рук. – М: Медиздат, 2004. – 216 с.
106. Павиченко О., Калиман П. Влияние хлорида кадмия на развитие оксидативного стресса в легких крыс. – Харьковский национальный университет, Украина, 2003.
107. Позняк С.Н., Позняк Н.И., Барковский Е.В., Лобанок Е.С., Лаврукевич Т.В. Ультразвук факоэмульсификатора и состояние клеточных мембран. // БГМУ, Информация – МЖ – 2001 – 3 (21).
108. Покровский В., Коротько Г. Физиология человека. – Москва: Медицина, 2007 –655- с.
109. Поливода Б.И., Конев В.В., Попов Г.А. Биофизические аспекты радиационного поражения мембран. – М.: Энергоатомиздат, 1990. – 153 с.
110. Рогожников Г.И., Немировский М.Б. Сплавы титана в ортопедической стоматологии. Пермское книжное издательство, 1991.с.6-27.
111. Сайфиев Р.Р. Исследование деформируемости эритроцитов млекопитающих с использованием усовершенствованного эктацитометра. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Тюмень – 2002.– 24 с.
112. Севастьянов В.И., Лаксина О.В., Новикова С.П., Розанова И.Б., Цейтлина Е.А., Шальнев Б.И. Современные гемосовместимые материалы для сердечно-сосудистой хирургии. Медицина и здравоохранение. Выпуск 2. Москва, 1987. –72- с
113. Селезнев А., Ненашев А., Кондурцев В. Методы определения механической резистентности эритроцитов и характеризующие ее показатели у здоровых людей // *Клиническая лабораторная диагностика.* – 2002 – №5 – с.41–43.

114. Слуцкий Л., Ветра Я. Биологические вопросы биоматериаловедения. Рига: Латвийская Медицинская Академия, 2001. – 150 с.
115. Трофимов В.В., Клименов В.А., Казимировская В.Б., Мансурова Л.А. Исследование биологической совместимости гидроксиапатита. // *Стоматология*. – 1996. – 75, No 5. – с. 20–22.
116. Хепч Л., Джонс Д., Биоматериалы, искусственные органы и инжиниринг тканей. Мир биологии и медицины, – М.: Техносфера, 2007 –303 с.
117. Шмаров Д.А., Козинец Т.И. лабораторно-клиническое значение проточно-цитометрического анализа крови. – М.: МИА, 2002. –127 с.
118. Шмидт Ю. Влияние антистрессового препарата „Аминовит” на морфологию надпочечных желез крыс и морфо-цитохимические показатели крови телят при транспортном стрессе. – Автореферат, Новосибирск, 2003.
119. Экологические факторы кроветворения // Российский научный симпозиума – М., 1992.
120. Яструбинская О., Попова О., Сарычева Т., Тенцова И., Козинец Г. Определение электрофоретической подвижности эритроцитов периферической крови здоровых людей с использованием в качестве консерванта этилен-2-амино-4-хлоруксусной кислоты (ЭДТА) // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2009 – №1 – 22, 35–36 с.