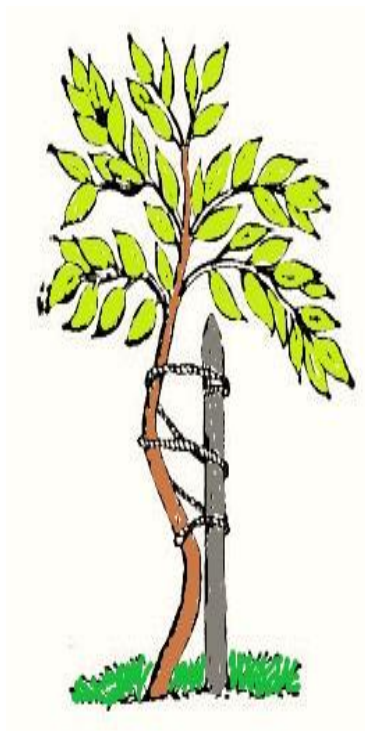


**М.В. Рубленко, Т.П. Тодосюк, В.О. Чемеровський,  
Н.В. Ульянович, С.О. Фірстов, В.В. Коломієць**

**ОСТЕОЗАМІЩЕННЯ КАЛЬЦІЙ-ФОСФАТНОЮ  
КЕРАМІКОЮ, ЛЕГОВАНОЮ КРЕМНІЄМ І  
ГЕРМАНІЄМ, ЗА ПЕРЕЛОМІВ  
КІСТОК У ТВАРИН**

НАУКОВО-ПРАКТИЧНА МОНОГРАФІЯ



Рекомендовано до друку Вченою радою  
Білоцерківського НАУ  
(протокол № 3 від 23.03.2023 р.)

Автори: **Рубленко М.В.**, академік НААН; **Тодосюк Т.П.**, аспірантка;  
**Чемеровський В.О.**, PhD; **Ульянчич Н.В.**, канд. техн. наук.,  
**Фірстов С.О.**, академік НАН України; **Коломієць В.В.**, мол. наук.  
співробітник.

Остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою кремнієм і германієм, за переломів кісток у тварин: науково-практична монографія.  
М.В. Рубленко та ін. Біла Церква: БНАУ, 2023. 83 с.

У монографії висвітлено сучасні дані щодо проблематики кісткової патології у тварин, молекулярно-біологічних механізмів фізіологічного і репаративного остеогенезу, методів остеосинтезу та остеозаміщення. Представлено характеристику основних біологічних і синтетичних композитних матеріалів та обґрунтована на основі клініко-рентгенологічних, гістоморфологічних і біохімічних досліджень ефективність їх застосування для заміщення кісткових дефектів і прискорення консолідації переломів кісток у тварин.

Рекомендовано науково-педагогічним працівникам, практикуючим лікарям, слухачам післядипломної освіти, аспірантам і студентам-магістрантам вищих навчальних закладів IV рівня акредитації зі спеціальності 211 – ветеринарна медицина.

Представлені результати досліджень виконані відповідно до Держбюджетної тематики «Доклінічні дослідження виробів із зроблених біоматеріалів» № 48/1 від 27.08.19 р. в межах виконання науково-дослідної роботи «Розробка та доведення до впровадження в клінічну практику кісткових імплантів різного призначення з новітніх біоматеріалів для відновлення кісткової тканини та функції кісток після поранень в бойових діях» відповідно до цільової науково-технічної програми НАН України «Дослідження і розробки з проблем підвищення обороноздатності і безпеки держави» (розпорядження Президії НАН України від 16.04.2019 № 255) і тематики дисертаційних робіт Чемеровського В.О. «Клініко-експериментальне обґрунтування імплантації кальцій-фосфатної кераміки, легованої кремнієм, за осколкових переломів кісток у собак» та Тодосюк Т.П. «Клініко-експериментальне обґрунтування остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за складних осколкових переломів кісток у собак».

Рецензенти: **Ільніцький М.Г.**, д-р вет. наук, професор, зав. кафедри анатомії та гістології домашніх тварин ім. П.О. Ковальського (Білоцерківський національний аграрний університет);  
**Білий Д.Д.**, д-р вет. наук, професор, зав. кафедри ветеринарної хірургії і репродуктології (Дніпровський державний аграрно-економічний університет).

## ЗМІСТ

Перелік умовних скорочень .....	4
1. Сучасний стан проблеми кісткової патології у тварин.....	5
2. Гістоморфологічні особливості кісткової тканини.....	10
3. Системні та локальні фактори регуляції фізіологічного і репаративного остеогенезу.....	15
4. Стабільна фіксація кісткових уламків (способи остеосинтезу).....	19
5. Характеристика кальцій-фосфатних матеріалів для остеозаміщення.....	23
6. Клініко-експериментальне обґрунтування остеозаміщення легованою кремнієм кальцій-фосфатною керамікою.....	29
6.1. Гістоморфологічна характеристика регенератів компактної і губчастої кісткової тканини.....	29
6.2. Остеозаміщення легованою кремнієм кальцій-фосфатною керамікою за осколкових переломів у собак.....	38
7. Клініко-експериментальне обґрунтування остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою.....	44
7.1. Рентгенологічна картина кісткової патології у собак.....	44
7.2. Рентгено- та макроморфологічна оцінка репаративного остеогенезу за імплантації гідроксиапатитного композиту, легованого германієм.....	45
7.3. Динаміка гематологічних показників у кролів за остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм.....	52
7.4. Рентгенологічна та патохімічна характеристика остеопорозного процесу в кролів.....	57
7.5. Рентгено-макроморфологічна і біохімічна оцінка консолідації переломів довгих трубчастих кісток в умовах остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за остеопорозу в кролів.....	61
7.6. Гістоморфологічна та біохімічна оцінка впливу на репаративний остеогенез остеозаміщення леговоної германієм кальцій-фосфатною керамікою за модельних дефектів трубчастих кісток у кролів.....	66
8. Рентгенологічна оцінка остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, у собак (клінічні випадки).....	73
Список використаної літератури .....	76

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ЛФ – лужна фосфатаза  
ЗЛФ – загальна лужна фосфатаза  
КіЛФ – кістковий ізофермент лужної фосфатази  
ТрКФ – тартрат-резистентна кисла фосфатаза  
ІЛ – інтерлейкіни  
ГАП – гідроксиапатит  
 $\alpha$ -ТКФ –  $\alpha$ -трикальційфосфат  
 $\beta$ -ТКФ –  $\beta$ -трикальційфосфат  
ГТлК – гідроксиапатит, легований кремнієм  
ГТлGe – гідроксиапатит, легований германієм  
ІЗЛ – індекс зсуву лейкоцитів  
ЛШ – лейкоцитарний індекс інтоксикації  
ЯШ – ядерний індекс інтоксикації  
ПТГ – паратиреоїдний гормон  
ГК – глюкокортикоїди  
ТФР – трансформуючий фактор росту  
ІФР – інсуліноподібний фактор росту  
МСК – мезенхімальні стовбурові клітини  
ФНП – фактор некрозу пухлин  
PRP – плазма, збагачена тромбоцитами  
OPG – остеопрогерин  
BMP – кісткові морфогенетичні білки

## 1. СУЧАСНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ КІСТКОВОЇ ПАТОЛОГІЇ У ТВАРИН

Завдяки останнім досягненням у вивченні молекулярно-біологічних і гістоморфологічних механізмів функціонування різних типів кісткової тканини та її метаболізму, фізіологічної і репаративної регенерації, розширенню можливостей візуальної діагностики кістково-суглобової патології за допомогою комп'ютерної томографії, рентгенівської денситометрії, артроскопії і магнітно-резонансної томографії, обґрунтуванню новітніх інструментально-імплантаційних матеріалів для фіксації переломів і створення оптимальних умов для їх консолідації, суттєво підвищилася ефективність травматологічної та ортопедичної допомоги у тварин різних видів, зокрема тварин-компаньйонів (собаки, коти, коні) [1–4].

Однак патологія опорно-рухового апарату, зокрема і переломи кісток, не лише досить поширена і здебільшого має ургентний прояв з ризиком втрати тваринами їх функціональних можливостей і якості життя, а також складна у патогенетичному, діагностичному і лікувальному аспектах, оскільки фізіологічний та репаративний остеогенез мультимодальні і залежать від збалансованої й реципрокної взаємодії низки чинників. Зокрема, нутрієтивних (хімічний склад кісток, зокрема, макро- та мікроелементів, який змінюється залежно від віку, функціональних навантажень, харчування та інших чинників) [5–7]. Водночас близько 27 % губчастої кістки і 3 % кортикальної кістки піддається щорічному оновленню – фізіологічній регенерації. Вони знаходяться під контролем низки системних і локальних чинників, які отримали своє фундаментальне і клінічне обґрунтування [2, 8].

Безперечно, найбільш поширеними і складними наслідками скелетних травм є переломи кісток, основна причина яких вплив різних травмуючих чинників, а їх лікування залежно від анатомо-функціональних особливостей травмованої ділянки опорно-рухового апарату, типу перелому та його біомеханічних характеристик, стану кісткового метаболізму загалом становить досить складну проблему. У дрібних домашніх тварин найчастіше – це травматичні переломи, нанесені автомобільним транспортом, рідше – травми випадкового прояву чи навіть спонтанні переломи ідіопатичного походження [1, 2, 9]. Нерідко сприяючими чинниками є метаболічні, гормональні і генетичні порушення та патологічні процеси кісткової тканини (остеомієліт, карієс, неоплазії кісток, остеопороз) [3]. Зменшення міцності кісток, а, відповідно, і збільшення ризиків їх переломів, також може бути пов'язане з атрофічними змінами кісткової тканини внаслідок порушення нервової трофіки (парези, паралічі нервів тощо) [8].

Частота переломів кісток має видову залежність. Найбільший її рівень у собак і котів – 6–15 %, менший у коней – 7 %, досить низький – 1,6–1,8 % у жуйних і свиней [2].

За даними ретроспективних аналізів, частота переломів довгих трубчастих кісток серед собак становить – 82–85 %, серед яких 16–25 % –осколкові переломи,

що є найбільш складними і потребують остеозаміщення, комбінованих способів остеосинтезу та додаткової остеоіндукції внаслідок втрати регенеративного потенціалу [10–12]. За анатомо-топографічною локалізацією у собак найчастіше спостерігаються фрактури стегнової кістки – 33–60 %, дещо рідше кісток гомілки та передпліччя – 20–29 і 13–30 %, відповідно. Травми плечової кістки у формі переломів займають частку в межах 8,7–18 %, плесни та п'ятки – 3,5–4,7 %, а фаланг пальців – 0,8–5,8 % [1–4, 7].

Подібною за анатомо-топографічною ознакою є структура фрактур у котів: стегнова кістка – 34,5 %, кістки гомілки та передпліччя – 27,6 і 15,5 % відповідно, плечова кістка – 10,3 %, а фаланги пальців – 3,5–8,4 %. Однак, фрактури діафіза у котів виразно домінують над іншими та становлять 72,4 %, тимчасом метафіза – 19,0 %, а епіфіза – 8,6 %. Водночас частка осколкових переломів становить 28,6 %, а відкритих – 24,1 % [2, 5]. Частота патологічних переломів у собак на підґрунті неоплазій досягає 3–5 %.

Однак моніторинги частоти переломів та їх анатомо-топографічної локалізації здебільшого не враховують взаємозв'язок певних нозологічних форм фрактур із чинниками ризику, які нерідко є визначальними для перебігу репаративного остеогенезу.

Водночас, незважаючи на динамічне удосконалення технічних засобів і способів консервативного чи оперативного лікування переломів, частота ускладнень їх консолидації залишається досить суттєвою. Ускладнений перебіг репаративного остеогенезу у вигляді незрощень, псевдосуглобів, інфікування може становити 16–20 %, незалежно від способу фіксації. Причому близько у 20 % за ускладненого перебігу консолидації перелому спостерігається остеосаркома [3, 8, 13–16].

Заразом це зумовлено дисрегенерацією внаслідок дисбалансу між системними і локальними чинниками регуляції остеогенезу та його остеοімунологічних механізмів.

Найчастіше ускладнення репаративного остеогенезу у собак виникають за осколкових переломів. Здебільшого осколочки втрачають зв'язок з м'якими тканинами, внаслідок чого порушується їх кровопостачання та виникає патоморфологічний синдром ішемії/атрофії ділянки кісткової травми, що призводить до значного зменшення регенеративного потенціалу кісткової тканини. Причому під час остеосинтезу, особливо осколкових переломів, здебільшого видаляють первинну гематому, яка є природною матрицею з популяцією клітин і факторів росту, що індукують репаративний процес. У разі формування після операції вторинної гематоми регенеративний потенціал також знижується внаслідок порушеного балансу між клітинами і сигналами медіаторів кісткової репарації [17–19]. Водночас осколкові переломи супроводжуються більш тривалою фазою запального процесу, що призводить до гальмування неоангіогенезу.

Слід зазначити, що патогенетичною основою остеопорозу, кісткових неоплазій, гематогенних інфекції кісток, вроджених вад розвитку скелету та кістково-суглобових дисплазій, остеоартритів у зв'язку із розривом зв'язкового апарату суглобів є порушення кісткового метаболізму та остеοімунологічних

механізмів, процеси дисрегенерації, що ускладнює безпосередньо технічне виконання остеосинтезу та використання різних імплантів.

Тим часом метаболічні, гормональні та генетичні порушення і наявні патологічні процеси кісткової тканини [3] зумовлюють зменшення міцності та порушення біомеханічних властивостей кісток, а, відповідно, і збільшення ризиків їх переломів, що також може бути пов'язано з атрофічними змінами кісткової тканини внаслідок порушення нервової трофіки (парези, паралічі нервів тощо) [8].

Зважаючи на зазначене вище, незалежно від рівня професійності лікаря та інструментально-імплантаційного забезпечення методів остеосинтезу, частота ускладнень репаративного остеогенезу залишається досить суттєвою, що обумовлює необхідність подальшого удосконалення ортопедичної допомоги у тварин з використанням остеозаміщення на принципах регенеративної медицини.

Серед тварин-компаньйонів досить поширеною є різноманітна кістково-суглобова патологія, серед якої основну увагу приділяють переломам кісток, а вагомим чинником ризику слугує порушення кісткового метаболізму [1, 2, 9, 11]. Дегенеративно-дистрофічні процеси в суглобах, такі як дисплазії кульшових суглобів, асептичний некроз головки стегнової кістки (хвороба Легга-Кальве-Пертеса), які, зокрема, зумовлюють остеоартроз, також значною мірою залежать від порушень кісткового метаболізму [14, 20]. Останнім часом значного поширення серед домашніх тварин набуває мультифакторний остеоартроз [21]. Одним із чинників ризику зазначеної патології, зокрема, може бути остеопороз.

За даними моніторингу м. Львів (Дмитрієв В.С., Хомин Н.М.) у 16,8 % собак етіологічним чинником за переломів кісток кінцівок є остеопоротичні зміни кісткової тканини [3, 6, 22]. Водночас, загалом, патогенетичні механізми і діагностично-прогностичні критерії остеопорозу в тварин залишаються на рівні академічної поінформованості, що ускладнює його оцінку як чинника ризику кістково-суглобової патології.

Остеопороз – найбільш поширене прогресуюче системне метаболічне захворювання опорно-рухового апарату, що характеризується зменшенням щільності кісткової тканини, зміною мінерального складу, порушенням мікроархітекtonіки кістки з подальшим підвищенням її крихкості та збільшенням ризику низькоенергетичних переломів [23–27].

Остеопороз поширений як у людей, так і тварин різних видів. Причому тваринні моделі широко використовують у вивченні його діагностично-прогностичних критеріїв, гістоморфологічних і молекулярно-біологічних механізмів. Стандартними моделями індукції остеопорозу в медико-біологічних дослідженнях є білі миші, лабораторні щури, кролі, вівці, кози [28–32].

Розрізняють [33–36] кілька видів моделей остеопорозу. Зокрема, порушення кісткового метаболізму, зумовлене дефіцитом статевих гормонів (у людей здебільшого як постменопаузальний остеопороз), найчастіше використовують як модель остеопорозного процесу. Він досягається за допомогою оваріоектомії (рідше орхіоектомії), що призводить до зменшення впливу естрогенів на остеогенну функцію остеобластів і, як наслідок, відбувається втрата кісткової маси. За вікового остеопорозу втрата кісткової маси мультифакторна, пов'язана з віковою остеопенією. Аліментарний остеопороз відтворюється за дефіциту кальцію або магнію у раціоні. Внаслідок низькокальцієвої дієти, або за нестачі

магнію, процеси резорбції кісткової тканини переважають над процесами остеогенезу. Глюкокортикоїд-індукований остеопороз досягається введенням високих доз кортикостероїдних препаратів, таких як дексаметазон, преднізолон, метилпреднізолон, які гальмують проліферацію остеобластів, синтез ними колагену і неколагенових білків. Остеопороз внаслідок дії низьких доз іонізуючого випромінювання зумовлюється сповільненням мінерального обміну і зменшенням кількості макро- та мікроелементів. За іммобілізаційного остеопорозу довготривале знерухомлення призводить до змін архітекτονіки діафізарно-епіфізарної зони трубчастих кісток та порушення кровопостачання [37, 38].

Хоча остеопороз може бути досить поширеним у собак та кішок, зокрема у зв'язку із гормональними порушеннями (гіперкортицизм, синдром Кушинга), проте інформація щодо його моніторингу досить обмежена. Тобто, істинна ситуація щодо остеопорозу маловивчена, ступінь поінформативності лікарів з цієї проблеми досить низький, а тому оцінка його, як чинника ризику патології травматологічного і ортопедичного профілю, ускладнена.

Репаративний остеогенез як складний і багатокомпонентний, генетично запрограмований біологічний процес, є основою відновлення структурної організації та цілісності кісткової тканини після травми. Головними ланцюгами остеорепаративного процесу є резорбція через запалення пошкодженої тканини, диференціювання клітин, їх проліферація та утворення нової кістки з її ремоделюванням під дією біомеханічних чинників, формування органічного позаклітинного матриксу, його мінералізація [39–41].

Кісткова тканина характеризується потужними регенеративними властивостями, завдяки яким за стабільної фіксації досить великі за об'ємом пошкодження кісток скелету можуть успішно відновлюватися. В ідеалі консолидація перелому приводить до реституції (повної регенерації), що характеризується заміщенням кісткового дефекту тканиною, повністю ідентичною зруйнованій без будь-яких гістоморфологічних відмінностей [42–44].

Однак, з клінічних позицій зрощення перелому – досить тривалий у часі багатостадійний процес, на який впливає безліч чинників: інтенсивність та морфофункціональні особливості ділянки травми, характеристика та ступінь пошкодження кістки і м'яких тканин, наявність посттравматичних розладів периферичного кровопостачання, способи і методи остеосинтезу, післяопераційні інфекційно-запальні ускладнення, наявність вроджених вад кістки або супутньої патології, пов'язаної з порушенням структурно-функціонального стану кісткової тканини (остеопороз). При цьому розрізняють травматичні та патологічні переломи. Останні здебільшого виникають внаслідок остеопорозу, рахіту, неоплазійних процесів у кістковій тканині.

Найскладнішими серед травм опорно-рухового апарату як у людини, так і домашніх тварин, є осколкові переломи довгих трубчастих кісток, за яких застосування лише методів остеосинтезу не завжди забезпечує оптимальний перебіг репаративної регенерації кісткової тканини, оскільки за наявності багатоповерхової лінії злому та кісткових дефектів втрачається її регенеративний потенціал насамперед з причин втрати остеокондуктивності та порушень локальної гемодинаміки і мікроциркуляції [42–44]. Кісткові дефекти, які



виникають за такого виду переломів, зумовлюють збільшення кількості післяопераційних ускладнень, у подальшому можливі розлади статико-динамічної функції травмованої кінцівки і навіть зміни загального стану організму тварини загалом [45, 46].

У зв'язку з цим у низці клінічних випадків для повноцінного відновлення структури і функції кістки виникає необхідність у заміщенні посттравматичних кісткових дефектів та стимуляції репаративного остеогенезу [47–49]. Хоча «золотим стандартом» у цьому разі вважається аутоостеопластика, проте вона має низку недоліків: унеможливлення заміщення великих за об'ємом дефектів, наявність додаткової хірургічної травми в ділянці відбору аутоотрансплантата, втрата нормальної структури та функції «орган-донора», збільшення часу операції, відсутність повноцінної аутокістки за системного остеопорозу [50–52]. Отже, питання пошуку оптимальних матеріалів для заміщення кісткових дефектів залишається відкритим.

Останнім часом перспективним напрямом у травматології та ортопедії є використання композитних остеопластичних біоматеріалів на основі фосфатів кальцію (біоактивна кераміка), які мають остеоіндуктивні (здатність стимулювати ріст кісткової тканини в результаті впливу матеріалу на диференціювання мезенхімальних стовбурових клітин), остеокондуктивні (здатність матеріалу слугувати пасивним матриксом для росту нової кістки з наступною резорбцією матеріалу) та остеointegraційні (забезпечення прямого структурно-функціонального зв'язку між імплантом і кісткою) властивості [53]. Зокрема остеопластичні біоматеріали мають відповідати наступним вимогам: наявність пористості, що забезпечує проростання нової кісткової тканини; безпечність щодо інфекцій; біосумісність (відсутність токсичної, алергічної, канцерогенної дії), відсутність реакції з боку імунної системи організму, доступність та відносно низька вартість.

На сьогодні розроблено і представлено на ринку біоматеріалів низку імплантаційних кальцій-фосфатних матеріалів вітчизняного і зарубіжного виробництва на основі гідроксиапатиту,  $\alpha$ - чи  $\beta$ -трикальційфосфату, які за своїм хімічним складом та механічними властивостями максимально ідентичні до мінерального компоненту кісткової тканини [45, 54, 55].

Заразом вважається [56–59], що легування гідроксиапатитних композитів різноманітними елементами з метою надання їм нових функцій, які не притаманні нелегованій біоактивній кераміці, дає можливість отримати кістково-пластичний матеріал, який за своїми властивостями наближається до «золотого стандарту» остеозаміщення – аутоостеопластики. Зокрема, до кальцій-фосфатної кераміки додають іони натрію, калію, цинку, алюмінію, кремнію, германію, срібла, міді, магнію, стронцію, що забезпечують їх остеоіндуктивні властивості.

Вплив зазначених іонів на кістковий метаболізм надзвичайно різноманітний, а тому використання біоактивної кераміки, легової іонами мікроелементів, потребує проведення додаткових комплексних експериментальних та клінічних досліджень. Зокрема, германій характеризується протипухлинною, анальгезуючою, протизапальною, антиоксидантною, імунomodуючою, фунгіцидною, протівірусною та антимікробною дією, що є перспективним за репаративного остеогенезу [60–67].

Тимчасом, кремній суттєво впливає на метаболізм сполучної тканини загалом. Він індукує ангиогенез і васкуляризацію через посилення локальної продукції оксиду азоту [67–69], індукує диференціацію остеобластів і їх виживаність та продукцію ними колагену I типу і неколагенових білків, які посилюють локально та інтегрують кістковий метаболізм [70]. Локально підвищена концентрація кремнію зменшує остеорезорбцію та обумовлює просочування кісткового колагену гідроксиапатитом, що відображає процеси мінералізації та підвищення щільності кісткової тканини. Молекулярно-біологічною основою цього є активація через протеїнкінази сигнальних кальцієвих рецепторів і каналів остеопрогеніторних клітин з посиленням ними продукції неколагенових білків і кісткових морфогенетичних білків.

Кальцій-фосфатну кераміку пропонують як для заповнення кісткових дефектів, так і як покриття на металеві фіксаційні імпланти та елементи для остеосинтезу чи ендопротезування [71, 72]. Імпланти з біоактивної кераміки не спричинюють імунологічних і алергічних реакцій, токсичної дії на організм, не мають канцерогенних, мутагенних властивостей, мають достатній ступінь остеointegraції та контрольовану здатність до резорбції, легко піддаються стерилізації за високих температур. Водночас кальцій-фосфатна кераміка завдяки регульованим об'єму і формі, пористості та адгезивності характеризується адекватною для формування кісткового регенерата остеокондуктивністю, однак не має остеоіндуктивних властивостей [45, 73–75].

При цьому такі недоліки як крихкість матеріалу, низька стійкість за розтягу чи ударного навантаження можуть компенсуватися завдяки його використанню у складі композитів [76].

Для посилення остеоіндуктивних властивостей матеріали із кальцій-фосфатної кераміки комбінують з PRP, стовбуровими клітинами, кістковими морфогенетичними білками, факторами росту, які індукують диференціювання мезенхімальних стовбурових клітин та міграцію ендотеліальних клітин і остеобластів, та надають композитам остеогенних властивостей. Однак у цьому разі залишаються невирішеними питання досягнення імунологічної толерантності таких композитів, їх індивідуального дозування та форми застосування, одержання, зберігання і транспортування та імуоферментування стовбурових клітин, побічні явища гетеротопічної мінералізації.

Загалом, зважаючи на остеоіндуктивні властивості іонів кремнію та германію, легування ними кальцій-фосфатної кераміки може бути перспективним для остеозаміщення у тварин.

## **2. ГІСТОМОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ**

Функції кісткової тканини надзвичайно різноманітні: біомеханічна (опорно-рухова), захисна (механічний захист головного мозку, внутрішніх органів), кровотворна (кістковий мозок є джерелом гемо- та лімфопоезу), метаболічна (активна участь у обміні мікро- та макроелементів), депо мінеральних речовин і факторів росту [2, 82].

Кістка складається з клітин (остеобластів, остеоцитів, остеокластів) та міжклітинної речовини, яка становить більше 90 % її об'єму. Хімічний склад екстрацелюлярного матриксу включає близько 70 % мінеральних (95–99 % гідроксиапатит та 1–5 % аморфний фосфат кальцію) і 22 % органічних компонентів та 8 % води. Органічна складова кісткового матриксу на 90 % представлена колагеном I типу та на 5 % неколагеновими білками. Також вона містить ліпіди у формі протеоліпідів та вуглеводи – глікопротеїни і протеоглікани, серед яких, переважно, глікозаміноглікани (рис. 2.1–2.4).

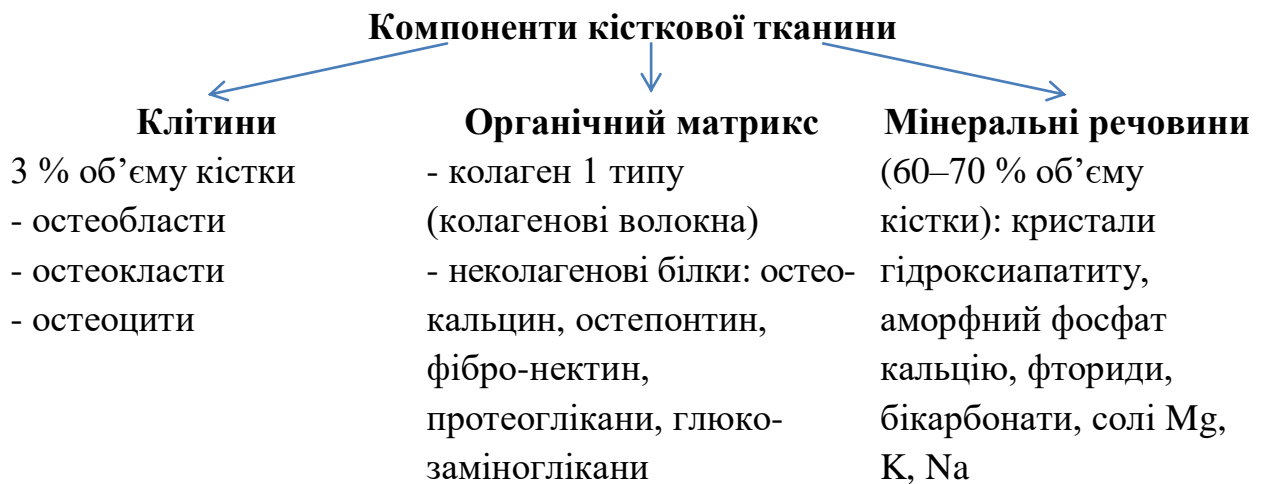


Рис. 2.1. Компоненти кісткової тканини.



Рис. 2.2. Клітини кісткової тканини.

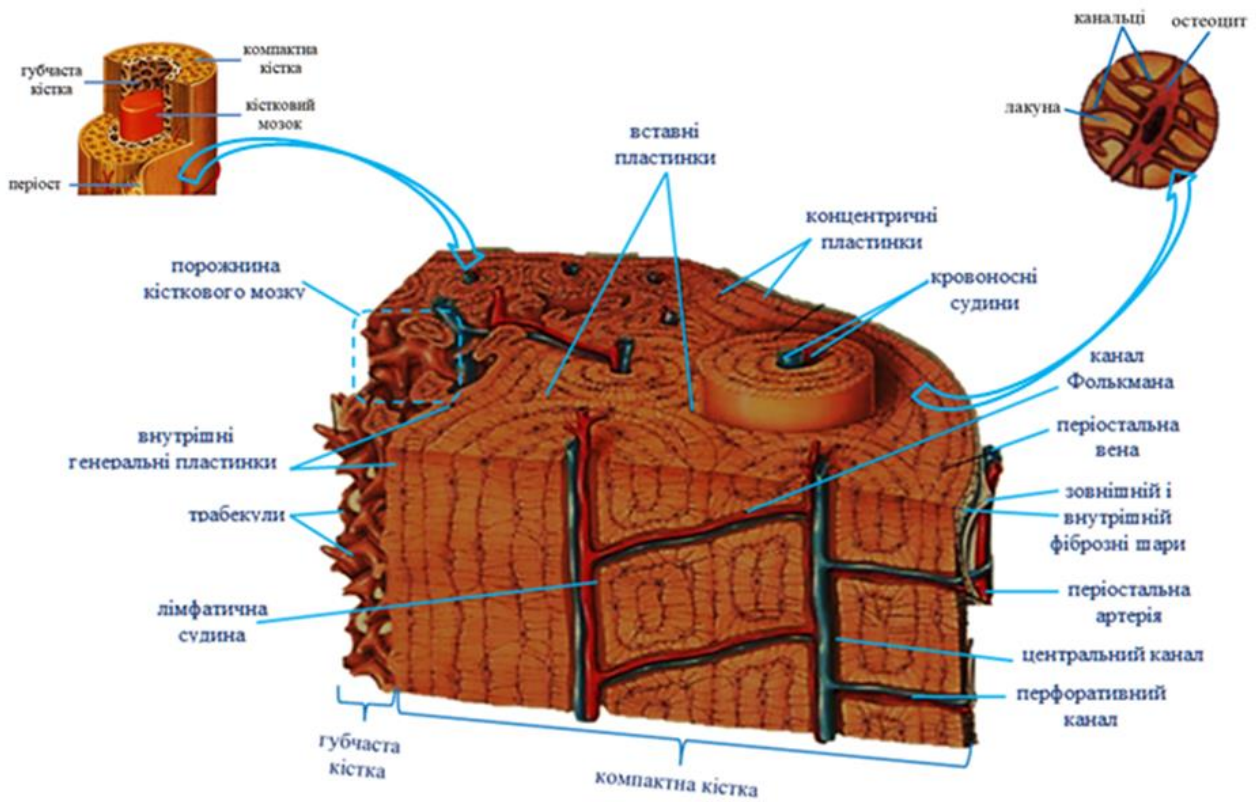


Рис. 2.3. Будова кістки.

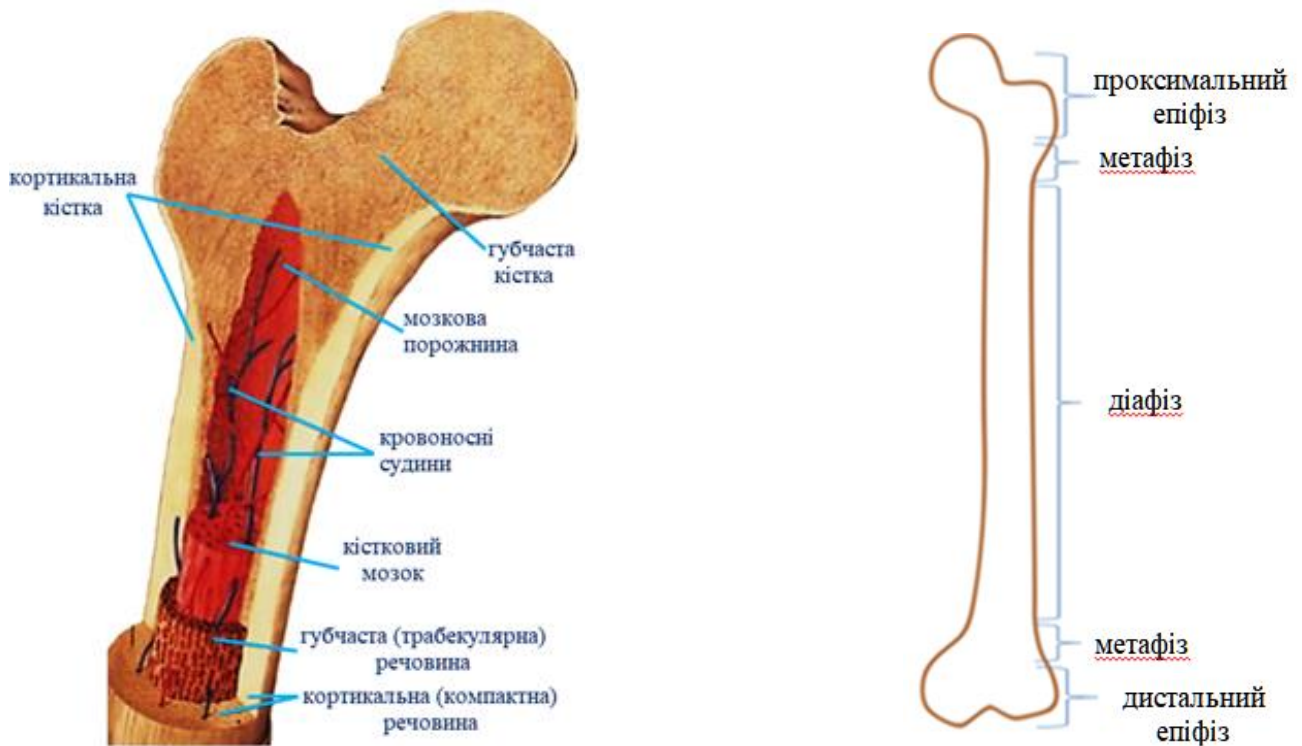


Рис. 2.4. Структурні компоненти кістки.

## Клітинно-диферонна організація кісткової тканини

*Остеобластичний клітинний диферон:* поліпотентні стовбурові клітини сполучної тканини із кісткового мозку → напівстовбурові остеогенні → преостеобласти → остеобласти → остеоцити.

*Остеокластичний клітинний диферон:* поліпотентні стовбурові гемопоетичні клітини кісткового мозку → мієлоїдні → уніпотентні промоноцити → моноцити → макрофаги (преостеокласти) → остеобласти.

## Фізіологічна регенерація кісткової тканини

**Фізіологічна регенерація** – перманентне оновлення кісткової тканини, зумовлене “зношуванням” чи накопиченням мікропошкоджень у будь-яких її ділянках за фізіологічних навантажень.

### *Механізми фізіологічної регенерації*

- ✓ звільнення ділянки резорбції від остеогенних клітин та їх посередників і немінералізованого кісткового матеріалу;
- ✓ міграція і фіксація остеобластів;
- ✓ демінералізація ( $\downarrow$ pH) і ферментативний лізис органічного матриксу остеобластами;
- ✓ проліферація та диференціювання остеогенних клітин-посередників в ендоості резорбованої лакуни, їх міграція в лакуну;
- ✓ синтез, структурування і формування надмолекулярних агрегантів: колагенових мікрофібрилових волокон, протеогліканів;
- ✓ мінералізація;
- ✓ механізми ґрунтуються на взаємодії клітин остеогенних, преостеобластів, остеобластів, остеоцитів, преостеокластів, остеокластів через локальні сигнали факторів росту і різних сімейств цитокінів.

## Репаративний остеогенез

**Репаративна регенерація кісткової тканини** – заміщення кісткового дефекту та повноцінне структурно-функціональне відновлення кісткової тканини в ділянці травми.

### *Стадії репаративної регенерації*

- ✓ стадія первинної деструкції;
- ✓ стадія вторинної деструкції (запально-резорбтивна);
- ✓ стадія клітинно-тканинної диференціації;
- ✓ стадія первинного ретикуло-фіброзного регенерата, його метаплазії та енхондральної осифікації;
- ✓ стадія молоді кісткової тканини, її остеонізації (функціонально зумовлена перебування кісткової тканини);
- ✓ стадія функціонально-диференційованої кісткової тканини.

Для репаративного остеогенезу характерним є клітинний тип регенерації (рис. 2.5–2.6).

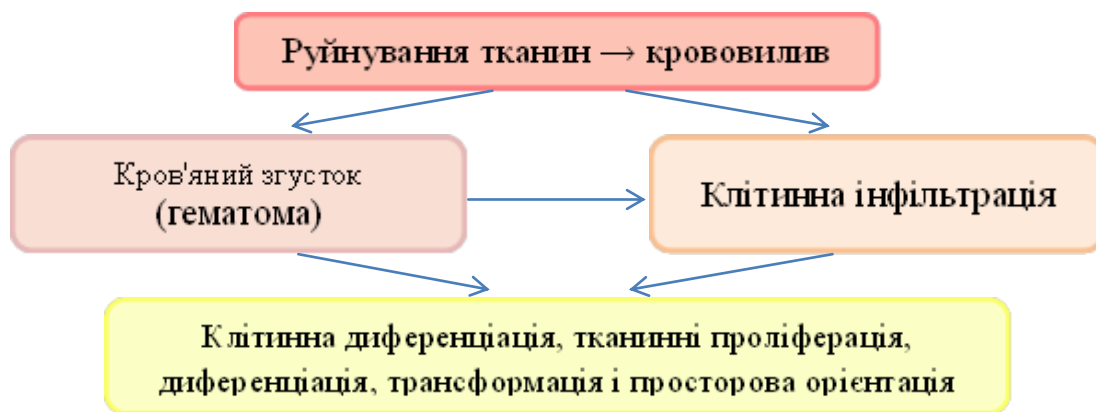


Рис 2.5. Схема основних явищ процесу репаративного остеогенезу

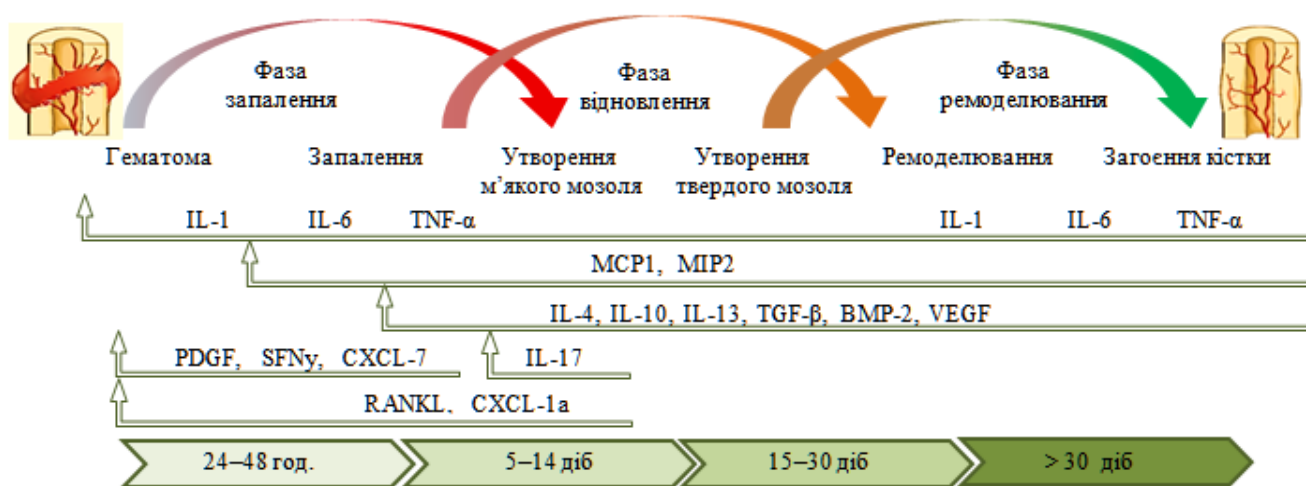


Рис 2.6. Остеоімунологія репаративного остеогенезу

### Типи (види) репаративної регенерації кісткової тканини

Первинне загоєння (без участі фіброзної та хрящової тканини, формування невеликого за об'ємом регенерата, за стійкої стабільності кісткових відламків і розміру щілини між ними 0,1–3 мм (умови для ранньої остеобластичної реакції → інтермедіарний мозоль));

Вторинне загоєння – грубоволокниста (фіброзна) → хрящова → кісткова тканини (нестабільна фіксація, діастаз відламків, низький ступінь остеointegraції імплантів, пошкодження м'яких тканин, порушення кровозабезпечення, деіннервація, осколкові переломи, інфекційні агенти, політравма (травматична хвороба), імунодефіцитні стани, гормональні порушення, порушення біомеханіки);

Повна регенерація (реституція) – заміщення дефекта ідентичною тканиною.

Неповна регенерація (субреституція) – заміщення дефекта щільною волокнистою сполучною тканиною, тобто рубцем.

**Часові клініко-морфологічні характеристики репаративного остеогенезу  
(діафізарний перелом трубчастої кістки)**

<b>Термін</b>	<b>Характеристика змін</b>
12 год.	гематома, ексудат
24–48 год.	гостре запалення
2-а доба	проникнення в кров'яний згусток капілярів
5–7-а доба	формування остеоїду, тканинне диференціювання (грануляційна, хрящова, остеобластична)
12–15-а доба	формування мінералізованих кісткових структур (виявляються рентгенологічно)
20–30-а доба	фіброзно-кістковий мозоль
після 6-го тижня	ремоделювання (реконструкція)

### 3. СИСТЕМНІ ТА ЛОКАЛЬНІ ФАКТОРИ РЕГУЛЯЦІЇ ФІЗІОЛОГІЧНОГО І РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗУ

Серед системних факторів головне значення у фізіологічному і репаративному остеогенезі (табл. 2.2) мають адренкортикотропний гормон кальцитонін, статеві гормони, соматотропний гормон, тиреоїдний гормон, глюкокортикостероїди, вплив яких реалізується реципрочно-конгруентним шляхом трансформації, експресії та інгібіції рецепторного апарату клітин печінки, наднирників, нирок, кишківника і кісткової тканини через анаболічні та катаболічні ефекти, баланс кальцій-фосфорного обміну, сигнальні системи цитокінів і факторів росту та систему OPG/RANKL/RANK [83, 84].

Локальну регуляцію остеогенезу здійснюють низка прозапальних і антифлогогенних цитокінів, простагландини і система морфогенетичних білків та різноманітних факторів росту, що реципрочно ініціюють процеси остеорезорбції та неоангіогенезу, міграції та диференціювання остеопротогеніторних клітин і проліферації, мінералізації та ремоделювання кісткової тканини [85], які реалізуються через рецепторний апарат ендотеліальних клітин, остеобластів і остеокластів та імунологічні механізми поляризації макрофагів різних типів.

Тобто патогенетична функція системних і локальних факторів остеогенезу за патології кісток і консолідації переломів реалізується тріадою–запалення–неоангіогенез–остеогенез.

Водночас, у будь-якому разі, клініко-патогенетичні критерії системних і локальних факторів регуляції репаративного остеогенезу за різних нозологічних форм кісткової патології, зокрема переломів, залишаються маловідомими з причини поодиноких досліджень, що ускладнює об'єктивну оцінку ефективності засобів і матеріалів для остеосинтезу й остеозаміщення, фармакотерапії та регенеративної біоінженерії.

## Фактори регуляції кісткової тканини

Регуляторний фактор	Ефект дії
1	2
<i>Системні фактори</i>	
Соматотропний гормон	Стимулює проліферацію та диференціювання остеобластів і хондроцитів, синтез ППФР-1 у печінці; регулює утворення ППФР-зв'язувальних білків, посилює синтез остеобластами колагену I типу, ЛФ, $\alpha$ -протеїну; сприяє трансформації транспортної форми вітаміну D в кальцитріол, тобто посиленню абсорбції кальцію у кишечнику, а фосфатів – у кишечнику і нирках, однак не впливає на осифікацію.
Гормони щитоподібної залози	Сприяють проліферації остеобластів, стимулюють біосинтез компонентів органічного матриксу. За гіпофункції уповільнюються ріст довгих кісток, формування вторинних центрів осифікації та кісткової мозолі, а за гіперфункції розвивається кісткова дистрофія із посиленням резорбції та схильністю до неоплазій.
Паратиреоїдний гормон (ПТГ)	Стимулює формування кісткового матриксу. Пригнічує реабсорбцію фосфатів у каналцях нирок. За періодичного збільшення концентрації ПТГ посилюється формування остеобластів із преостеобластів, а за її постійного підвищення стимулюється активність остеобластів і підсилюється кісткова резорбція. Низька концентрація ПТГ проявляється спочатку стимуляцією активності ЛФ, а потім її гальмуванням, а за високої активності ЛФ інгібується.
Кальцитонін	Інгібує активність остеобластів і кісткову резорбцію, прискорює початок мінералізації кісткової тканини. Хондропротекторна дія: посилює проліферацію хондроцитів і продукцію глікозаміногліканів, дозозалежно знижує активність колагенази і фосфоліпази $A_2$ .
Паратгормон + кальцитонін + кальцитріол	Регулюють гомеостаз іонів кальцію і опосередковано – фосфатів. Кальцитріол стимулює мінералізацію на рівні транскрипції, посилюючи експресію остеокальцину. ПТГ збільшує вивільнення кальцію із кісток, знижує його екскрецію нирками, стимулює утворення кальцитріолу, у результаті чого підвищується рівень кальцію в сироватці крові. ПТГ активує остеокласти та посилює резорбцію опосередковано через остеобласти, які мають до нього рецептори.



1	2
Статеві гормони	Статеві гормони сприяють осифікації кісток. Резорбцію кісткової тканини естрогени пригнічують через інгібування синтезу остеобластами ІЛ-1, -6, ФНО- $\alpha$ , ГМ-КСФ, стимулюють синтез ТФР- $\beta$ . 17- $\beta$ -естрадіол активує синтез ППФР-1 і -2, ТФР- $\beta$ . Естрогени попереджують резорбційний ефект ПТГ. За дії естрогенів знижується синтез ПТГ, збільшується продукція кальцитоніну, знижується резорбційна дія кальцитріолу. Вони збільшують кількість і розміри остеобластів, стимулюють їх функціональну активність. Естрогени інгібують формування остеокластоподібних клітин, посилюють розпад остеокластів. У репродуктивний період підтримують кістковий баланс, мінеральний гомеостаз, стимулюють кісткоутворення. Андрогеми підсилюють проліферацію остеобластів, синтез ними ЛФ, синтез колагену, підсилюють продукцію колагену, СТГ, ППФР-1 сприяє розвитку і мінералізації епіфізарних зон росту кісток, формування скелету.
Глюкокортикоїди	ГК стимулюють розпад білків, пригнічують всмоктування $\text{Ca}^{2+}$ в кишечнику, знижують реабсорбцію кальцію в ниркових каналцях і в такий спосіб підвищують його екскрецію із сечею. Вони пригнічують проліферацію остеобластів, синтез ними колагену, протеогліканів, неколагенових білків, виділення інтегринів.
Адреналін	Підвищує секрецію лізосомальних гідролаз в результаті дестабілізації лізосомальних мембран; позаклітинна концентрація остеокластних гідролаз, рівновага між їхніми інгібіторами і ферментами змінюється в бік останніх. В результаті порушується структура кісткової тканини в зоні резорбції. Опосередкований вплив адреналіну на метаболізм кісток здійснюється через підвищення екскреції ГК, розвиток ацидозу, посилення вільнорадикальних процесів.
Інсулін	Стимулює синтез хряща, кісткового матриксу, сприяє диференціації остеобластів, мінералізації кісткової тканини, не впливає на процеси резорбції. Впливає на кісткові клітини через їх рецептори, а також опосередковано через продукцію ППФР в печінці. Інсулін справляє анаболічну дію на білковий обмін. За дефіциту інсуліну порушується транспорт кальцію в клітини, підвищується розпад білків.

1	2
Глюкагон	Здійснює стимулювальний вплив на остеогенез опосередковано через кальцитонін, в культурі тканини пригнічує резорбцію кістки. Фізіологічні ефекти глюкагону протилежні ефектам інсуліну.
<b>Місцеві фактори</b>	
Простагландини	Беруть участь у ремоделюванні кісткової тканини. ПГЕ2 впливає на формування і активність остеокластів, процеси резорбції кісткової тканини. Вплив ПГЕ2 на кісткове формування залежить від концентрації: в концентрації $19 \times 10^{-7}$ ммоль/л він підвищує кістковий синтез колагену, за концентрації $10^{-6}$ ммоль/л уповільнює. ПГЕ прискорює вихід кальцію з кістки, стимулює вивільнення з кісткової тканини лізосомальних ферментів.
ВМР (кісткові морфогенетичні білки)	ВМР-2, -6 і -9 індукують диференціацію мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) в хондроцити та остеобласти; ВМР-3, -4, -7 і -8 беруть участь в остеогенній стадії, тим часом як ВМР-5 і -6 – у внутрішньомембранному та ендохондральному окостенінні; ВМР-2 і -4 створює передумови для розвитку остеокластів; ВМР-2 посилює диференціацію остеобластів.
ТФР-р, поліпептидні фактори росту із кістки	Стимулюють синтез макромолекул кісткового матриксу.
ІЛ-1, ТФР-а, простагландини	Підсилюють резорбцію кістки.
ІПФР-1, -2, ТФР-р, фактори росту фібробластів	Стимуляція диференціювання остеобластів з клітин попередників, посилення кісткоутворення. ІПФР-1 і -2 подібні за структурою і функцією до інсуліну. Основною фізіологічною функцією ІПФР1 (соматомедина С) є ріст скелета і хрящової тканини, резорбцію кістки.
ІЛ-1, -6, -11, ФНП-α	Сприяють дозріванню і активації остеокластів, підвищенню кісткової резорбції.
ІЛ-4, -10, -13, антагоністи рецептора ІЛ-1 та інтерферону	Пригнічують дозрівання і активність остеокластів, кісткову резорбцію. Інтерферон у інгібує резорбцію кістки, опосередковану ІЛ-1, ФНП-α, -р.
Вітамін С	Необхідний для синтезу колагену, за його дефіциту сповільнюється ріст кісток, загоєння переломів.
Вітамін А	За його дефіциту гальмується остеогенез і ріст кісток. За надлишку – сповільнюється ріст кісток у довжину (заростання епіфізарних хрящових пластинок).

## Біохімічні маркери метаболізму кісткової тканини

### Остеогенез

#### Сироватка крові

- остеокальцин (кістковий gla-протеїн);
- загальна і кістковоспецифічна лужна фосфатаза;
- карбокситермінальний пропептид колагену I типу.

### Резорбція кісткової тканини

#### Плазма

- тартратрезистентна кисла фосфатаза;
- піридинолін і піридиноліноутворювальні пептиди;

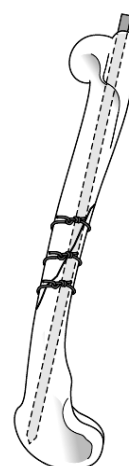
#### Сеча

- піридинолін, дезокіпіридинолін (“зшивки” колагену) і піридинолін-утримувальні пептиди в сечі;
- кальцій і гідроксипролін в сечі (дослідження проводять натщесерце);
- глікозиди гідроксилізіну в сечі.

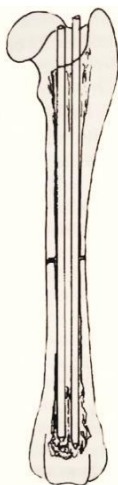
## 4. СТАБІЛЬНА ФІКСАЦІЯ КІСТКОВИХ УЛАМКІВ (способи остеосинтезу).



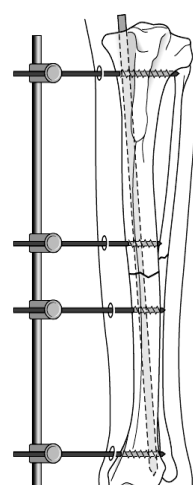
інтрамедулярний остеосинтез  
(класичний)



інтрамедулярний остеосинтез у комбінації  
із серкляжним дротом

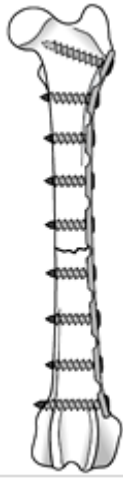


інтрамедулярний остеосинтез двома  
внутрішньокістковими фіксаторами



інтрамедулярний остеосинтез у комбінації  
із зовнішнім фіксатором

Рис. 4.1. Інтрамедулярний остеосинтез.

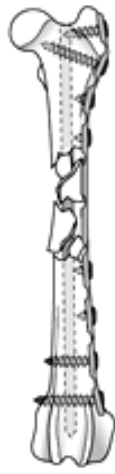


екстракортикальний остеосинтез  
пластиною

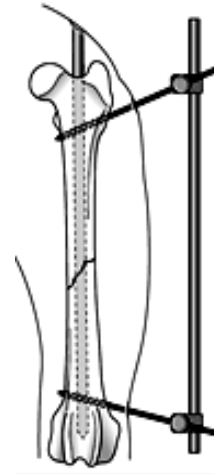


остеосинтез опорною пластиною

**Рис. 4.2. Екстракортикальний остеосинтез.**

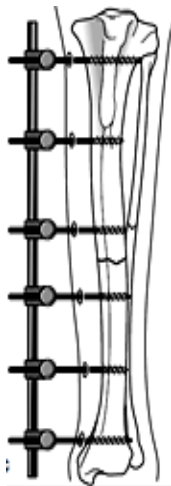


комбінація інтрамедулярного та  
екстракортикального остеосинтезу

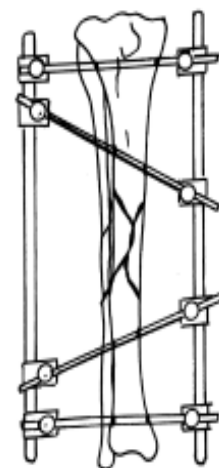


комбінований остеосинтез за допомогою  
внутрішньокісткового фіксатора та апарата  
зовнішньої фіксації

**Рис. 4.3. Комбінація різних видів остеосинтезу.**



двосторонній, одноплосинний  
позавогнищевий остеосинтез



двосторонній, одноплосинний позавогнищевий  
остеосинтез

**Рис. 4.4. Застосування апаратів зовнішньої фіксації  
(позавогнищевий остеосинтез).**

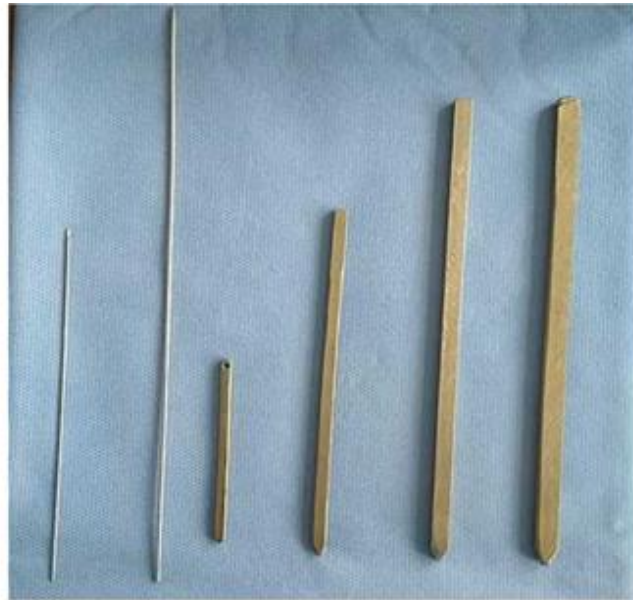


Рис. 4.5. Засоби для інтрамедулярного остеосинтезу



Ключ для моделювання пластин



Направляюча втулка до свердла



Мітчик для нарізання різьби



Кусачки кісткові



Кісткові тримачі



Свердло кільцеве для висверлювання гвинтів

Рис. 4.6. Інструментарій для проведення екстракортикального остеосинтезу



Пилка



Вимірювач глибини каналу



Викрутка



Викрутка



Свердло



Гвинти



Пряма пластина



Т-подібна пластина



Реконструкційна пластина

Рис. 4.6 (продовження). Інструментарій для проведення екстракортикального остеосинтезу

## 5. ХАРАКТЕРИСТИКА КАЛЬЦІЙ-ФОСФАТНИХ МАТЕРІАЛІВ ДЛЯ ОСТЕОЗАМІЩЕННЯ

Для остеозаміщення використовували біоактивну кераміку синтезовану в Інституті проблем матеріалознавства ім. І. М. Францевича НАН України (м. Київ).

**1. ГТ $\alpha$ -500** – гранули двофазної кальцій-фосфатної кераміки, що складаються з 70 % фази гідроксиapatиту (ГАП) і 30 %  $\alpha$ -трикальційфосфату розмір гранул 400–600 мкм.

Цей матеріал отриманий термічним розкладанням нестехіометричного гідроксиapatиту за температури 800 °С. Синтез нестехіометричного гідроксиapatиту  $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$  ( $0 < x < 1$ ) проводили традиційним методом хімічного осадження змішування розчинів солей кальцію азотнокислого гідрату  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  і амонію фосфорнокислого двозаміщеного  $(\text{NH})_2\text{HPO}_4$ . Отриманий осад після промивання, обробки пороутворювачем і висушування був подрібнений та просіяний для отримання необхідної фракції. За результатами рентгенофазового аналізу фаза ГАП складає 70 %, а фаза  $\alpha$ -ТКФ – 30 % (рис. 5.1, 5.2). Адсорбційна активність гранул ГТ $\alpha$ -500 становить 118,7 мг/г.

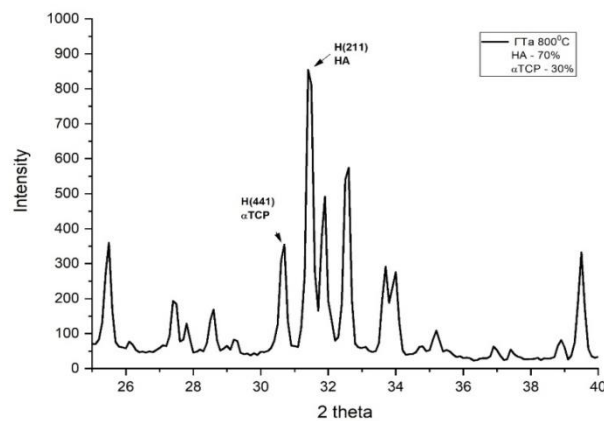


Рис. 5.1. Дифрактограма гранул гідроксиapatиту з  $\alpha$ -трикальцій-фосфатом, вісь абсцис – дифракційні піки; вісь ординат –інтенсивність дифракції.

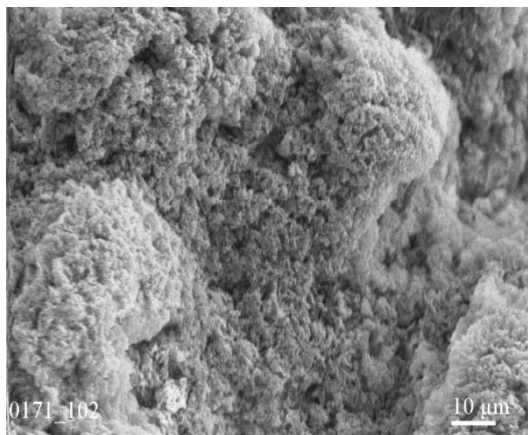


Рис. 5.2. Мікроструктура зовнішньої поверхні гранули композитного матеріалу – гідроксиapatиту з  $\alpha$ -трикальційфосфатом.

**2. ГТ $\alpha$ + $\beta$ -700** – гранули трохфазного кальцій-фосфатного матеріалу, після ультразвукової обробки у розчині, що імітує біологічну рідину

Матеріал також отриманий методом хімічного осадження з розчинів солей кальцію і фосфору, але відрізняється умовами обробки осаду, а саме змінений параметр рН отриманого гелю. Після обробки пороутворювачем гель був висушений, подрібнений та просіяний для отримання необхідної фракції 600–800 мкм. Отримані гранули були оброблені в ультразвуковій ванні у розчині, що імітує біологічну рідину для утворення нанопор і збільшення поверхні та відпалені при 800 °С.

За результатами рентгенофазового аналізу фаза ГАП складає 55 %, фаза  $\alpha$ -ТКФ – 30 %,  $\beta$ -ТКФ – 15 % (рис. 5.3). Адсорбційна активність гранул ГТ $\alpha$ + $\beta$ -700 становить 220,5 мг/г.

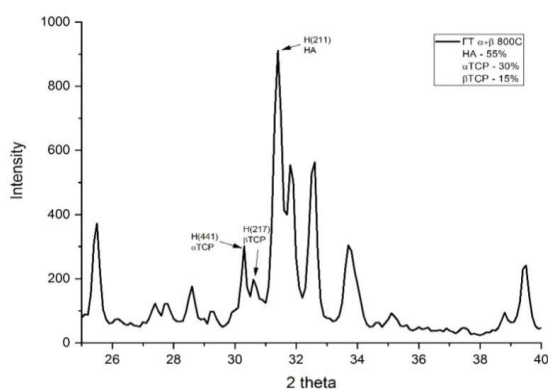


Рис. 5.3. Дифрактограма гранул гідроксиапатиту з  $\alpha$ - та  $\beta$ -трикальцій-фосфатом: вісь абсцис – дифракційні піки; вісь ординат – інтенсивність дифракції.

Дифракційні піки здвинуті вліво на 0,4 2 $\Theta$ , що означає зміни параметрів решіток фаз внаслідок утворення третьої фази. Ці зміни призводять до підвищення активності матеріалу.

Мікроструктура поверхні гранул підтверджує наноструктурність отриманого матеріалу (рис. 5.4).

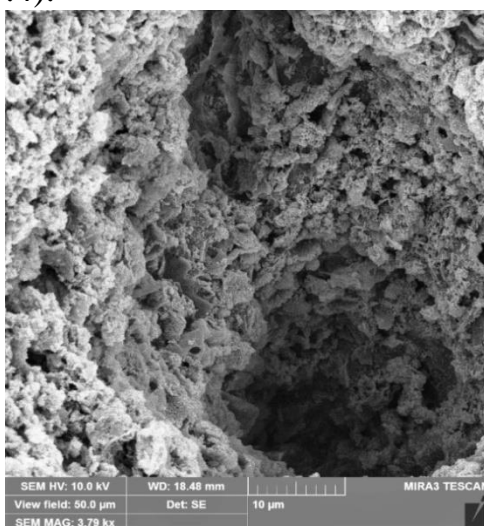


Рис. 5.4. Мікроструктура зовнішньої поверхні гранули композитного матеріалу – гідроксиапатиту з  $\alpha$ - та  $\beta$ -трикальційфосфатом, промитого в ультразвуковій ванні у розчині, що імітує біологічну рідину.



**3. ГТлКг-2** – двофазний композит з гідроксиапатиту 70 % та 30 %  $\beta$ -трикальційфосфату, легований кремнієм, у кількості 1,3 ваг.%, витриманий за температури 800 °С з розміром гранул 2 мм.

Матеріал отримано твердофазним спіканням наночастинок нестехіометричного ГАП з наночастинками  $\text{SiO}_2$  за температури 800 °С. Нестехіометричний ГАП отримано методом хімічного осадження при змішуванні розчину солей кальцію азотнокислого гідрату  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  і амонію фосфорнокислого двозаміщеного  $(\text{NH})_2\text{HPO}_4$ . Умови синтезу відрізняються від таких для ГТ $\alpha$ -500 за величиною рН реакційного розчину та умовами старіння осаду. Матеріал був подрібнений до фракції 1–2 мм. Перед відпалом гранули промито у розчині, що імітує біологічну рідину, в ультразвуковій ванні. Відпалені гранули при 800 °С. За результатами рентгенофазового аналізу (рис. 5.5, 5.6) фаза ГАП складає 70 %, а фаза  $\beta$ -ТКФ – 30 %. Адсорбційна активність гранул ГТлК-2 – 117,9 мг/г. Вміст кремнію 1,3 ваг.% в гранулах після спікання, визначений на рентгенофлуоресцентному експрес-аналізаторі "EXPERT 3L".

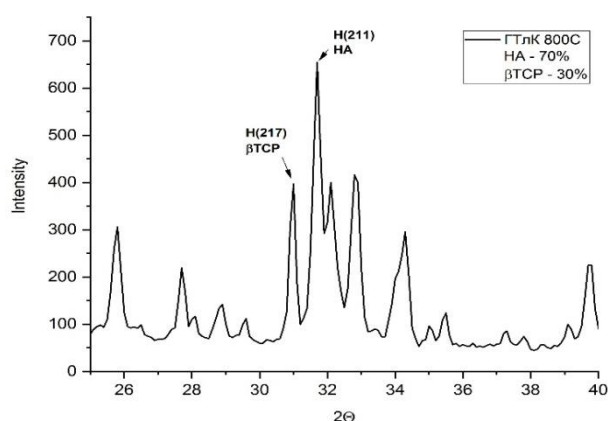


Рис. 5.5. Дифрактограма гранул ГТлК-2, відпалених при 800 °С: вісь абсцис – дифракційні піки; вісь ординат –інтенсивність дифракції

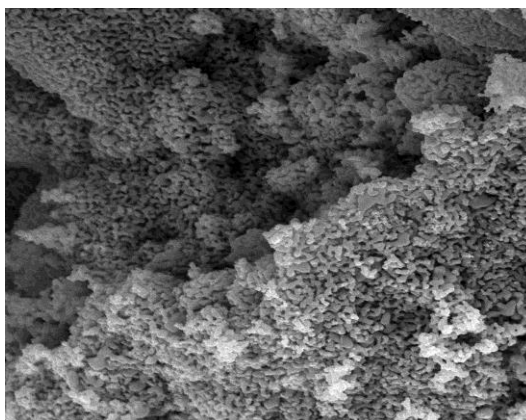


Рис. 5.6. Мікроструктура зовнішньої поверхні гранули ГТлК-2

**4. ГТлКг-700** – відмиті двофазні гранули, леговані кремнієм, складаються з 72 % гідроксиапатиту і 28 %  $\beta$ -трикальційфосфату, обпалені при температурі 850 °С, розмір гранул 600–800 мкм.

Цей матеріал отримано по методиці, аналогічній для ГТлК-2, відрізняється розміром гранул і температурою відпалу. Перед відпалом гранули промивають у

розчині, що імітує біологічну рідину, в ультразвуковій ванні. За результатами рентгенофазового аналізу (рис. 5.7, 5.8) фаза ГАП складає 72 %, а фаза  $\beta$ -ТКФ – 28 %. Адсорбційна активність гранул ГТЛК-700 – 229,1 мг/г. Вміст кремнію 1,3 ваг.% в гранулах після спікання, визначений на рентгенофлуоресцентному експрес-аналізаторі "EXPERT 3L". У всіх представлених кальцій-фосфатних керамік рН є нейтральним.

Заразом для остеозаміщення осколкових переломів трубчастих кісток у собак використовували ГТЛК-3, який є ідентичним до ГТЛК-700 і відрізняється лише розміром гранул – 3 мм, що дозволяє технічно заповнювати великі за об'ємом кісткові дефекти.

З мікрофотографій можна зробити висновок, що пористість ГТЛК-700 менше, але він більш спечений, що підвищило його міцність.

При порівнянні дифрактограм відмічається більше відхилення дифракційних піків для ГАП та  $\beta$ -ТКФ, що означає більшу активність гранул ГТЛК-700, про що свідчить їх адсорбційна активність.

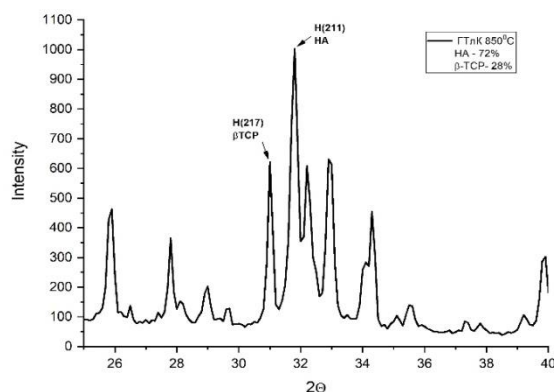


Рис. 5.7. Дифрактограма гранул гідроксиapatиту з  $\beta$ -трикальцій-фосфатом, легованого кремнієм: вісь абсцис дифракційні піки; вісь ординат інтенсивність дифракції

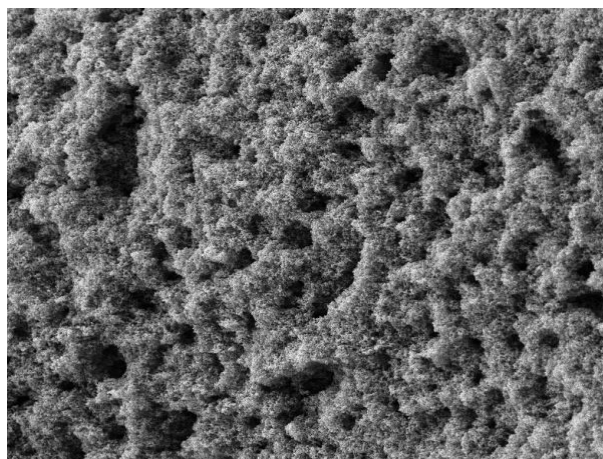


Рис. 5.8. Мікроструктура зовнішньої поверхні гранули композитного матеріалу – гідроксиapatиту з  $\beta$ -трикальційфосфатом, легованого кремнієм

## 5. ГТГ-700 та ГТлGeГ-700.

Для досліджень були отримані гранули двофазної кальцій-фосфатної кераміки (ГТГ-700), що складаються з 65 мас.% фази гідроксиapatиту (ГАП) і 35 мас.%  $\beta$ -трикальційфосфату ( $\beta$ -ТКФ). Розмір гранул 600-800 мкм. Матеріал отриманий розкладанням нестехіометричного гідроксиapatиту при температурі 800 °С.

Синтез нестехіометричного гідроксиapatиту  $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$  ( $0 < x < 1$ ) було проведено традиційним методом хімічного осадження при змішуванні розчину солей кальцію азотнокислого гідрату  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  і амонію фосфорнокислого двозаміщеного  $(\text{NH})_2\text{HPO}_4$ . Отриманий осад після промивки, обробки пороутворювачем та висушування був подрібнений та розсіяний для отримання необхідної фракції.

Легування кальцій-фосфатної кераміки германієм (ГТлGeГ-700) проводили шляхом введення в свіже осаджений гель стехіометричного гідроксиapatиту (ГАП) 1,0 мас.% метафосфату германію –  $\text{Ge}(\text{PO}_3)_4$  у вигляді колоїдного розчину. Синтез стехіометричного ГАП ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) було проведено традиційним методом хімічного осадження при змішуванні розчину солей кальцію азотнокислого гідрату  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  і амонію фосфорнокислого двозаміщеного  $(\text{NH})_2\text{HPO}_4$  з розрахунковим співвідношенням Ca/P 1,67.

На рисунку 5.9 а представлена дифрактограма нелегованого відпаленого стехіометричного гідроксиapatиту, яка свідчить про наявність 100% фази гідроксиapatиту. Після легування, добавляння пороутворювачів, сушки, та відпалу при 800 °С в матеріалі відбулись фазові зміни, за рахунок додавання фосфат іонів з метафосфату германію.

Дифрактограма відпалених гранул легуваного стехіометричного гідроксиapatиту 1,0 мас.% германію представлена на рис. 5.9 б, яка свідчить про фазовий склад готових гранул 65% гідроксиapatиту та 35%  $\beta$ -трикальційфосфату.

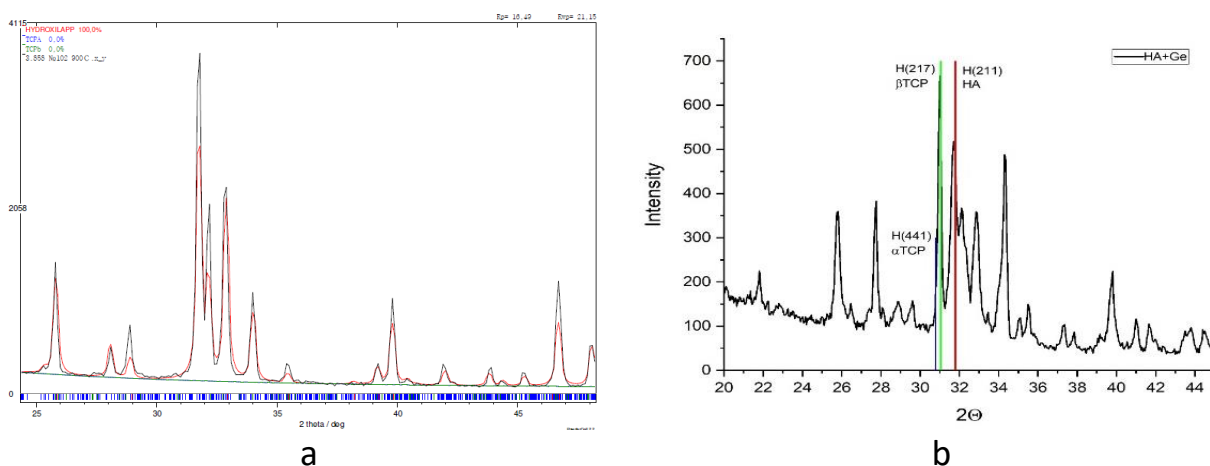
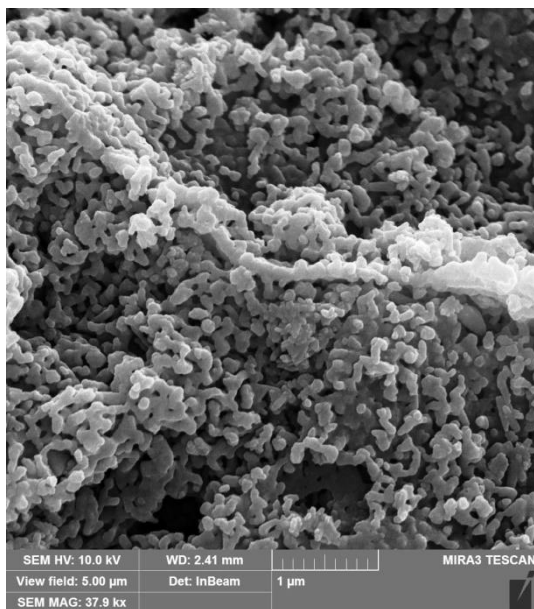


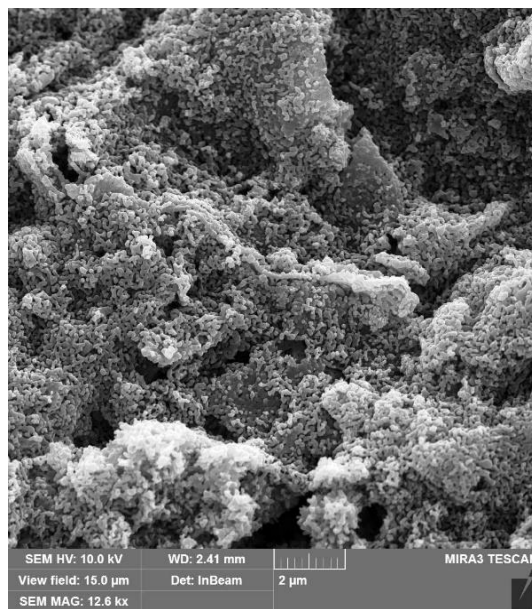
Рис. 5.9. Дифрактограма нелегованого стехіометричного гідроксиapatиту після відпалу (а) та легуваного гідроксиapatиту 1,0 мас. % германію після відпалу (б).

Для імплантації використовували гранули розміром 600-800 мкм. Після відпалу концентрація германію в матеріалі 0,8 мас. %.

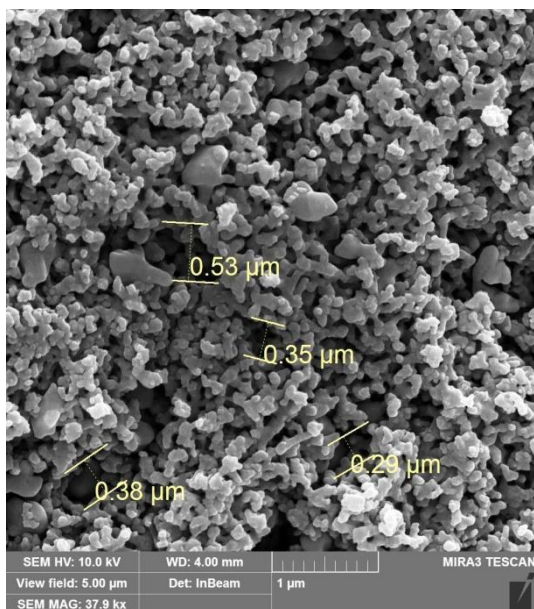
За результатами досліджень мікроструктури зразків двофазної кераміки нелегованої (рис. 5.10 а, б) та легованої германієм (рис. 5.10 с, d) видно, що структура ГТлGe більш тонка та однорідна з наявністю нано-, мезо- та макропор, що впливає на підвищення розчинності та адсорбційної активності гранул.



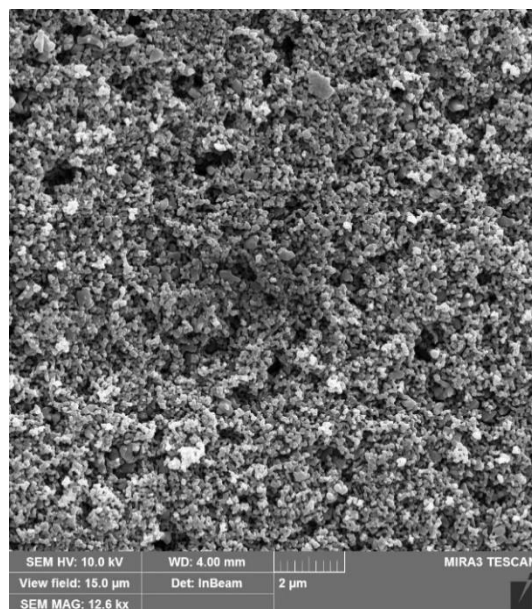
а



б



с



д

Рис. 5.10. Мікроструктура гранул HA/β-TCP-700 (а, б), збільшення  $37,9 \times 10^3$  та  $12,6 \times 10^3$ , гранул HA/β-TCP/Ge-700 (с, d), збільшення  $37,9 \times 10^3$  та  $12,6 \times 10^3$ .

## **6. КЛІНІКО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ОСТЕОЗАМІЩЕННЯ ЛЕГОВАНОЮ КРЕМНІЄМ КАЛЬЦІЙ- ФОСФАТНОЮ КЕРАМІКОЮ**

Усі проведені дослідження схвалені Етичним комітетом Білоцерківського національного аграрного університету з питань поводження з тваринами у наукових дослідженнях та освітньому процесі (висновок № 2 від від 23 січня 2019 року, протокол № 1).

### **6.1. Гістоморфологічна характеристика регенератів компактної і губчастої кісткової тканини**

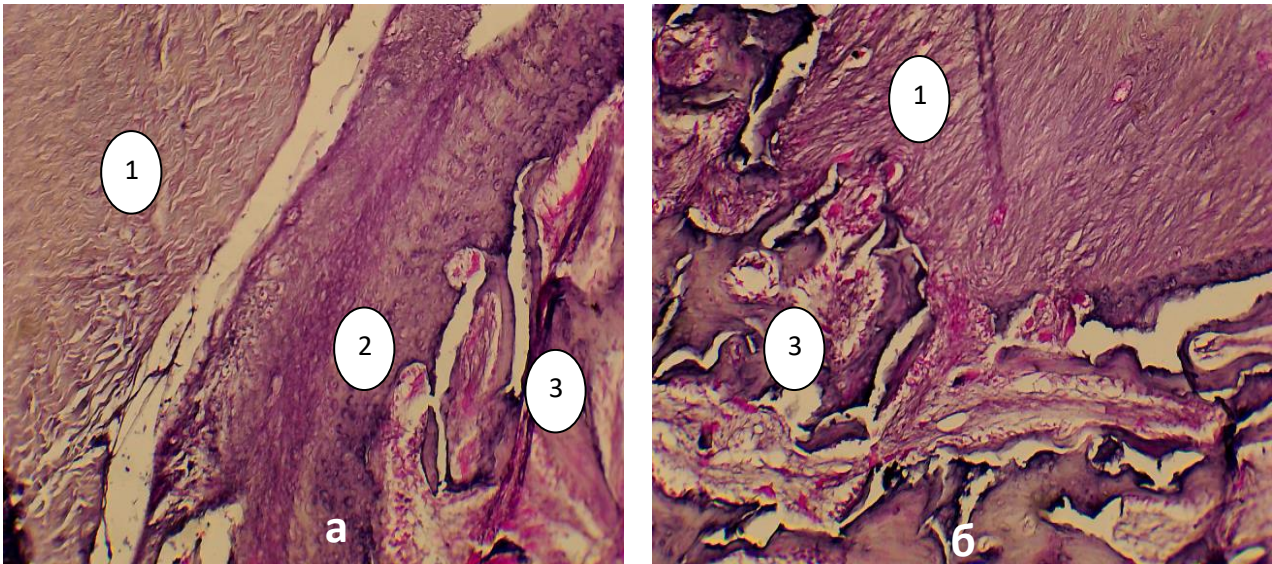
Сформували контрольну і дві дослідні групи кролів по 10 гол. у кожній, модельні дефекти губчастої кістки відтворювали у дистальній ділянці метафіза стегнової кістки, а компактної – у діафізі променевої кістки. Оперативний доступ проводили відповідно – латеральної та дорсолатеральної поверхні з дотриманням правил асептики і антисептики.

За хірургічного моделювання кісткових дефектів у кролів анестезіологічне забезпечення включало внутрішньом'язове введення 2 % розчину ксилазину (1–3 мг/кг), підшкірне введення 1 % розчину буторфанолу (0,2–0,4 мг/кг) і внутрішньовенне тіопенату (5–8 мг/кг) – тіопентал натрію (ООО Бровафарма, Україна) та місцеву інфільтраційну анестезію 0,5 % розчином лідокаїну (3–4 мг/кг).

У кролів після розтину окістя формували кістковий дефект свердлом ( $d=3$  мм), який у 1-й дослідній групі заповнювали кальцій-фосфатною керамікою ГТлКг-2 і в 2-й – ГТлКг-700. У тварин контрольної групи ( $n=10$ ) кісткові дефекти залишали загоюватися під кров'яним згустком. Рани зашивали вузловими швами, які після оперативного втручання двічі на добу впродовж п'яти діб обробляли антисептиком йоддицеринном.

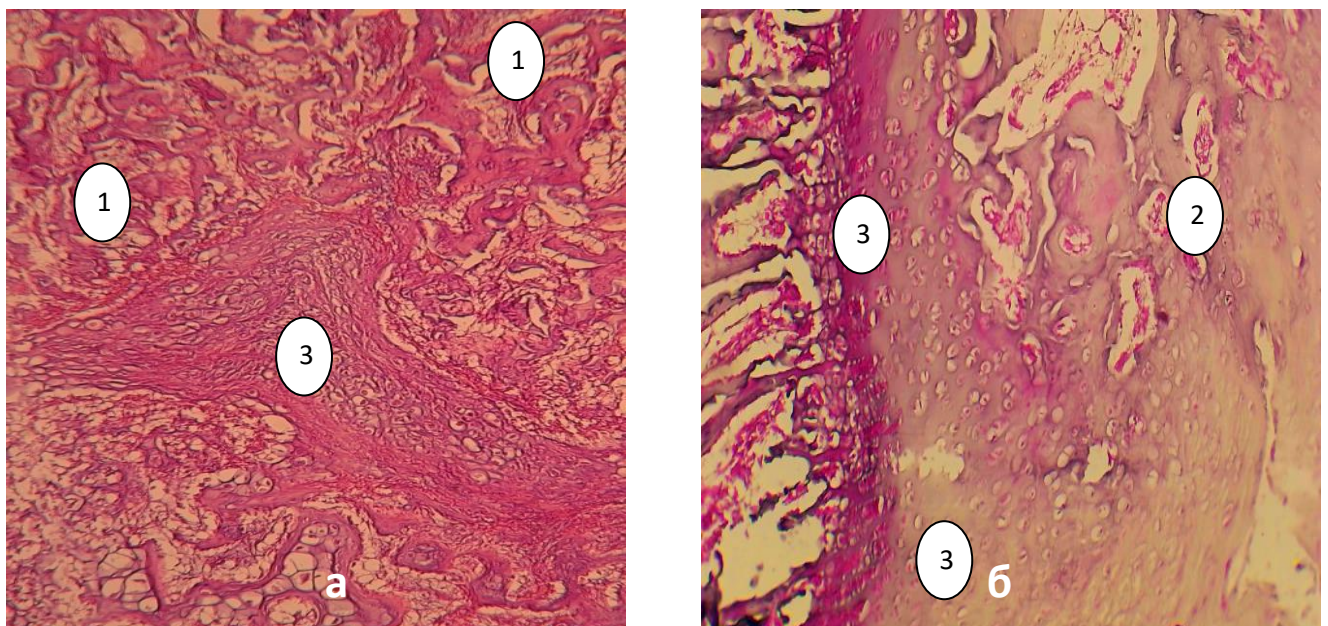
Гістоморфологічно репаративний остеогенез в умовах остеозаміщення відбувається за вторинним натягом, що передбачає послідовний його перебіг у кілька стадій (фаз): перша – характеризується формуванням фібрин-кров'яного згустку; друга – диференціюванням клітин та формуванням тканинно специфічних структур в зоні перелому; третя – утворення кістково-хрящового регенерату з відповідних тканин та з реорганізацією тканинних структур і їх мінералізацією, однак її нерідко відносять до другої стадії; за четвертої – відбувається ремоделювання тканин і їх функціональна адаптація, та завершується п'ятою стадією – розрішенням, тобто наявністю істинного остеогенезу і формування кісткової тканини, що не відрізняється від оточуючої непошкодженої кістки з відновленням її форми і функції.

У губчастій кістковій тканині у кролів контрольної групи (рис. 6.1) на 21-у добу він характеризувався наявністю у центральній ділянці дефекта формуванням волокнистої хрящової тканини. Ближче до його периметра вона переходила у гіаліновий хрящ. Водночас кісткова тканина на межі із сформованим дефектом інтенсивно резорбувалася наявними остеокластами. Також по периметру дефекта формувалася судинна сітка, але слабо розвинута, що є причиною недостатньої оксигенації і подовження відповідно стадії хрящового мозоля та додаткового у сформованому дефекті резорбування кісткової тканини.



**Рис. 6.1. Гістоструктура кісткових регенератів дистальних метафізів стегнових кісток кролів на 21-у добу (контрольна група): 1 – волокниста хрящова тканина; 2 – гіаліновий хрящ; 3 – кісткові балки губчастого типу; Заб. гематоксиліном і еозином, зб. х 100.**

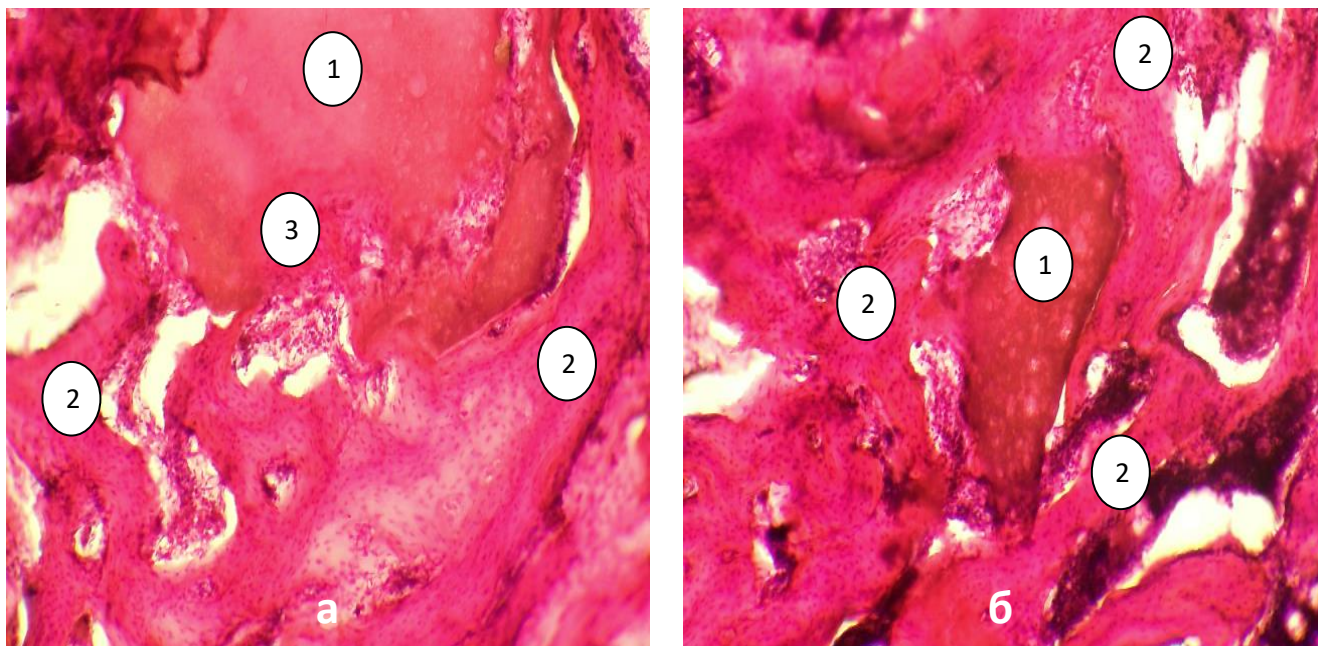
У 1-й дослідній групі, центральна ділянка дефекта була заповнена гіаліновою хрящовою тканиною з її осифікацією на периферії, як наслідок хрящові клітини разом із їх ядрами руйнувалися. На їх місці формувалася ретикулофіброзна кісткова тканина. З боку зони осифікації формувались пучки капілярів та судинних каналів, у яких були різного ступеня диференціювання мезенхімальні клітини гемопоетичного і остеогенного рядів (рис. 6.2).



**Рис. 6.2. Гістоструктура кісткових регенератів дистальних метафізів стегнових кісток кролів на 21-у добу (1-а дослідна група): 1 – кісткові балки губчастого типу; 2 – грубоволокниста кісткова тканина; 3 – гіаліновий хрящ; Заб. гематоксиліном і еозином, зб. х 100.**

Однак, найбільш динамічною виявилася гістоморфологічна картина на 21-у добу в 2-й дослідній групі, де натомість у ділянці сформованих дефектів

реєстрували переважно елементи кісткової тканини губчастого типу та залишки грубоволокнистої кісткової тканини (рис. 6.3). При цьому гранули композитного матеріалу виявилися щільно інтегрованими із трабекулами губчастої кісткової тканини, а каскад судинних каналів і капілярів у цій групі, поміж решти, був розвинутим найкраще.

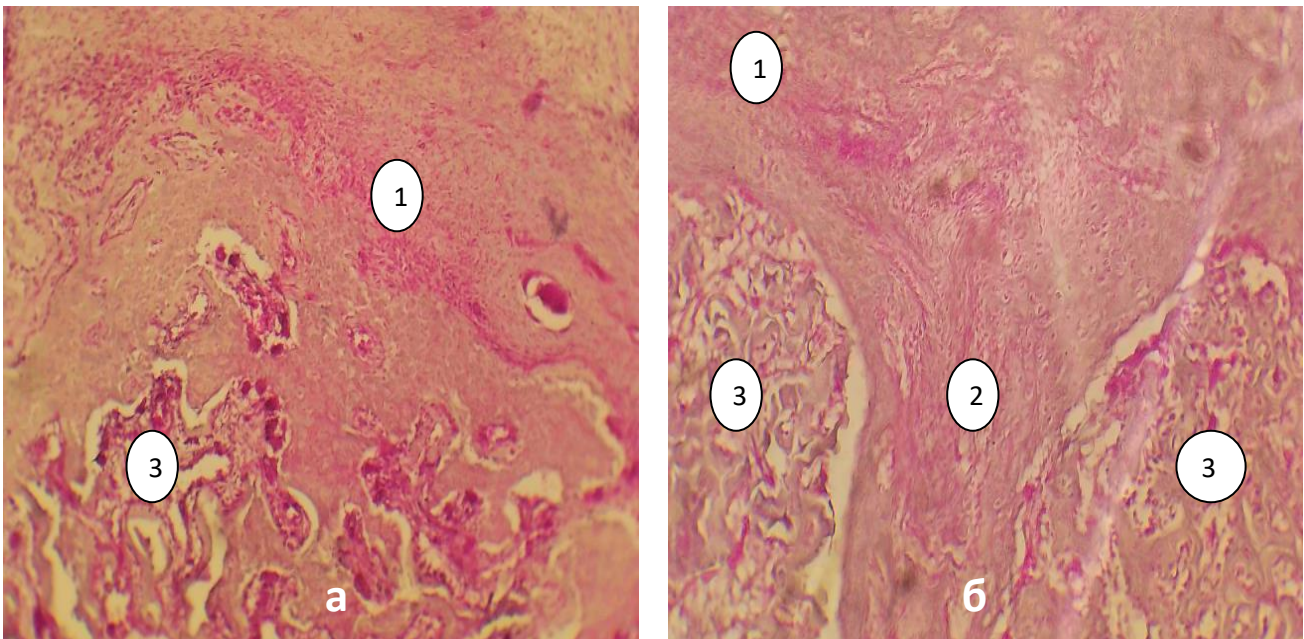


**Рис. 6.3. Гістоструктура кісткових регенератів дистальних метафізів стегнових кісток кролів на 21-у добу (2-а дослідна група):**  
1 – гранула матеріалу; 2 – кісткові балки губчастого типу;  
3 – інтеграція кісткової тканини в композитний матеріал;  
Заб. гематоксилином і еозином, зб. x 100.

Подальші гістоморфологічні дослідження засвідчили, що на 42-у добу спостережень у тварин контрольної групи (рис. 6.4) сформований кратероподібний кістковий дефект був на периферії вистелений ущільненою грубоволокнистою тканиною, ближче в бік дефекту вона переходила в гіаліновий хрящ, але кратероподібний дефект виявився заповненим сполучною тканиною.

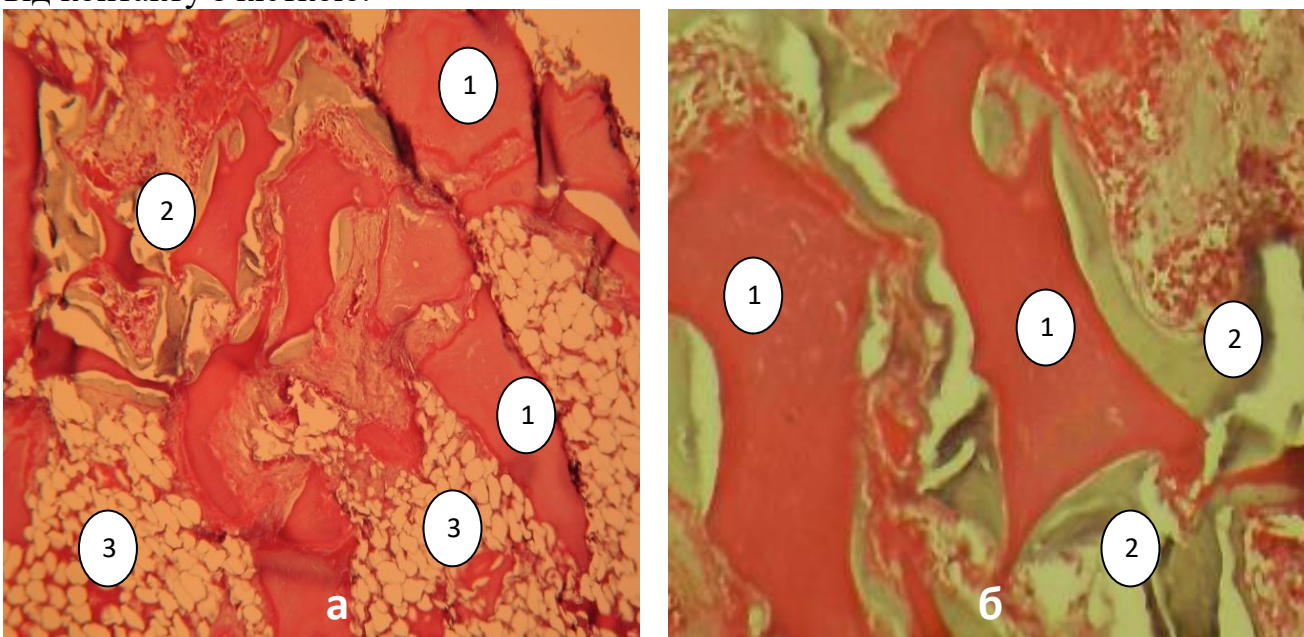
У кісткових балках губчастої кісткової тканини, які знаходилися на деякій відстані від місця кісткового дефекту, спостерігалися досить великі осередки резорбції кісткової тканини, де наявні остеокласти.

Репаративний остеогенез проходить через епіформоз, тобто нарощування osteoidної тканини від краю пошкодження до центру дефекта, що не забезпечує osteoconductive ефекту і створює ситуацію розбалансованості репаративного остеогенезу, неузгодженого перебігу одночасно в різних ділянках кісткової травми різних його стадій, які регулюються різними локальними і системними факторами.



**Рис. 6.4. Гістоструктура кісткових регенератів дистальних метафізів стегнових кісток кролів на 42-у добу (контрольна група): 1 – волокниста сполучна тканина; 2 – волокнистий хрящ; 3 – кісткові балки губчастого типу; Заб. гематоксилином і еозином, зб. x 100.**

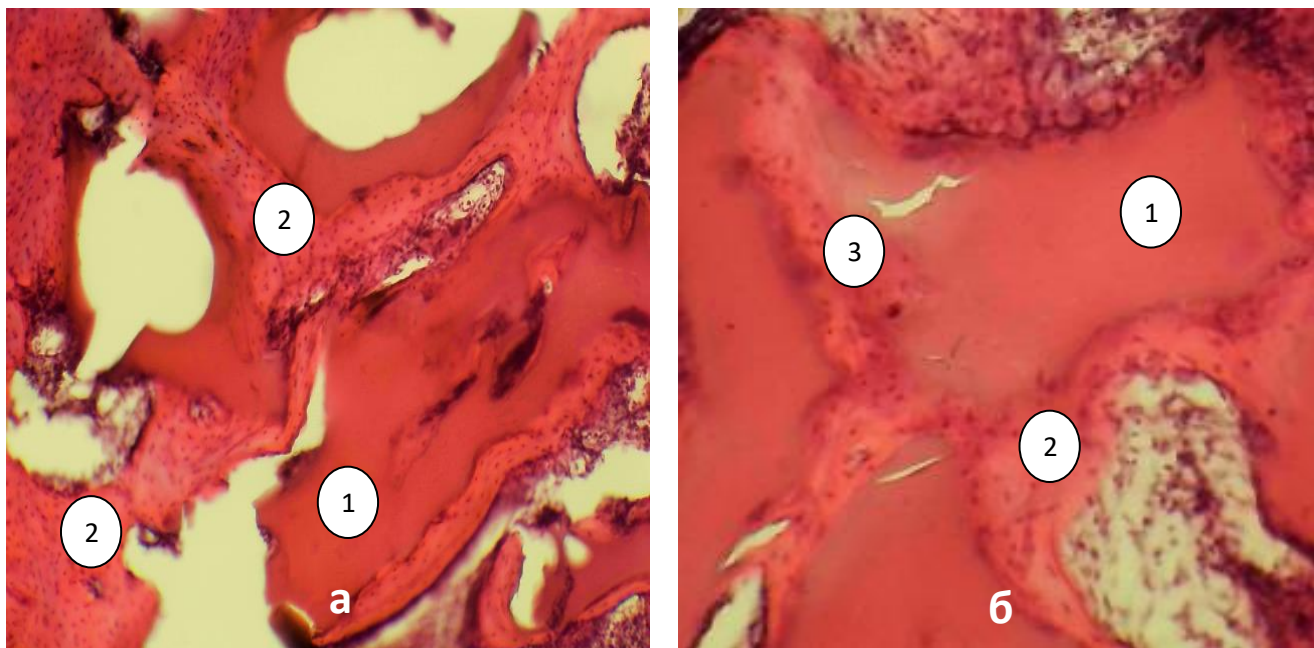
У дослідних групах у цей період відбувалася повна репарація кісткових дефектів, хоча із певними відмінностями. У 1-й дослідній групі (рис. 6.5) проміжки між гранулами заповнювалися кістковою тканиною та у їх порах знаходилася кісткова тканина з остеобластами, розташованими в один ряд. Водночас відмічали поодинокі вкраплення грубоволокнистої кісткової тканини. Новоутворена кісткова тканина, ймовірно, формувалася через остеіндукцію, оскільки кістковий регенерат виявлявся між гранулами композиту та не залежав від контакту з кісткою.



**Рис. 6.5. Гістоструктура кісткових регенератів дистальних метафізів стегнових кісток кролів на 42-у добу (1-а дослідна група): 1 – гранула матеріалу з чіткими краями; 2 – балки губчастої кісткової тканини; 3 – жирові клітини; Заб. гематоксилином і еозином, зб. x 100.**



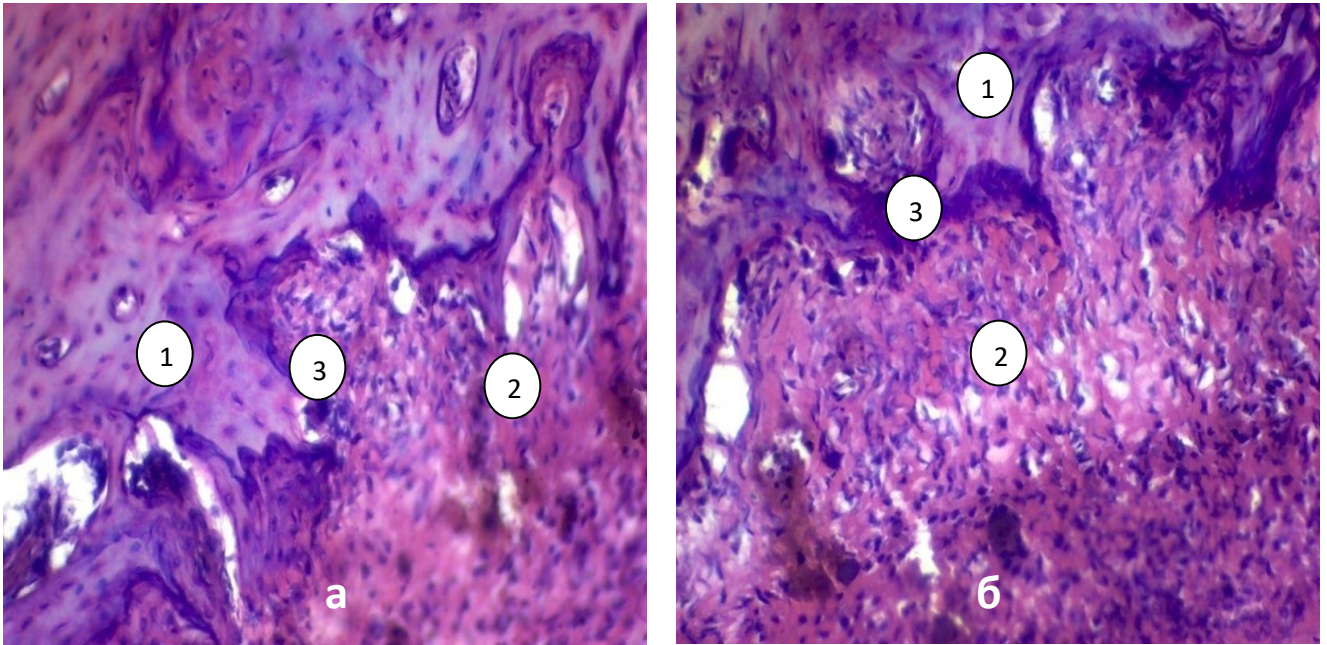
Водночас осередки кісткового регенерату з'являлися в різних місцях кісткового дефекту. Однак, навіть за щільного контакту кісткової тканини із гранулами, чітко видно її периметр. Водночас у 2-й дослідній групі (рис. 6.6) сформована кісткова тканина інтегрувалася із гранулами кераміки, що візуалізувалося нечіткими контурами матеріалу, а це свідчило про їх біорезорбцію.



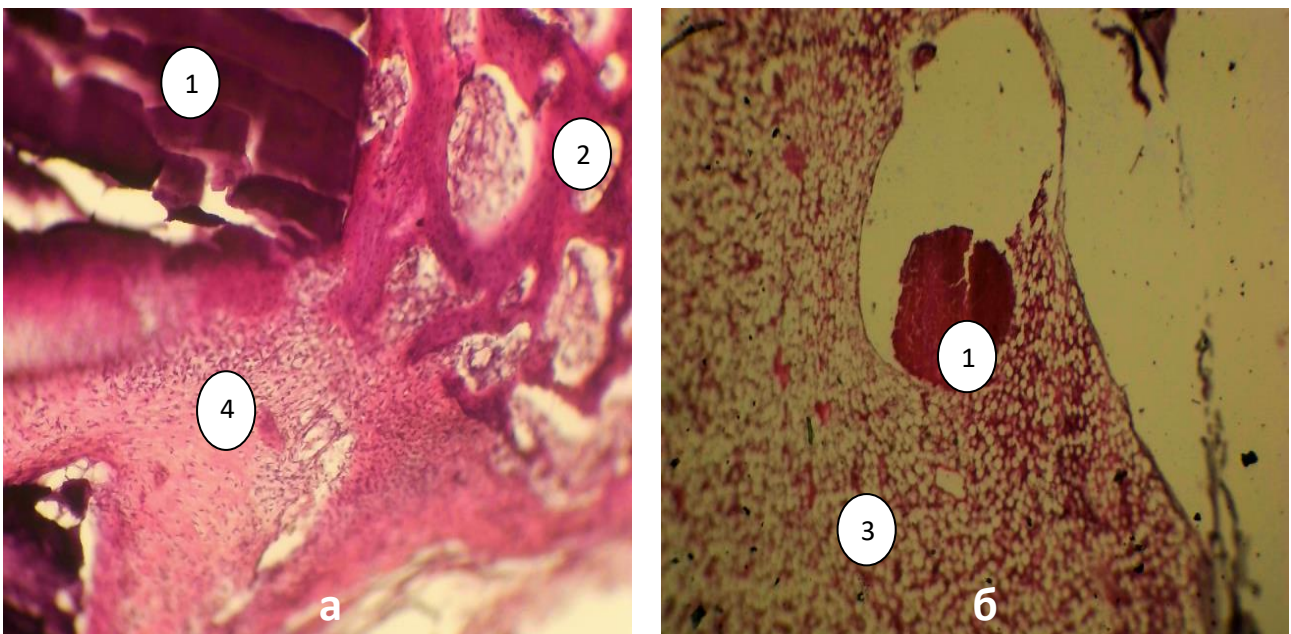
**Рис. 6.6. Гістоструктура кісткових регенератів дистальних метафізів стегнових кісток кролів на 42-у добу (2-а дослідна група): 1 – гранула матеріалу; 2 – балки губчастої кісткової тканини; 3 – зона інтеграції; Заб. гематоксилином і еозином, зб. х 100.**

Остеозаміщення різними за складом і фізико-хімічними властивостями кальцій-фосфатними кераміками у компактній кістковій тканині також мало певні особливості. У випадку природного загоєння їх дефектів на 21-у добу (рис. 6.7) у місці травми виявляли регенерат, представлений по периметру незрілими остеїдними балками, хондрійною структурою, а також пухкою і щільною волокнистою сполучною тканиною з вираженою запальною інфільтрацією. При цьому в його центральній частині була наявна волокниста сполучна тканина з вираженою проліферацією фібробластів та активним розвитком колагенових волокон, які заповнювали всю порожнину дефекту. Тобто за гістоморфологічними ознаками в цей період у контрольних тварин спостерігалася стадія фібринозно-хрящового мозоля, яка завдяки додатковій резорбції нетравмованої прилеглої частини кісткової тканини, виходила за межі сформованого кісткового дефекту.

На 21-у добу в 1-й дослідній групі (рис. 6.8) у кістковому дефекті з боку періосту реєстрували острівки гіалінового хряща, який заміщався грубоволокнистою кістковою тканиною, а з країв дефекту – формувалася губчаста кісткова тканина. Гранули кераміки розміщувались у кістково-мозковому каналі та мали помірний контакт з ендоостальним остеїдом.



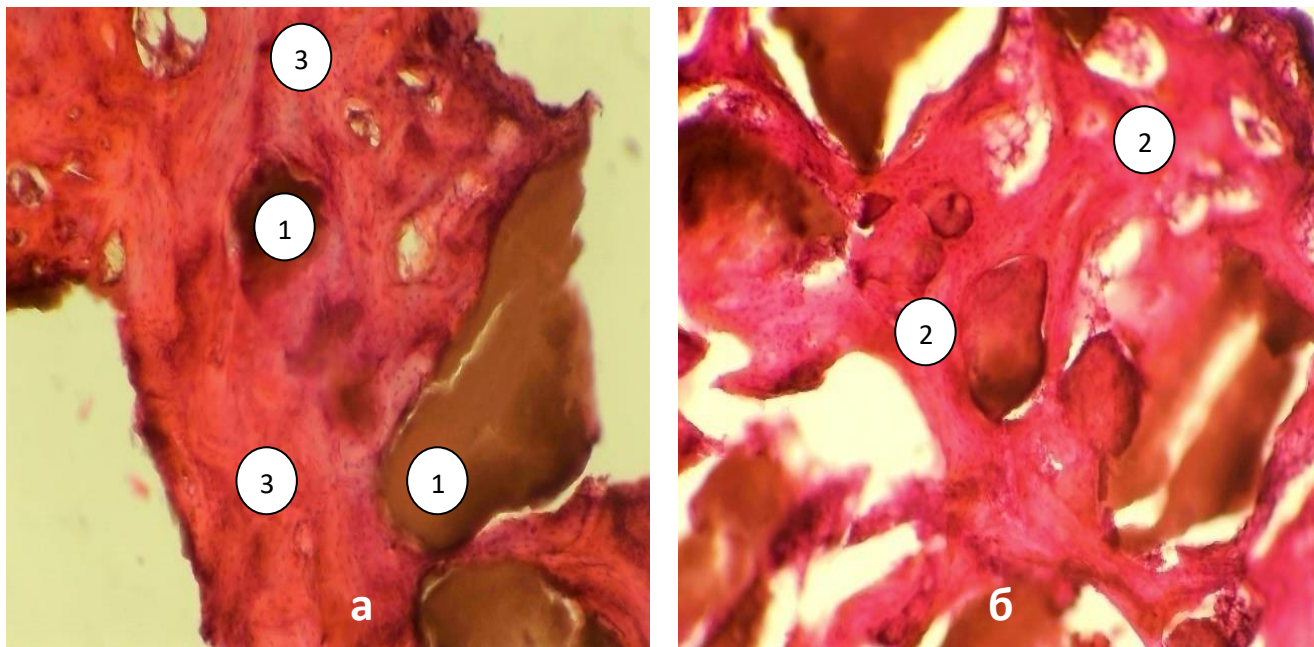
**Рис. 6.7. Гістоструктура кісткових регенератів діафізів променевих кісток кролів на 21-у добу (контрольна група): 1 – незрілі остеїдні балки; 2 – щільноволокниста сполучна тканина із вираженою запальною інфільтрацією; 3 – демаркаційна лінія відмежування інтактної кістки із регенератом; Заб. гематоксиліном і еозином, зб. x 100.**



**Рис. 6.8. Гістоструктура кісткових регенератів діафізів променевих кісток кролів на 21-у добу (1-а дослідна група): 1 – гранула матеріалу; 2 – балки губчастої кісткової тканини; 3 – жирові клітини; 4 – гіаліновий хрящ; Заб. гематоксиліном і еозином, зб. x 100.**

Водночас у 2-й дослідній групі кістковий дефект від його країв (рис. 6.9) заповнювала новоутворена кісткова тканина, здебільшого представлена губчастою та меншою мірою грубоволокнистою кістковою структурою. При цьому в дефекті кісткові трабекули пластинчастої будови переважно мали щільний контакт із гранулами кальцій-фосфатної кераміки. На периферії грубоволокнистих кісткових трабекул виявляли ряди остеобластів, як свідчення потовщення кісткових балок

аж до формування компактної кісткової тканини. Фрагменти прилеглої материнської кісткової тканини мали ознаки посттравматичної перебудови, про що свідчило розширення судинних каналів і формування острівців новоутвореної кісткової тканини на поверхні кісткових трабекул. У міжтрабекулярних просторах губчастої кістки відмічали наявність червоного кісткового мозку. Тобто на 21-у добу в 2-й групі відмічали ознаки консолідації регенерату з материнською кістковою тканиною внутрішньої і зовнішньої поверхонь діяфіза, ділянки окостеніння молодої кісткової тканини, зрощення регенерату з краями кісткового дефекту та щільного контакту із регенератом гранул у стані біодеградації.



**Рис. 6.9. Гістоструктура кісткових регенератів діяфізів променевих кісток кролів на 21-у добу (2-а дослідна група): 1 – інтегрована гранула; 2 – балки губчастої кісткової тканини; 3 – компактна кісткова тканина; Заб. гематоксиліном і еозином, зб: а – х 100; б – х 200.**

В наступний термін дослідження, на 42-у добу, в контрольній групі (рис. 6.10) відмітили виражені ендоостальний і періостальний остеогенез у вигляді масивних розростань грубоволокнистої і губчастої кісткової тканини із заповненням кістково-мозкового каналу та розростаннями із сторони періосту, які нашаровувалися на материнську кісткову тканину. Проте кістковий регенерат не мав щільного контакту із материнською кістковою тканиною. Розростання з боку періосту поширювалися поверх інтактної кістки до периметра дефекта, не заповнюючи його. Кістково-мозковий канал був повністю заповненим регенератом через ендоостальний остеогенез, але із слабким контактом між материнською кісткою, що свідчило про відсутність сформованої компактної пластинки у місці дефекту. Натомість у порожнинах між балками відмічали сформований червоний кістковий мозок, а кістковий канал був заповнений переважно сполучною тканиною, що контактувала з інтактною кісткою. Зовнішня частина регенерату представлена також волокнистими структурами сполучної тканини із хаотично сформованими капілярами та судинними каналами.

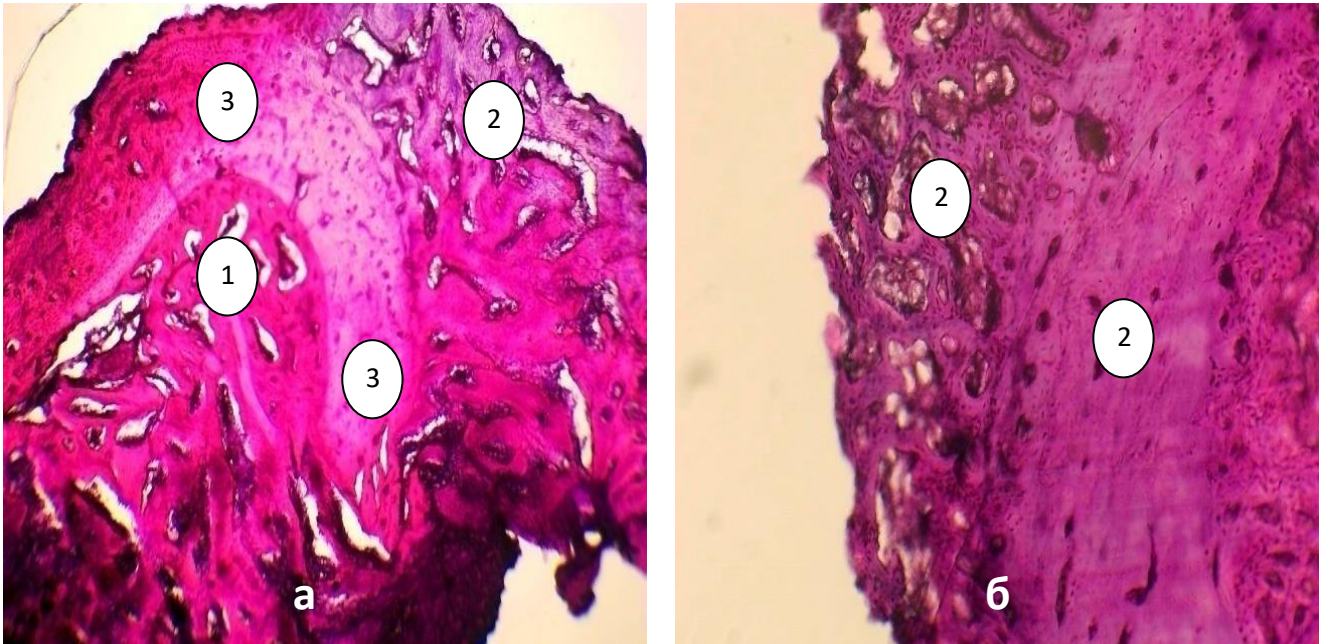


Рис. 6.10. Гістоструктура кісткових регенератів діяфізів променевих кісток кролів на 42-у добу (контрольна група): 1 – заповнений кістково-мозковий канал регенератом; 2 – балки губчастої кісткової тканини; 3 – інтактна компактна кісткова тканина; Заб. гематоксиліном і еозином, зб. x 100.

На 42-у добу в 1-й дослідній групі (рис. 6.11) гістоморфологічна картина регенерату характеризувалася з боку інтактної кістки компактною кістковою тканиною, а від дефекту – губчастою із слабо розвинутими балками. Розростань із боку періосту не відмічали. Натомість гранули композитного матеріалу знаходились у кістково-мозковому каналі у вигляді однієї сполученої гранули із численними тріщинами. Щільного контакту її із тканинами не спостерігали, що є наслідком невисокої адсорбційної активності цього типу керамічного матеріалу.

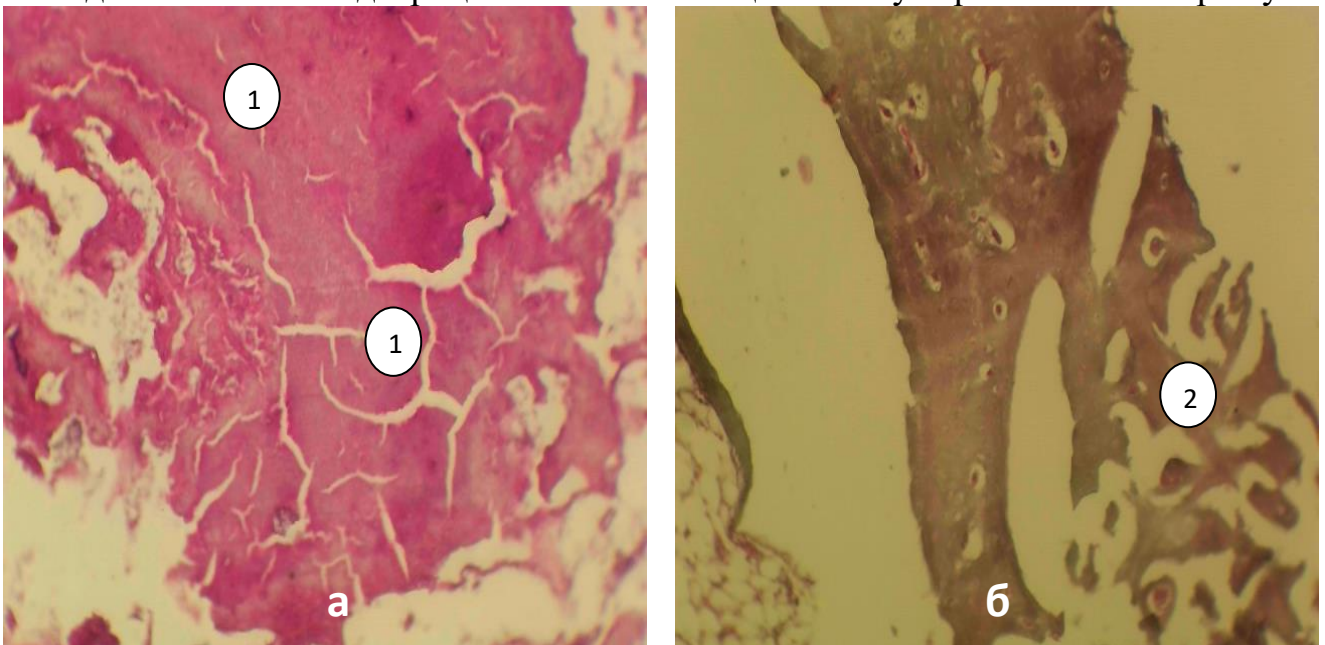
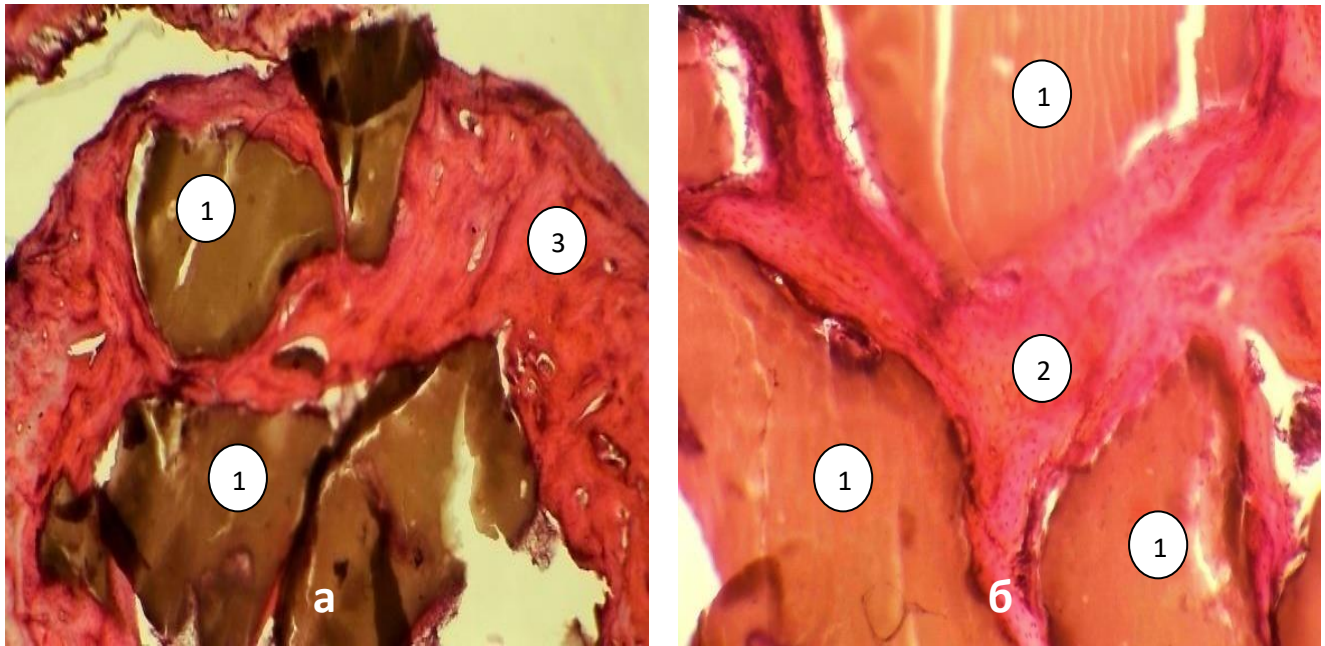


Рис. 6.11. Гістоструктура кісткових регенератів діяфізів променевих кісток кролів на 42-у добу (1-а дослідна група): 1 – гранула матеріалу з чіткими краями без контакту з регенератом та із значними тріщинами; 2 – балки губчастої кісткової тканини; Заб. гематоксиліном і еозином, зб. x 100.

Натомість в 2-й дослідній групі (ГТЛКг-700) у ділянці кісткового дефекту відмічали (рис. 6.12) частково губчасту, але переважно більшістю компактною кістковою тканиною.



**Рис. 6.12. Гістоструктура кісткових регенератів діафізів променевих кісток кролів на 42-у добу (2-а дослідна група): 1 – інтегрована гранула; 2 – балки губчастої кісткової тканини; 3 – компактна кісткова тканина; Заб. гематоксиліном і еозином, зб. х 100.**

Периферія гранул кераміки у біодеградованому вигляді мала щільний контакт із сформованою кістковою тканиною. При цьому трабекули компактного типу були оформлені у остеїдні конструкції, представлені рівномірними концентричними лініями з'єднання структур органічного матриксу з розташованими поміж них численними остеоцитами. Їх ядра були розширені. У кістково-мозковому каналі розміщувалася переважно жирова тканина, серед якої візуалізувалися осередки червоного кісткового мозку.

Гранули імпланта у невеликій кількості знаходились у центральному кістковому каналі, щільно контактуючи з кістковими трабекулами ендосту. Частина біодеградованих гранул контактувала із червоним кістковим мозком і жировими клітинами.

## 6.2. Osteoamщення леговоною кремнієм кальцій-фосфатною керамікою за осколкових переломів у собак

Таблиця 6.1

### Клінічні критерії динаміки консолідації переломів довгих трубчастих кісток у собак

Клінічні критерії	Групи тварин	
	контрольна (n=7), доба	дослідна (n=7), доба
зникнення набряку тканин	7,4±0,2 (7–9)	5,4±0,2*** (5–6)
початок опирання на травмовану кінцівку	13,2±0,4 (12–15)	8,2±0,2*** (8–9)
повне відновлення функції кінцівки	39,5±0,4 (38–42)	26±0,3*** (25–27)
консолідація перелому	60±0,1 (58–60)	41 ±0,3*** (40–42)

**Примітки:** 1) контрольна група, остеосинтез без остеоамщення; дослідна група, остеосинтез із остеоамщенням кісткових дефектів ГТлКг-3; 2) значення р: \* – <0,05; \*\* – <0,01; \*\*\* – <0,001, порівняно з контрольною групою.

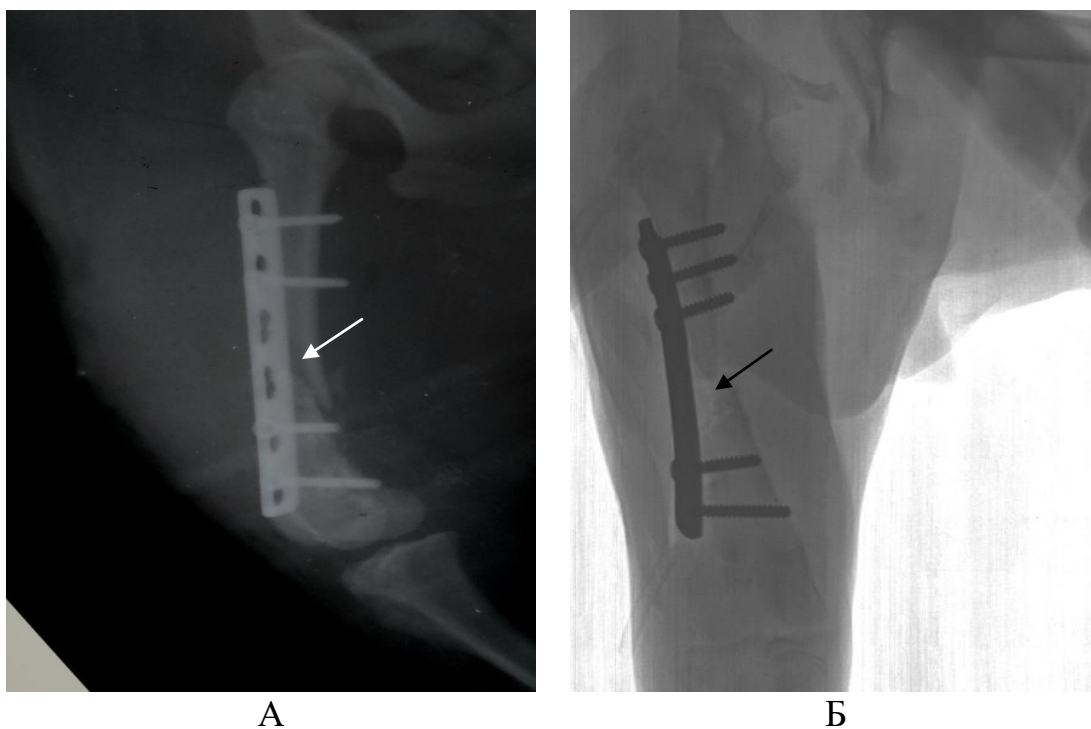


Рис. 6.13. Рентгенограми стегнової кістки собаки після остеосинтезу:

А – контрольна група (стрілкою вказано кістковий дефект);  
 Б – дослідна група (стрілкою вказано імплант ГТлКг-3).

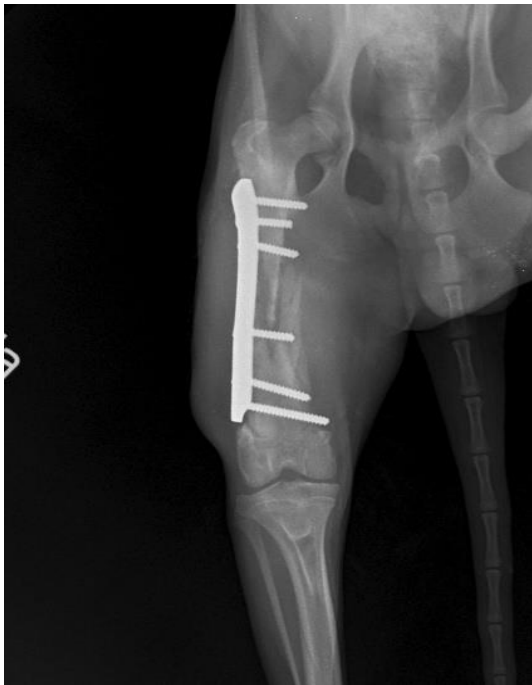


А



Б

**Рис. 6.14. Рентгенограми стегнової кістки собаки на 12-у добу після остеосинтезу: А – контрольна група без імплантації композитного матеріалу; Б – дослідна група з імплантацією ГТлКГ-3.**

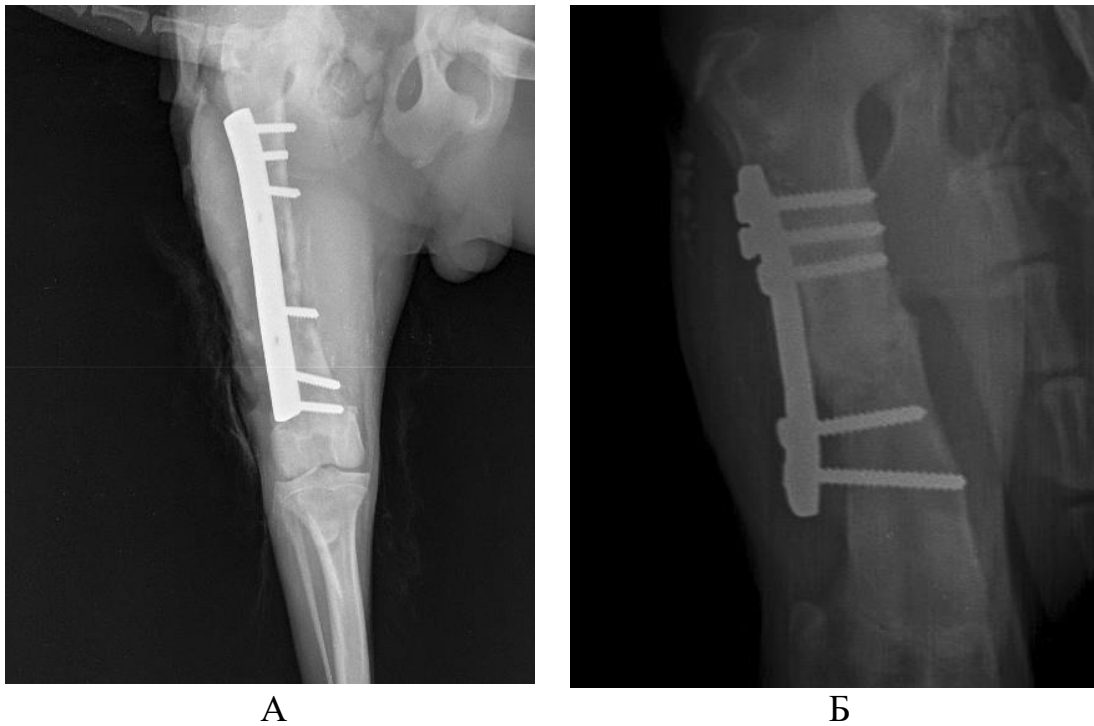


А

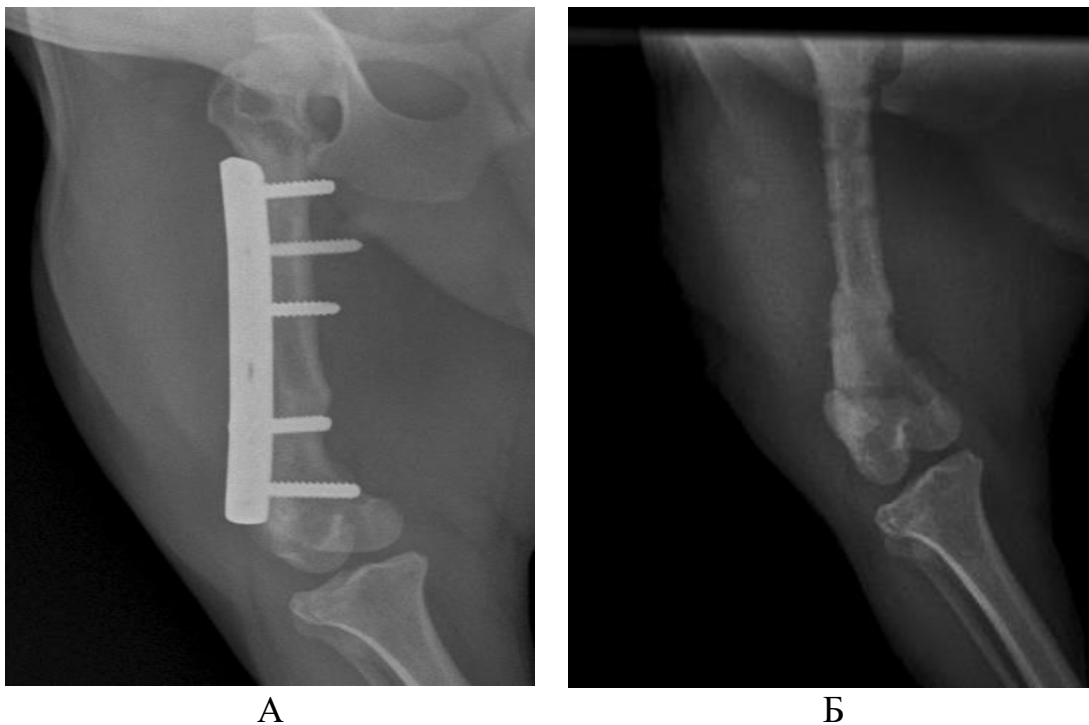


Б

**Рис. 6.15 Рентгенограми стегнової кістки собаки на 21-у добу після остеосинтезу: А – контрольна група без імплантації композитного матеріалу; Б – дослідна група з імплантацією ГТлКГ-3.**



**Рис. 6.16. Рентгенограми стегнової кістки собаки на 42-у добу після остеосинтезу: А – контрольна група без імплантації композитного матеріалу; Б – дослідна група з імплантацією ГТЛКГ-3.**



**Рис. 6.17. Рентгенограми стегнової кістки собаки на 60-у добу після остеосинтезу контрольної групи.**





Рис. 6.18. Рентгенограма стегнової кістки собаки на 60-у добу після зняття пластини дослідної групи.

Таблиця 6.2

Динаміка гематологічних показників за репаративного остеогенезу

Терміни дослідження, доба	Показники		Еритроцити, Т/л (5–8,5)	Гемоглобін, г/л (110–170)	Лейкоцити, Г/л (8,5–10,5)	Тромбоцити, Г/л (250–550)
	є клінічно здорові (n=10)		5,7±0,08	136,4±1,3	8,5±0,2	298±15,8
	після травми (n=14)		4,7±0,16	126,4±4,0	11,4±0,8	287,3±15,3
3-я	Групи	I	<u>4,2±0,19</u>	<u>112,5±4,8</u>	<u>10,5±0,6</u>	<u>277,4±20,8</u>
		II	4,5±0,31	126,9±3,3*	13,4±0,6**	317,2±20,3
12-а	Групи	I	<u>4,3±0,21</u>	<u>124,2±5,1</u>	<u>11,6±0,4</u>	<u>231,2±9,6</u>
		II	5,1±0,11**	132,7±6,1	11,4±0,7	271,2±9,1*
21-а	Групи	I	<u>4,6±0,11</u>	<u>123,5±1,2</u>	<u>10,2±0,4</u>	<u>272,4±14,7</u>
		II	4,7±0,11	128,6±2,8	10,1±0,6	268,1±5,5
42-а	Групи	I	4,7±0,11	<u>136,5±1,9</u>	<u>11,5±0,5</u>	<u>291,5±16,6</u>
		II	5,2±0,08**	153,2±3,9**	9,7±0,2**	293,8±5,4
60-а	Групи	I	4,9±0,08	<u>144,5±4,0</u>	<u>9,4±0,2</u>	<u>259,7±9,4</u>
		II	5,5±0,11***	136,4±7,5	10,1±0,4*	260,7±5,5

**Примітки:** 1) I – контрольна (n=7), II – дослідна (n=7) групи; 2) значення p: \* – <0,05; \*\* – <0,01; \*\*\* – <0,001, порівняно з показниками дослідної і контрольної груп.

Осколкові переломи довгих трубчастих кісток у собак супроводжуються тривалою, протягом всього репаративного процесу еритроцитопенією, помірним зменшенням кількості гемоглобіну та лейкоцитозом, які досить динамічно усуваються за остеозаміщення керамікою, легованою кремнієм.

Досить показовою виявилася динаміка Ca : P коефіцієнта (рис. 6.19). У клінічно здорових Ca : P індекс становив 1,9 : 1, який зменшувався до 1,8 : 1 за виникнення осколкового перелому. У контрольній групі, починаючи з 12-ї доби відмічали зниження цього коефіцієнта до 1,6 : 1 з досягненням мінімального значення на 21-у добу – 1,4 : 1. В наступному лише з 42-ої доби спостерігали помірне його збільшення до 1,7 : 1 на 60-у добу. Тобто Ca : P коефіцієнт у контрольній групі не відновився до рівня клінічно здорових собак. Водночас використання гідроксиапатиту з  $\beta$ -трикальційфосфатом, легованого кремнієм, Ca : P співвідношення в період 12–21-ої доби не зменшувалося нижче 1,7 : 1, а вже з 42-ої доби досягло показника клінічно здорових собак. Тобто Ca : P співвідношення досить очевидно засвідчує надзвичайно виражений і тривалий процес остеорезорбції за відсутності остеозаміщення переломів з кістковими дефектами, оскільки у їх ділянці одночасно виникають вогнища і запально-резорбтивні, і ремоделювання і мінералізації, що спричинено відсутністю контакту між проксимальними та дистальними уламками кістки.

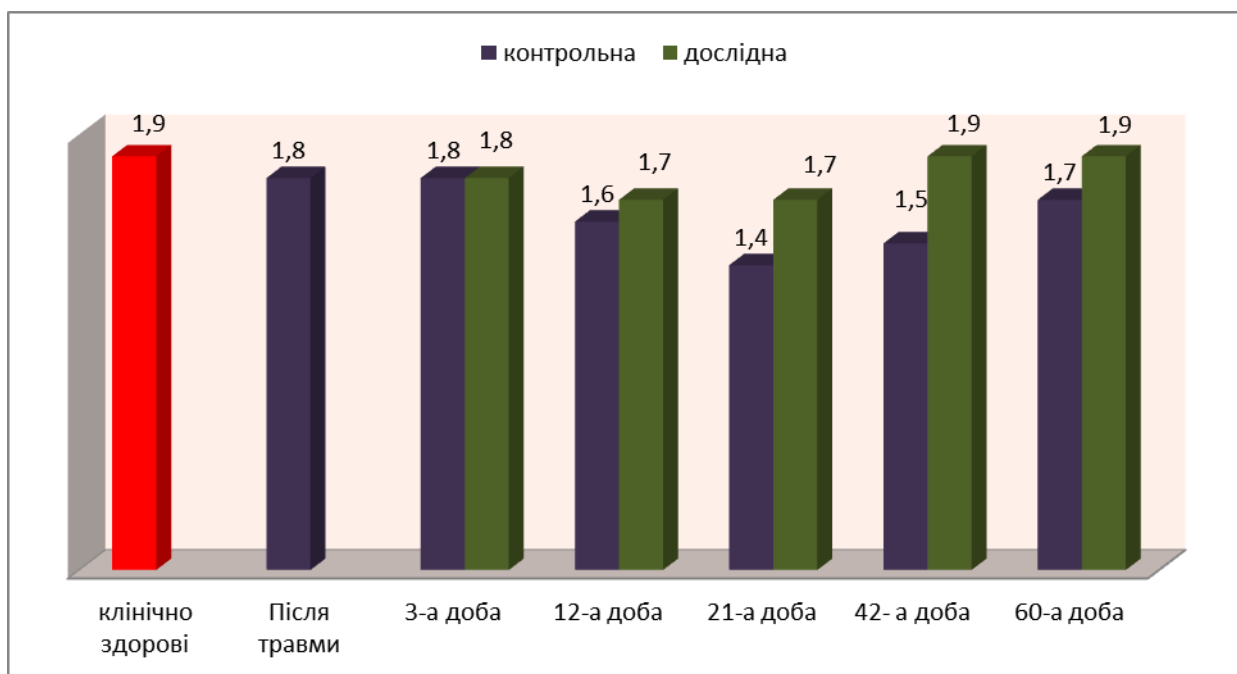


Рис. 6.19. Динаміка кальцій-фосфорного співвідношення за репаративного остеогенезу осколкових переломів у собак.

Аналіз цитокинової реакції у вигляді їх кількісного показника та співвідношення прозапального і протизапального інтерлейкінів, TGF- $\beta$  засвідчив протизапальний цитокиновий профіль у клінічно здорових собак, який виявився однаковим із відомими даними [86]. Проте за умови виникнення кісткової травми він набуває прозапального прояву, що активізує остеокласти, чим індукує

резорбування кісткової тканини. Водночас за репаративного остеогенезу після остеосинтезу осколкових переломів довгих трубчастих кісток у контрольній групі із об'ємними кістковими дефектами прозапальна цитокінемія набуває перманентного прояву з піком на 42-у добу, а це свідчить про гальмування метаплазії хрящового регенерату в кістковий, що уповільнює консолідацію перелому.

Таблиця 6.3

**Динаміка цитокінового статусу та TGF- $\beta$  у собак  
за репаративного остеогенезу**

Терміни дослідження, доба	Групи тварин	IL-1 $\beta$ , ум.од./мл	IL-10, ум.од./мл	TGF- $\beta$ , ум.од./мл
	клінічно здорові (n=10)	2,9 $\pm$ 0,02	4,3 $\pm$ 0,01	3,6 $\pm$ 0,09
	після травми (n=14)	3,5 $\pm$ 0,01 <sup>***</sup>	3,2 $\pm$ 0,17 <sup>***</sup>	4,3 $\pm$ 0,32 <sup>**</sup>
3-я	I II	<u>2,8<math>\pm</math>0,02</u>	<u>2,5<math>\pm</math>0,03</u>	<u>2,9<math>\pm</math>0,01<sup>+</sup></u>
		3,9 $\pm$ 0,07 <sup>+++</sup>	3,5 $\pm$ 0,02 <sup>++</sup>	2,8 $\pm$ 0,06
12-а	I II	<u>4,4<math>\pm</math>0,15</u>	<u>3,3<math>\pm</math>0,16</u>	<u>6,5<math>\pm</math>0,21<sup>+</sup></u>
		3,8 $\pm$ 0,25	3,1 $\pm$ 0,31	5,1 $\pm$ 0,32
21-а	I II	<u>4,3<math>\pm</math>0,06</u>	<u>5,1<math>\pm</math>0,13</u>	<u>4,4<math>\pm</math>0,13</u>
		3,2 $\pm$ 0,01 <sup>+++</sup>	4,4 $\pm$ 0,16 <sup>++</sup>	5,6 $\pm$ 0,17 <sup>++</sup>
42-а	I II	<u>5,2<math>\pm</math>0,02</u>	<u>4,3<math>\pm</math>0,07</u>	<u>11,1<math>\pm</math>0,28<sup>++</sup></u>
		3,5 $\pm$ 0,10 <sup>+++</sup>	3,1 $\pm$ 0,03 <sup>+++</sup>	8,2 $\pm$ 0,57
60-а	I II	<u>4,1<math>\pm</math>0,02</u>	<u>4,4<math>\pm</math>0,21</u>	<u>6,2<math>\pm</math>0,54</u>
		3,5 $\pm$ 0,05 <sup>+++</sup>	3,4 $\pm$ 0,11 <sup>++</sup>	5,3 $\pm$ 0,44

**Примітки:** 1) I – контрольна (n=4), II – дослідна (n=4) групи; 2) значення p: \* – <0,05; \*\* – <0,01; \*\*\* – <0,001, порівняно з показниками клінічно здорових тварин; 3) значення p: + – <0,05; ++ – p<0,01; +++ – <0,001, порівняно з показниками дослідної і контрольної груп.

Водночас у дослідній групі рівень прозапальної цитокінемії за використання гідроксиапатиту з  $\beta$ -трикальційфосфатом, легованого кремнієм, достовірно менший і триває протягом перших 12-и діб, тобто у період запально-резорбтивної стадії. Однак, головним у розумінні ефективності остеозаміщення ГТлКг-3 виявилася динаміка трансформуючого фактора росту –  $\beta$ , яка засвідчила двофазну його гіперреактивність у контрольних тварин, оскільки цей фактор росту за надмірної кількості блокує кісткові морфогенетичні білки і стимулює хондрогенез [87], чого не спостерігали під час остеозаміщення.

Отже, доведено, що використання кальцій-фосфатної кераміки, легової кремнієм, оптимізує репаративний остеогенез через помірну і контрольовану прозапальну цитокінемію та урівноважену продукцію факторів росту.

## 7. КЛІНІКО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ОСТЕОЗАМІЩЕННЯ ЛЕГОВАНОЮ ГЕРМАНІЄМ КАЛЬЦІЙ- ФОСФАТНОЮ КЕРАМІКОЮ

### 7.1. Рентгенологічна картина кісткової патології у собак



Рис. 7.1. Діафізарний перелом у собаки: а – передпліччя, б – плечової кістки.

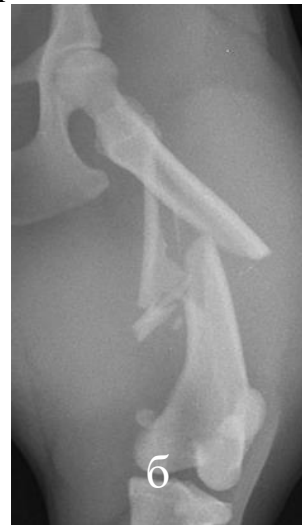


Рис. 7.2. Діафізарний осколковий перелом: а – кісток гомілки; б – стегнової кістки.



Рис. 7.3. Перелом діафіза стегнової кістки за системного остеопорозу



Рис. 7.4 Остеосаркома проксимального епіфіза

## 7.2. Рентгено- та макроморфологічна оцінка репаративного остеогенезу за імплантації гідроксиапатитного композиту, легованого германієм

(Тодосюк Т.П. Рентгено- та макроморфологічна оцінка репаративного остеогенезу за імплантації гідроксиапатитного композиту, легованого германієм. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 2. С. 183–194. doi:10.33245/2310-4902-2020-160-2-183-194)

Дослідження проводили на базі кафедри хірургії та хвороб дрібних домашніх тварин Білоцерківського національного аграрного університету згідно із законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 28.03.2006 р. правилами Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях від 13.11.1987 р., та Наказом МОН № 416/20729 від 16 березня 2012 р. «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах». Проект виконання представлених досліджень схвалено Етичним комітетом БНАУ, протокол № 1 від 23 січня 2019 року.

Клінічно здорових кролів породи Каліфорнійський білий, віком 3 міс., масою тіла 2,5 кг утримували в умовах віварію Білоцерківського НАУ. Тварини знаходились в індивідуальних клітках у кімнаті з примусовою вентиляцією, комбінованим освітленням і щоденним прибиранням. Годівлю забезпечували спеціалізованим комбікормом для кролів із розрахунку 200 г на одну голову за добу з вільним доступом до води.

Було сформовано дослідну (n=12) та контрольну (n=12) групи тварин. За оперативного втручання застосовували наступне анестезіологічне забезпечення: 2 % розчин ацепромазину внутрішньом'язово (0,5–1,0 мг/кг), внутрішньовенно – розчин тіопенату із розрахунку 5–8 мг/кг та інфільтраційну анестезію по місцю розрізу 0,5 % розчином лідокаїну (3–4 мг/кг).

Моделльні дефекти формували з латеральної поверхні дистальної ділянки метафіза стегнової кістки (губчаста кісткова тканина) та дорсолатеральної поверхні в ділянці діафіза променевої кістки (компактна кісткова тканина). Оперативний доступ проводили з дотриманням правил асептики та антисептики. Після розтину окістя формували дірчасті кісткові дефекти свердлом діаметром 3 та 4,2 мм на променевій та стегновій кістках, відповідно. У тварин дослідної групи дефекти заміщували гранулами гідроксиапатитної кераміки, синтезованої на основі гідроксиапатиту і  $\beta$ -трикальційфосфату і легованої германієм, а контрольної – гранулами нелегованої кераміки (рис. 7.5). На рани м'яких тканин накладали вузлові шви із синтетичного шовного матеріалу поліпропілену.

Тваринам щоденно у післяопераційний період проводили загальне клінічне дослідження та візуальну оцінку ранового процесу. Загоєння ран відбувалося за первинним натягом, тому шви знімали на 7 добу.

Тварин виводили з дослідження через внутрішньовенне введення тіопенату в дозі 50 мг/кг (тіопентал натрію, ООО Бровафарма, Україна).

Рентгенологічні дослідження проводили на рентгенапараті РУМ-20, отримані рентгензнімки відцифровували на електронний носій AGFA HEALTHCARE N.V. CR 10-X (Germany).



**Рис. 7.5. Техніка заповнення гідроксиапатитною керамікою модельних кісткових дефектів у кролів.**

**Результати дослідження.** Наступної доби після проведення оперативного втручання порушень функції травмованої кінцівки не спостерігали. На момент клінічного дослідження відмічали певне підвищення місцевої температури та незначний набряк тканин, що свідчило про розвиток запальної реакції. З рани у невеликій кількості виділявся серозний ексудат. На 3-ю добу післяопераційного періоду ексудація припинялася, місцева температура була в межах норми. На 7-у добу набряк тканин та больова реакція були відсутні, а краї рани – міцно з'єднані сполучнотканинною спайкою. Також відмічали відшарування струпа від країв рани, їх епітелізацію, що було підставою для зняття швів.

На 14-у добу репаративного остеогенезу тварини обох груп повноцінно опиралися на травмовану кінцівку. За пальпації ділянки дефекту виявляли не болюче ущільнення періосту, яке повністю зникало у тварин дослідної групи до 30-ї доби. У контрольних кролів на 14-у добу відмічали більш виражене ущільнення тканин як у ділянці діафіза променевої, так і метафіза стегнової кістки, яке пальпаторно верифікувалося до 30-ї доби, а зникало повністю лише до 60-ї доби дослідження.

За результатами рентгенологічного дослідження на 14-у добу (рис. 7.6 а, б) в дослідних тварин, у яких застосовували гідроксиапатит, легований германієм (ГТ+Ge), візуалізуються гранули кераміки більш виражено у губчастій кістці, періостальна реакція помірна, чітко обмежена навколо дефекту. Місця травм у променевій та стегновій кістках характеризуються дещо підвищеною рентгенологічною щільністю, з явищами періостального остеосклерозу у випадках заміщення дефектів губчастої кістки, що свідчить про прискорений перебіг репаративного остеогенезу.

У кролів контрольної групи (ГТ) навколо місця дефекту як у компактній, так і губчастій кістковій тканині відмічали масивну хмароподібну тінь, яка значно поширювалася на периферію від місця травми, що свідчить про надмірну запальну реакцію і, як наслідок, формування масивного хрящово-кісткового мозоля (рис. 7.6 с, d). При чому за дефектів компактної кістки більш вираженою була реакція періосту та дещо меншою – ендосту, тимчасом за ідентичної травми губчастої – характерною виявилася досить масивна ендостальна проліферація метаепіфізарної ділянки.

На 30-у добу після формування модельного дефекту рентгенологічно у дослідній групі періостальна реакція була ледь помітною з підвищеною рентгенологічною щільністю, як ознака остеїдної тканини (рис. 7.6 е, f). При-

чому за репарації дефектів губчастої кістки спостерігалася обмежена остеосклеротична реакція ендоосту з дорсальної поверхні метаепіфізарної ділянки стегнової кістки. Композитний матеріал втрачав свою структурованість і щільність та мав лише близько половини свого попереднього об'єму, що свідчить про його резорбцію.

Водночас на рентгенограмах контрольних тварин, яким застосовували гідроксиапатит з  $\beta$ -трикальційфосфатом, після травми компактної кістки проксимально і дистально від її місця виявляли потовщений і ущільнений періост з контрастуючим композитним матеріалом (рис. 7.6 g, h). Тимчасом у губчастій кістці ледь помітною була періостальна реакція, але добре виражена з явищами остеосклерозу – ендоостальна, з дещо більшим об'ємом композитного матеріалу, ніж у дослідній групі.

На 60-у добу в обох групах рентгенограми мали подібні характеристики з підвищеною рентгенологічною щільністю місць дефектів (рис. 7.6 i, j). У тварин обох груп у ділянках променевих кісток ще візуалізувалися залишки композитного матеріалу, а у дослідних посилилася ендоостальна реакція з протилежного боку від нього, що, ймовірно, є ознакою ремоделювання кісткової тканини.

У губчастій кістці в обох випадках зменшилися об'єми композитного матеріалу, а у дослідних тварин кістковомозковий канал у зоні метафіза набував близької до норми рентгенощільності, тобто – низької. Проте у контрольних тварин вона ще залишилася підвищеною, що свідчило про інтенсивну проліферацію (рис. 7.6 k, l).

На рентгензнімках тварин першої і другої груп на 90-у добу місця травм променевих кісток мали підвищену рентгенологічну щільність за відсутності реакції періосту (рис. 7.6 m–p).

Залишки композитного матеріалу були менші у дослідних тварин. Проте діафізи ліктьових кісток в обох випадках мали шорсткий вигляд, у стані плямистого остеопорозу, що свідчить про реактивне ремоделювання цих ділянок кісткової тканини.

Подібні рентгенологічні зміни виявлені в цей період і у губчастій кістковій тканині, причому зона проліферації в контрольних тварин захоплювала всю ділянку метафіза, яка у дослідних на межі епіфізарної пластинки була в стані остеосклерозу.











	Променева (компактна) кістка	Стегнова (губчаста) кістка	
14 доба	ГТ+Ge (дослід)	 a	 b
	ГТ (контроль)	 c	 d
30 доба	ГТ+Ge (дослід)	 e	 f
	ГТ (контроль)	 g	 h
60 доба	ГТ+Ge (дослід)	 i	 j

Рис. 7.6. Рентгенограми діафіза променевих та метафіза стегнових кісток кролів за модельних переломів у різні терміни репаративного остеогенезу (дослідна (ГТ+Ge) та контрольна (ГТ) групи).



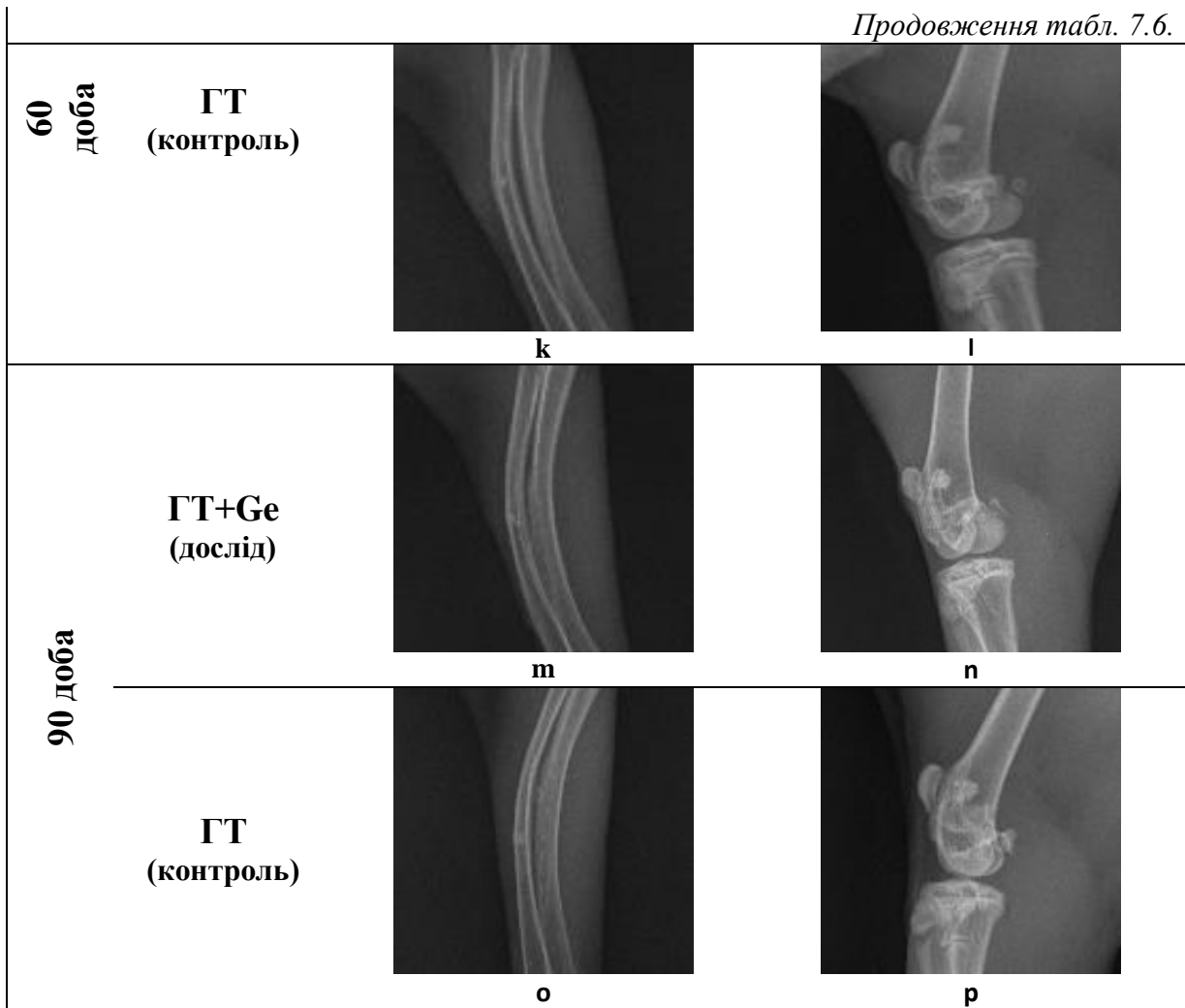






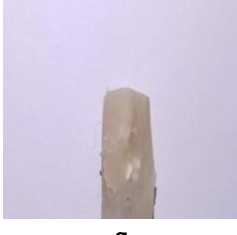


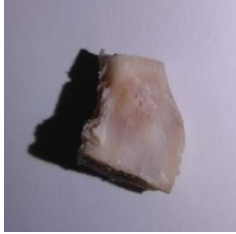




Рис. 7.6. (продовження) Рентгенограми діафіза променевих та метафіза стегнових кісток кролів за модельних переломів у різні терміни репаративного остеогенезу (дослідна (ГТ+Ge) та контрольна (ГТ) групи).

За макроморфологічного дослідження фрагментів променевих та стегнових кісток на 14-у добу репаративного остеогенезу виявили різні за конфігурацією та розміром формування раннього кісткового мозоля. У тварин дослідної (ГТ+Ge) групи він незначно виступав за межі поверхні кістки, що свідчить про помірну запальну реакцію.

У місці сформованого дефекту чітко візуалізували гранули гідроксиапатитної кераміки, оточені фіброзно-хрящовим регенератом (рис. 7.7 а, б). У контрольній групі відмічали значне розростання періосту за межі травмованої ділянки, проте місце дефекту не повністю було заміщене новоутвореною тканиною, про що свідчить кратероподібна форма кісткового мозоля (рис. 7.7 с, d).

		<b>Променева (компактна) кістка</b>	<b>Стегнова (губчаста) кістка</b>
<b>14 доба</b>	<b>ГТлGe (дослід)</b>		
	<b>ГТ (контроль)</b>		
<b>30 доба</b>	<b>ГТлGe (дослід)</b>		
	<b>ГТ (контроль)</b>		
<b>60 доба</b>	<b>ГТлGe (дослід)</b>		
	<b>ГТ (контроль)</b>		

**Рис. 7.7. Динаміка гематологічних показників у кролів за остеозаміщення гідроксиапатитною керамікою, легованою германієм, та в комплексі з активатором згортання крові.**

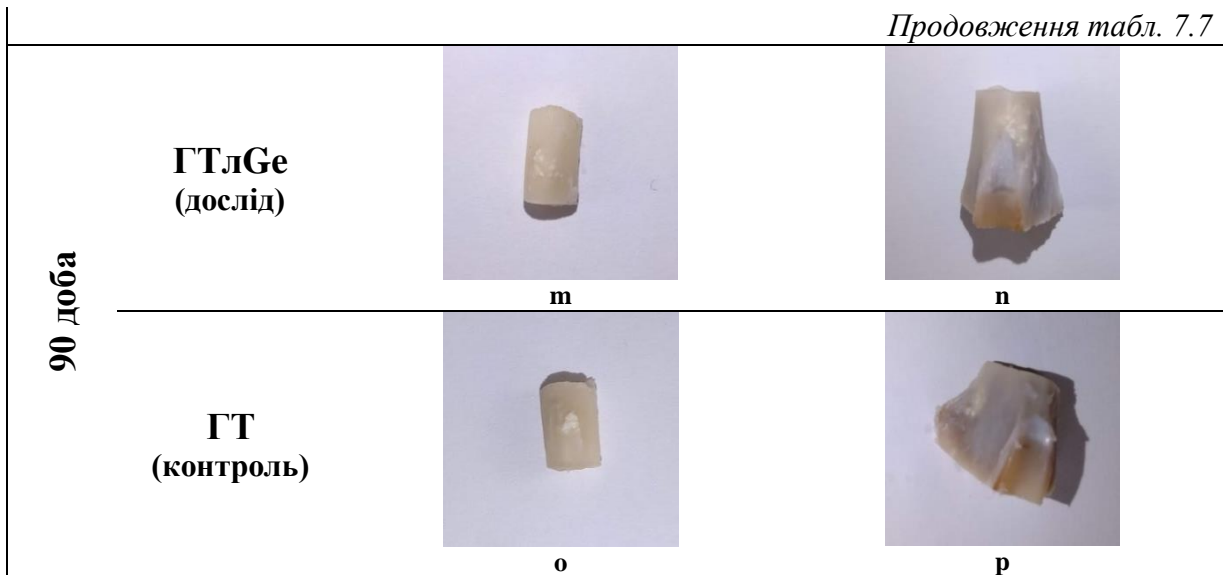


Рис. 7.7 (продовження). Динаміка гематологічних показників у кролів за остеозаміщення гідроксиапатитною керамікою, легованою германієм, та в комплексі з активатором згортання крові.

На 30-у добу репаративного остеогенезу макрокартина кісткових фрагментів дослідних кролів була наступною: кістковий дефект повністю заповнений новоутвореною тканиною, яка не виступала за межі поверхні кістки, та щільно вкритий періостом (рис. 7.7 e, f). У контрольній групі в ділянці травми виявили досить масивне розростання періосту, а місце дефекту заповнене тканиною з порівняно меншою щільністю (рис. 7.7 g, h).

На 60-у добу в дослідних тварин у місці сформованого дефекту відмічали міцне з'єднання гранул з кістковою тканиною без ознак періостальної реакції (рис. 7.7 i, j). У зразках контрольної групи, порівняно із попереднім терміном дослідження, все ще відмічали незначне потовщення періосту (рис. 7.7 k, l).

На 90-у добу у зразках кісткової тканини тварин обох груп місця дефекту були заповнені кістковим регенератом з ледь помітними залишками гранул гідроксиапатитної кераміки та щільно вкриті періостом (рис. 7.7 m–p).

**Висновок.** 1. Гідроксиапатитний композит, легований германієм є біосумісним матеріалом, має виражені остеоіндуктивні та остеоіндуктивні властивості, що проявляється рентгенологічно і макроморфологічно динамічними явищами остеоінтеграції та раннього ремоделювання кісткової тканини.

### 7.3. Динаміка гематологічних показників у кролів за остеозаміщення гідроксиапатитною керамікою, легованою германієм

(Todosiuk, T., Rublenko, M., & Vlasenko, V. (2021). Динаміка гематологічних показників у кролів за остеозаміщення гідроксиапатитною керамікою, легованою германієм, та в комплексі з активатором згортання крові. НВ ЛНУ ветеринарної медицини та біотехнологій. Серія: Ветеринарні науки, 23(102), 78-86. <https://doi.org/10.32718/nvlvet10212>)

У цій серії дослідів формували модельні дефекти у діафізі променевої та метафізі стегнової кісток у кролів свердлом діаметром 3 та 4,2 мм, відповідно. Анестезіологічне забезпечення включало ацепромазин, тіопенат та інфільтраційну анестезію лідокаїном. Тваринам дослідної групи (n=12) дефекти заміщували гранулами гідроксиапатитної кераміки, легової германієм (ГТлGe), а контрольної – гранулами нелегової кераміки (ГТ).

Кров для проведення гематологічних досліджень загальноприйнятими методами відбирали із зовнішньої яремної вени перед оперативним втручанням та на 7-у, 14-у, 30-у, 60-у, 90-у добу репаративного остеогенезу. В крові визначали вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів, тромбоцитів і лейкоцитів з виведенням лейкограми та аналізом якісно-кількісного складу лейкоцитів периферійної крові на підставі обчислення інтегральних гематологічних показників (ІП), які дозволяють виявити наявність та ступінь ендогенної інтоксикації, типи адаптаційних реакцій організму, перебіг і прогноз захворювання.

Обчислювали наступні інтегральні гематологічні індекси:

1) індекс зсуву лейкоцитів (ІЗЛ) – маркер реактивності організму за гострих запальних процесів, що не залежить від загального числа лейкоцитів периферичної крові:  $ІЗЛ = \frac{Б + Е + Н}{Л + М}$ ,

де Б – базофіли, Е – еозинофіли, Н – нейтрофіли, Л – лімфоцити, М – моноцити;

2) лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ) – показник процесів тканинної деградації та рівня ендотоксикозу:  $ЛІІ = \frac{Н}{Л + Е + М}$ ,

де Н – нейтрофіли, Л – лімфоцити, Е – еозинофіли, М – моноцити;

3) ядерний індекс інтоксикації (ЯІІ) – показник, що відповідає за вираженість запального процесу та ефективність лікування:  $ЯІІ = \frac{М + Ю + П}{С}$ ,

де М – моноцити, Ю – юні, П – паличкоядерні нейтрофіли, С – сегментоядерні нейтрофіли.

**Результати дослідження.** Загалом, встановлено дещо подібну динаміку гематологічних показників (табл. 7.1).

На 7-у добу як у дослідних, так і контрольних тварин спостерігалася незначна посттравматична еритроцитопенія, яка поступово зникла до 14-ої доби. Також у цей період була характерна олігохромемія з подальшою тенденцією до збільшення кількості гемоглобіну в межах фізіологічної норми.

Заразом досить суттєві зміни встановлено щодо кількості лейкоцитів і тромбоцитів у периферичній крові. Зокрема, на 7-у добу спостерігалася поступове збільшення вмісту в крові кількості лейкоцитів як у дослідній, так і контрольній групах, хоча і в межах фізіологічної норми. Її пік припадав на 14-у добу і становив

у дослідній групі, де використовували кераміку, леговану германієм –  $9,6 \pm 0,18$  Г/л. Тимчасом в контрольній він був наявний і на 30-у добу репаративного остеогенезу. Загалом, підвищення кількості лейкоцитів та їх пікові значення відбувалися в межах фізіологічної норми і лише наближалися до її верхньої межі.

За аналізу кількості тромбоцитів відмічали виражений тромбоцитоз протягом перших 14-и діб. Зокрема, на 7-у добу реєстрували підвищення вмісту в крові тромбоцитів у дослідній групі в 1,3 раза ( $p < 0,001$ ) та в 1,2 раза ( $p < 0,001$ ) – у контрольній. Її пік в обох групах встановлено на 14-у добу, проте в дослідній групі спостерігали збільшення рівня тромбоцитів у 1,8 раза ( $p < 0,001$ ), а в контрольній – у 1,6 раза, порівняно із їх рівнем до операції. Надалі на 30 добу він нормалізувався.

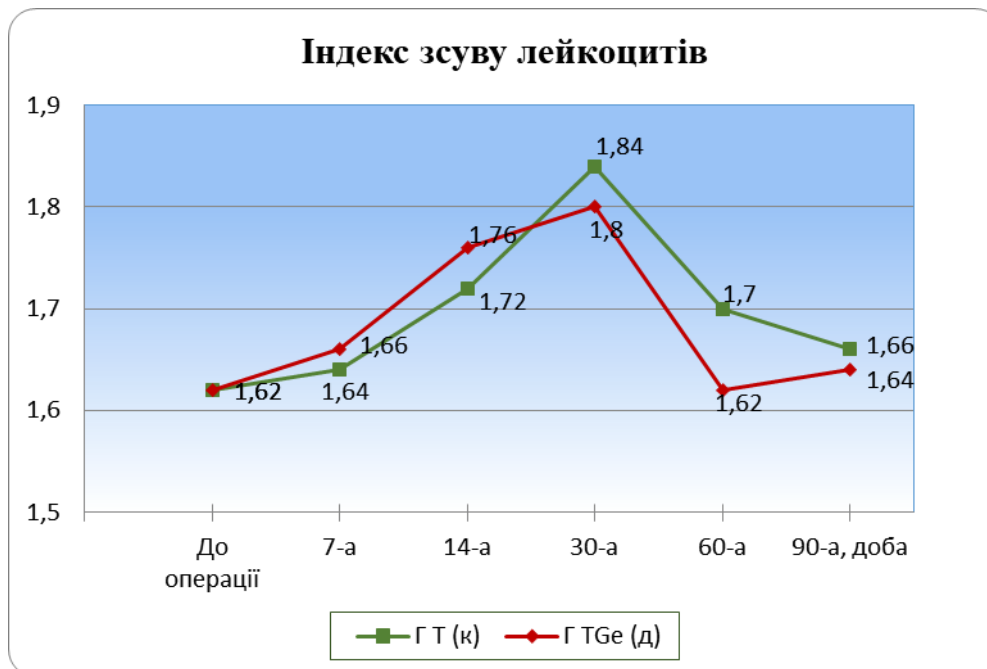
Таблиця 7.1

**Динаміка гематологічних показників у кролів за остеозаміщення різними імплантатами**

Доба		Еритроцити, Т/л (4,5–7,5)	Лейкоцити, Г/л (6,5–9,5)	Тромбоцити, Г/л (125–250)	Гемоглобін, (105–125)
<b>0</b> (до операції), (n=48)		$5,7 \pm 0,06$	$6,9 \pm 0,09$	$192 \pm 6,87$	$117 \pm 1,29$
<b>7</b>	ГТ, (n=12)	$5,1 \pm 0,11^{***}$	$7,9 \pm 0,38^{\diamond}$	$248 \pm 8,91^{***}$	$95 \pm 2,60^{***}$
	ГТGe, (I) (n=12)	$5,3 \pm 0,09^{\diamond\diamond}$	$8,1 \pm 0,33^{\diamond\diamond}$	$254 \pm 13,05^{***}$	$100 \pm 2,01^{***}$
<b>14</b>	ГТ, (n=12)	$5,4 \pm 0,09^{\diamond}$	$8,8 \pm 0,21^{***}$	$317 \pm 7,29^{***}$	$119 \pm 0,59$
	ГТGe, (I) (n=12)	$5,5 \pm 0,09$	$9,6 \pm 0,18^{**\diamond\diamond}$	$339 \pm 8,64^{***}$	$121 \pm 1,20$
<b>30</b>	ГТ, (n=9)	$5,7 \pm 0,07$	$7,4 \pm 0,12^{\diamond\diamond}$	$185 \pm 4,06$	$119 \pm 0,98$
	ГТGe, (I) (n=9)	$5,9 \pm 0,09$	$7,8 \pm 0,25^{\diamond\diamond}$	$196 \pm 7,94$	$120 \pm 2,84$
<b>60</b>	ГТ, (n=6)	$5,7 \pm 0,12$	$7,0 \pm 0,17$	$180 \pm 3,08$	$117 \pm 2,36$
	ГТGe, (I) (n=6)	$5,8 \pm 0,05$	$7,0 \pm 0,11$	$194 \pm 2,59^{**}$	$120 \pm 2,75$
<b>90</b>	ГТ, (n=3)	$5,7 \pm 0,09$	$7,0 \pm 0,15$	$180 \pm 1,16$	$118 \pm 1,53$
	ГТGe, (I) (n=3)	$5,6 \pm 0,03$	$6,9 \pm 0,15$	$190 \pm 6,49$	$120 \pm 1,76$

**Примітки.** 1) значення p: \* –  $< 0,05$ ; \*\* –  $< 0,01$ ; \*\*\* –  $< 0,001$ , порівняно з контрольною групою; 2) значення p:  $\diamond$  –  $< 0,05$ ;  $\diamond\diamond$  –  $< 0,01$ ;  $\diamond\diamond\diamond$   $p < 0,001$  – відносно доопераційного рівня.

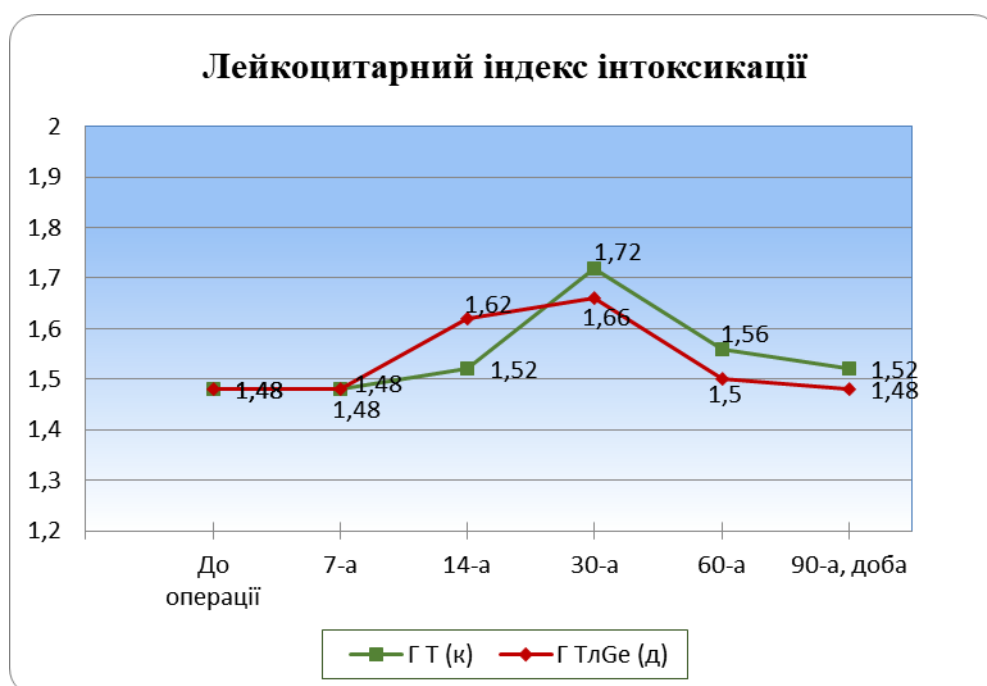
ІЗЛ не залежить від загального числа лейкоцитів крові і здебільшого підвищується за активного запального процесу та змін імунологічної реактивності. Його динаміка в групах мала певні особливості (рис. 7.8).



**Рис. 7.8. Динаміка індексу зсуву лейкоцитів крові у кролів за використання різних імплантів.**

Зокрема, вже на 7-у добу репаративного остеогенезу відмічали тенденцію до зростання ІЗЛ у тварин контрольної та дослідної груп. На 14-у добу ця тенденція набувала достовірного прояву. Однак пік показників ІЗЛ спостерігали на 30-у добу. Показники цього індексу в обох групах поступово нормалізувалися до 60-ї доби.

Динаміка лейкоцитарного індексу інтоксикації (рис. 7.9) загалом виявилася подібною до такої ІЗЛ. В подальшому відмічали зростання показника ЛІІ, в дослідній групі на 14 добу він становив у середньому 1,62 ум.од., що в 1,1 ( $p < 0,01$ ) рази вище за показник контрольної групи (1,52 ум.од.).



**Рис. 7.9. Динаміка лейкоцитарного індексу інтоксикації за використання різних імплантів.**

Пік показників ЛП відмічали на 30-у добу в контрольній і дослідній групах, що в 1,2 ( $p<0,01$ ) та 1,1 ( $p<0,01$ ) раза більше, порівняно з показниками клінічно здорових тварин. В подальшому спостерігалася тенденція до нормалізації показників ЛП в обох групах до 60-ї доби репаративного остеогенезу.

Загалом, в обох групах, на відміну від попередніх гематологічних індексів, була подібна динаміка зміни показників ядерного індексу інтоксикації (рис. 7.10).

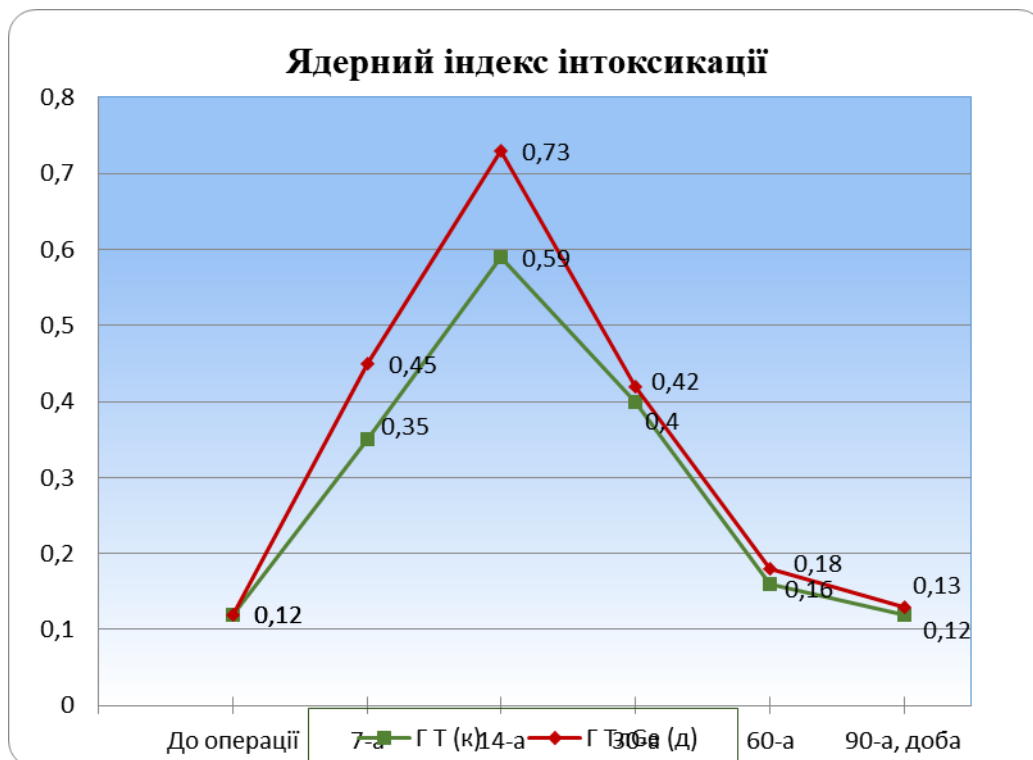


Рис. 7.10. Динаміка показників ядерного індексу інтоксикації за використання різних імплантів.

Його величина поступово збільшувалася на 7-у добу і досягла піку на 14-у добу репаративного остеогенезу. Зокрема у дослідній групі вона була в 1,2 раза ( $p<0,001$ ) більшою за показник тварин контрольної групи.

Із 30-ї доби ЯП починав динамічно зменшуватися, але ще був у 3,1 раза вищим, ніж у контрольних тварин, проте вірогідної різниці між дослідною і контрольною групами не спостерігалось.

Отже, використання гідроксиапатитних імплантів, легованих германієм, супроводжується реакцією крові, за якої зміни більшості гематологічних показників відбуваються в межах фізіологічної норми, хоча певні особливості має тромбоцитарна реакція і динаміка гематологічних інтегральних індексів, які відображають зміни співвідношення між популяціями клітин крові протягом репаративного остеогенезу.

Репаративний остеогенез є багатостадійним процесом і здебільшого в його оцінці використовують комплекс заходів, який включає клініко-рентгенологічне дослідження, комп'ютерну томографію, лабораторне визначення показників кісткового метаболізму. В експериментальних дослідженнях широко використовують гістологічні та гістохімічні методи аналізу кісткових регенератів. Врахо-

вучачи із молекулярно-біологічні закономірності кісткового метаболізму, головною фазою в реалізації всіх стадій репаративного остеогенезу є запально-резорбтивна, яка залежить від багатьох чинників: тип перелому, вид кісткової тканини, спосіб фіксації уламків, наявність інфекційних агентів. Ці чинники в сукупності визначають прояв, ступінь, інтенсивність цитокинової реакції, яка, як відомо [51], зумовлює реакцію системи крові. Найбільш вживаними для її оцінки є гематологічні показники, які однак досить поверхнево характеризують цю реакцію.

Водночас у травматології і ортопедії з метою оптимізації репаративного остеогенезу використовують різноманітні композитні матеріали для забезпечення остеокондуктивності ділянки перелому. У випадку надання їм остеоіндуктивних властивостей, вони потребують оцінки не лише місцевої, а також загальної реакції організму. Зокрема, як було вказано в ряді робіт [41, 45], за використання гідроксиапатиту, легованого кремнієм, репаративний остеогенез прискорюється завдяки, скороченню запально-резорбтивної стадії та прискоренню проліферативної, переважно, з боку ендоосту з ранньою мінералізацією кісткового регенерату. При цьому динаміка гематологічних показників є типовою для консолідації довгих трубчастих кісток, що свідчить про відсутність вираженої загальної реакції організму на імплантацію гідроксиапатитної кераміки, легової кремнієм.

Германій, як і кремній, належить до елементів головної підгрупи IV групи періодичної системи елементів і вважається, що він має такі ж властивості, однак, як засвідчили дослідження [55], гідроксиапатит, легований германієм, має більш виражені остеоіндуктивні властивості, що проявляється рентгенологічно і макроморфологічно динамічними явищами остеоінтеграції та раннім ремоделюванням кісткової тканини. Також відомо [56, 61–67], що германій характеризується досить широким спектром біологічної дії, а його органічні та комплексні сполуки мають протипухлинні, анальгезуючі, протизапальні, антиоксидантні, імуномодулюючі, фунгіцидні, противірусні та антимікробні властивості. Тобто він може бути перспективним не лише щодо остеоіндукції, а також остеозаміщення у випадку остеомієлітів та неоплазій.

**Висновок.** Динаміка гематологічних показників свідчить про відсутність вираженої реакції організму на імплантацію гідроксиапатитного композиту, легованого германієм.



#### **7.4. Рентгенологічна та патохімічна характеристика остеопорозного процесу в кролів**

(Тодосюк Т.П., Рубленко М.В., Власенко В.М. Рентгенологічна та патохімічна характеристика остеопорозного процесу в кролів. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2022. № 1. С.170–178. Doi: 10.33245/2310-4902-2022-1-1-170-178)

Остеопороз – найбільш поширене прогресуюче системне метаболічне захворювання опорно-рухового апарату, що характеризується зменшенням щільності кісткової тканини, зміною мінерального складу, порушенням мікроархітекtonіки кістки з подальшим підвищенням її крихкості та збільшенням ризику низькоенергетичних переломів [88–90].

У нормі темпи резорбції і утворення кісткової тканини знаходяться у певній рівновазі. За різних патологічних процесів відбувається порушення рівноваги між цими фазами у бік втрати або надлишку кістки. Якщо маса кісткової речовини зменшується, розвивається остеопороз. Існує значна кількість індуктивних протоколів, які зазвичай використовують для відтворення остеопорозу в кролів. Одним з них є ін'єкції високих доз дексаметазону, що призводить до зниження мінеральної щільності кісткової тканини, а в подальшому – до вторинного остеопорозу.

Хоча вторинний остеопороз може виникати внаслідок багатьох причин, проте здебільшого клінічне значення в цьому разі мають неоплазійні чи запальні процеси в організмі або кістковій тканині, що супроводжуються надлишковою продукцією прозапальних цитокінів, які зумовлюють резорбцію кісткової тканини і в результаті призводять до остеопорозних змін.

Було сформовано дослідну (n=18) та контрольну (n=9) групи тварин. Експериментальний остеопороз у кролів дослідної групи зумовлювали введенням 0,4 % розчину дексаметазону (4 мг/мл) (KRKA, Словенія) протягом 21-ої доби у дозі 1,2 мг/кг маси тіла 1 раз/добу [91–93]. Контрольним тваринам ін'єктували фізіологічний розчин. Проби крові для біохімічних досліджень відбирали до індукції остеопорозу та на 7-, 14-, 21-у добу.

У сироватці крові рівень загального кальцію (Ca) та фосфору (P) визначали наборами «Філісіт-Діагностика» (Україна).

Активність лужної фосфатази (ЛФ) та її кісткового ізоферменту (КЛФ) визначали за (Vagner et al., 1981) наборами реактивів ТОВ «Лабораторія Гранум» (Україна).

Рівень активності тартрат-резистентної кислої фосфатази (ТрКФ) у сироватці крові визначали наборами реактивів ТОВ «Лабораторія Гранум» (Україна). Вимірювання проводили спектрофотометром Stat Fax 4500.

Рентгенологічні дослідження проводили на рентгенапараті РУМ-20 до індукції остеопорозу та на 7-, 14-, 21-у добу дослідження. Отримані рентгензнімки відцифровували на електронний носій AGFA HEALTHCARE N.V. CR 10-X (Німеччина).

*Рентгенографія.* В нормі на рентгенограмі кісток скелету чітко простежується однорідна структура кісткової тканини без видимого затемнення на світлих ділянках рентгенконтрастної тіні (рис. 7.11 а).

На 7-у добу індукції остеопорозу за рентгенодіагностики видимих остеопоротичних змін не спостерігається. Проте, у губчастій кістковій тканині

виявляється незначне зменшення інтенсивності рентгенівської тіні та розрідження кісткової структури у порівнянні зі здоровою кісткою або з інтенсивністю м'яких тканин (рис. 7.11 б).

Проте, на 14-у добу дослідження окремі ділянки губчастої речовини проксимального епіфіза стегнової кістки мають вигляд великопетлистого рисунка внаслідок розсмоктування окремих кісткових балок. Також спостерігається розширення кістково-мозкового каналу внаслідок резорбції кістки, стоншення та підкреслення країв кортикального шару (рис. 7.11 в).

На 21-у добу після ін'єкції дексаметазону рентгенографічно спостерігали характерні для остеопорозу зміни кісткової тканини як осового скелету, зокрема поперекового відділу хребта, так і певних ділянок вільних кінцівок – проксимального епіфіза стегнових кісток (рис. 7.11 г). До них належать: низька інтенсивність рентгенконтрастної тіні кістки, значне розрідження кісткової структури.

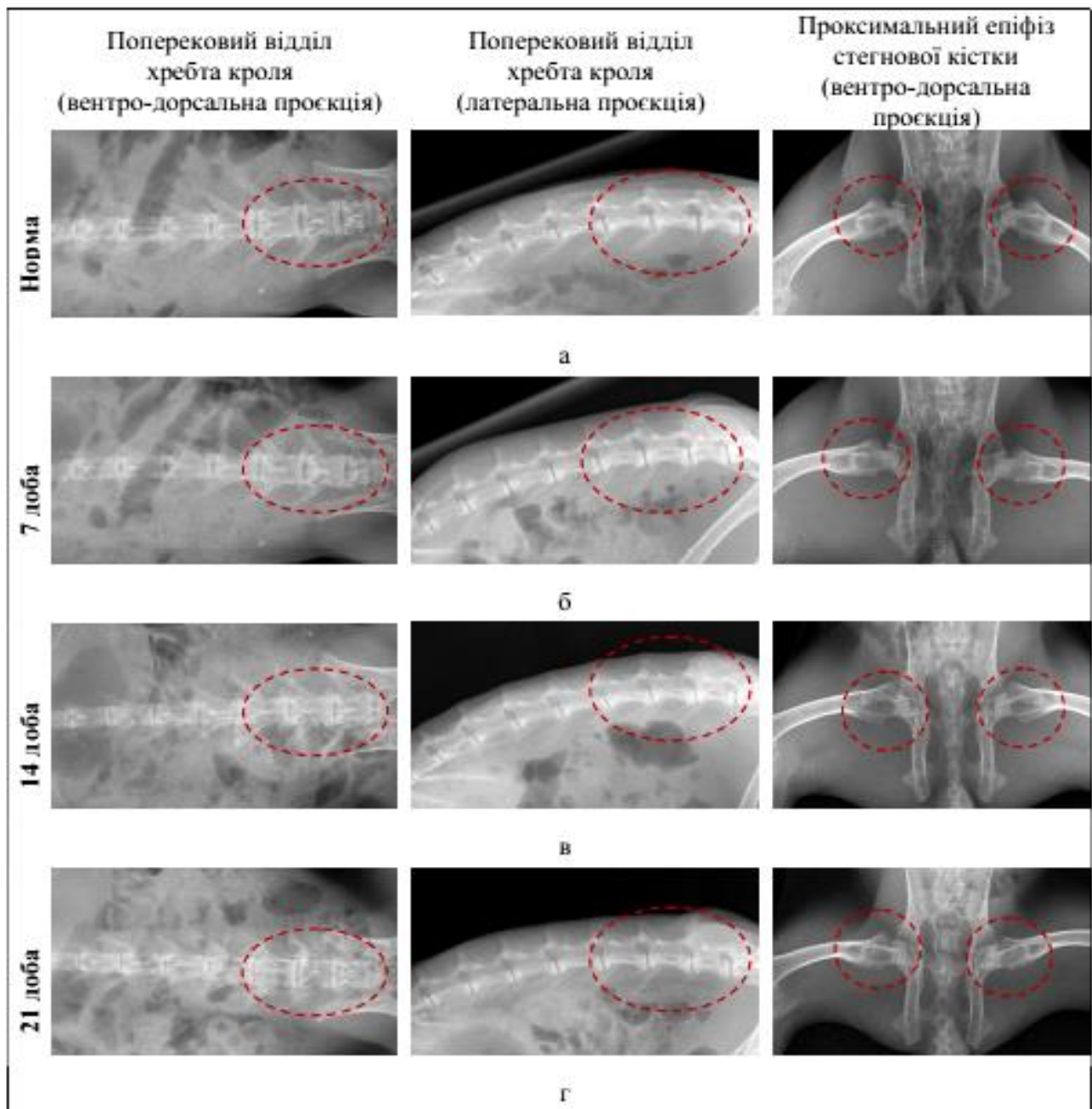


Рис. 7.11. Рентгенологічна картина скелету кроля в нормі та за системного остеопорозу.

У губчастій кістковій тканині спостерігається атрофія кісткового малюнка внаслідок редування трабекулярних структур (витончення кісткових трабекул, інколи до їх повного зникнення).

Також відмічається посилена рентгенщільність контурів кортикального шару кістки, його потоншення та розволокнення, а також значне розширення кістково-мозкової порожнини.

Внаслідок втрати кісткової тканини тіло хребця втрачає свою міцність, що призводить до типових остеопоротичних змін – підкресленість контурів кістки («рамкова» структура хребця) та підвищена смугастість губчастої речовини хребців.

*Біохімічні зміни.* Вміст загального кальцію (Ca) у дослідній групі, на відміну від контрольної, протягом дослідження зазнав суттєвих змін (табл. 7.2). Починаючи з 14-ї доби фіксували зниження показників Ca в 1,4 раза ( $p < 0,001$ ) відносно клінічно здорових і контрольних тварин. На 21-у добу індукції остеопорозу в дослідних тварин показник загального кальцію зменшився в 2,1 раза ( $p < 0,001$ ) відносно норми та у 2 рази, порівняно із контрольними тваринами.

Концентрація в сироватці крові неорганічного фосфору (P) також зазнала певних змін, характерних для остеопорозу. Зокрема, вже на 7-у добу після ін'єкцій дексаметазону спостерігалось незначне збільшення показників P у дослідній групі, що не мало статично достовірної різниці. Проте виявили суттєве підвищення неорганічного P в дослідній групі в 1,5 раза на 14-у добу ( $p < 0,001$ ) та в 1,8 раза ( $p < 0,001$ ) на 21-у, порівняно з нормою та тваринами контрольної групи. Показники контрольних тварин відносно норми протягом усього терміну досліджень суттєво не змінювалися.

Показовою виявилася динаміка Ca:P співвідношення (табл. 7.2). Вже на 7-у добу після ін'єкцій кортикостероїду цей показник був дещо нижчим, порівняно з нормою та контрольними кролями (1,75:1), а в подальшому відмічали його різке зниження на 14-у добу (0,89:1) та 21-у добу (0,5:1), що свідчить про збільшення інтенсивності процесів демінералізації кісткової тканини. У контрольній групі Ca:P індекс не зазнав значних змін.

За аналізу рівня загальної лужної фосфатази (ЗЛФ) встановлено підвищення її активності у дослідній групі, починаючи з 14-ї доби. На 21-у добу введення кортикостероїду вона перевищувала показники контрольних та клінічно здорових тварин в 1,1 раза ( $p < 0,001$ ).

Активність кісткового ізоферменту лужної фосфатази (КіЛФ), що відображає процеси остеогенезу в дослідній групі за індукції остеопорозу повільно підвищувалася до 21-ї доби досліджень і досягала рівня 43,12 од./л, що в 1,1 раза ( $p < 0,001$ ) вище за показники норми та тварин контрольної групи.

Водночас активність тартрат-резистентної кислої фосфатази (ТрКФ), як маркера резорбції кісткової тканини у тварин дослідної групи підвищувалася починаючи з 7-ї доби досліджень, але без достовірної різниці. Проте, надалі активність ТрКФ динамічно підвищувалась і вже на 14-у добу становила  $30,7 \pm 0,36$  од./л, що у 1,1 раза ( $p < 0,001$ ) вище за її рівень у клінічно здорових тварин, а на 21-у добу – 1,2 раза ( $p < 0,001$ ), відповідно. Достовірної різниці у зміні показників контрольної групи протягом дослідження не спостерігали.

За визначення індексного показника кісткового ізоферменту лужної фосфатази щодо тартрат-резистентної кислої фосфатази можна визначити співвідношення процесів ремоделювання та резорбції кісткової тканини. У клінічно здорових тварин це співвідношення становить 1,4:1. Проте, у дослідних тварин на 21-у добу дослідження воно становить 1,28:1, що свідчить про активізацію остеокластів і, як наслідок, надмірну резорбцію кісткової тканини.

Таблиця 7.2

**Біохімічні показники крові кролів за індукції остеопорозу**

Доба	Са, ммоль/л	Р, ммоль/л	Са:Р	ЗЛФ, од./л	КіЛФ, од./л	ТрКФ, од./л	КіЛФ: ТрКФ	
<b>0</b> (n=27)	2,57±0,03	1,44±0,04	1,82±0,07	63,36±0,32	39,94±0,41	28,36±0,26	1,4±0,02	
<b>7</b>	Дослід (n=18)	2,56±0,05	1,54±0,07	1,75±0,1	63,51±0,29	40,38±0,36	29,42±0,57	1,37±0,03
	Контроль (n=9)	2,57±0,12	1,47±0,16	1,8±0,15	63,43±0,19	40,0±0,01	28,27±0,04	1,43±0,08
<b>14</b>	Дослід (n=18)	1,87±0,05**	2,12±0,07**	0,89±0,03**	65,47±0,49**	42,0±0,29**	30,7±0,36**♦	1,37±0,02
	Контроль (n=9)	2,6±0,05	1,45±0,01	1,86±0,02	63,15±0,03	39,81±0,12	28,4±0,21	1,4±0,04
<b>21</b>	Дослід (n=18)	1,25±0,04**	2,52±0,05**	0,5±0,02**	70,21±0,42**	43,12±0,29**	33,73±0,35**	1,28±0,02**
	Контроль (n=9)	2,51±0,1	1,44±0,07	1,8±0,09	63,4±0,15	39,8±0,05	28,41±0,18	1,41±0,12

**Примітка.** Значення р: \* – <0,01; \*\* – <0,001, порівняно з контрольною групою.

Отже, рентгенографічно встановлено, що зміни в кістковій тканині характерні для остеопорозу з'являються вже на 14-у добу досліджень індукції остеопорозу, що корелює з біохімічними показниками крові кролів. Насамперед це гіпокальціємія і гіпофосфатемія та низький рівень Са:Р індекса. При цьому достовірно підвищуються як рівень активності остеогенної КіЛФ, так і остеорезорбтивної ТрКФ. Однак повна картина остеопорозу остаточно формується на 21-у добу, коли відбувається достовірне зменшення її співвідношення, що свідчить про повну перевагу процесів остеорезорбції.

**Висновок.** 1. Кортикостероїдна модель остеопорозу зумовлює прояв його рентгенологічних ознак на 14-у добу після індукції, що супроводжується гіпокальціємією, гіперфосфатемією із зменшенням величини Са:Р та підвищенням активності лужної та тартрат-резистентної кислої фосфатаз. 2. Повна патохімічна фаза остеопорозу настає на 21-у добу, що проявляється достовірним зменшенням співвідношення фосфатаз.

### 7.5. Рентгено-макроморфологічна і біохімічна оцінка консолідації переломів довгих трубчастих кісток в умовах остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за остеопорозу в кролів

(Годосюк Т.П., Рубленко М.В., Власенко В.М., Ульянович Н.В. (2022). Рентгено-макроморфологічна і біохімічна оцінка консолідації переломів довгих трубчастих кісток в умовах остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за остеопорозу в кролів. *ВВ ЛНУ ветеринарної медицини та біотехнологій*. Серія: Ветеринарні науки, 24(106), 149-157. <https://doi.org/10.32718/nvlvet10623>)

Експериментальний остеопороз у кролів зумовлювали введенням 0,4 % розчину дексаметазону (KRKA, Словенія) протягом 21 доби в дозі 1,2 мг/кг маси тіла.

Було сформовано дослідну (n=9) та контрольну (n=9) групи тварин. Тваринам дослідної групи дефекти заміщували гранулами гідроксиапатитної кераміки, синтезованої на основі гідроксиапатиту і β-трикальційфосфату, легованої германієм. У кролів контрольної групи кісткові дефекти загоювалися під кров'яним згустком.

Проби крові для визначення рівня загального кальцію (Ca) та неорганічного фосфору (P) відбирали до оперативного втручання та на 7-, 14-, 30-, 60-у добу дослідження. Рентгенологічні дослідження проводили на рентгенапараті РУМ-20 на 14-, 30-, 60-у добу репаративного остеогенезу.

Таблиця 7.3

**Бальна оцінка консолідації переломів довгих трубчастих кісток за остеопорозу в кролів**

№ п/п	Показники	Кількість балів
<b>Рентгенодіагностика</b>		
1	<i>ступінь щільності кісткової тканини</i>	
	– 14 доба	3
	– 30 доба	2
	– 60 доба	1
2	<i>ступінь поширення періостальної реакції</i>	
	– в межах дефекту	3
	– за межами дефекту	2
	– зміни в суміжній (ліктьовій) кістці	1
3	<i>реакція ендоосту</i>	
	– 14 доба	3
	– 30 доба	2
	– 60 доба	1
	– реакція ендоосту відсутня	0

За результатами рентгенологічного дослідження (рис. 7.12 а) на 14-у добу репаративного остеогенезу в дослідних тварин у місці сформованого модельного дефекту візуалізувалися гранули кераміки, помірна періостальна реакція, обмежена безпосередньо навколо місця травми з помірно підвищеною рентгенологічною щільністю. За травми компактної кісткової тканини у тварин дослідної групи рентгенологічно встановлена більш виражена реакція ендоосту. Натомість реакція ендоосту у контрольних тварин виявилася незначною.

На рентгенограмах контрольних тварин чітко візуалізувалося місце дефекту та відмічали ущільнення періосту, яке значно поширюється проксимально та дистально від нього. Щодо діафіза променевої кістки, то хмароподібна тінь поширювалася майже по всій його поверхні, що свідчить про інтенсивну запальну реакцію з утворенням масивного хрящово-кісткового мозоля.

На 30-у добу на рентгенограмах дослідних тварин візуалізувалися незначні залишки періостальної реакції, місце дефекту характеризувалося підвищеною рентгенологічною щільністю. Гранули композитного матеріалу втратили свою структурованість і щільність, що свідчить про початок його резорбції.

Водночас у контрольних тварин рентгенологічно на 30-у добу спостерігали ущільнення періосту майже по всій довжині променевої кістки з поширенням на ліктьову і утворенням масивного кісткового мозоля. У ділянці дистального метафізу стегнової кістки навколо дефекту відмічали явища остеосклерозу з точковими ділянками остеопорозу (рис. 7.12 б).

На 60-у добу у тварин дослідної групи місце дефекту мало підвищену рентгенологічну щільність з незначними залишками композитного матеріалу, а реакція періосту була відсутня. Дистальний метафіз стегнової кістки набув шорсткого вигляду з ділянками остеопорозу, що може бути ознакою ремоделювання ділянки травми. На рентген-знімках контрольних тварин ділянки сформованого дефекту мали низьку рентгенологічну щільність, натомість візуалізувався надмірний об'єм кісткового регенерату та періостальна реакція, яка все ще поширювалася як на променеву, так і ліктьову кістки (рис. 7.12 в).

За бальної оцінки рентгенограм встановлено, що в тварин дослідної групи за імплантації гранул кераміки, легованої германієм, ступінь щільності кісткової тканини був вищим у 2,5 рази ( $p < 0,001$ ), порівняно з показниками контрольної групи. За оцінки реакції пері- та ендоосту спостерігалася подібна динаміка.

Отже, за проведення бальної оцінки встановлено, що репаративний остеогенез у дослідних тварин проходить більш динамічно, а саме в 2,7 рази ( $p < 0,001$ ), порівняно з контрольною групою і характеризується високою щільністю кісткової тканини в місці дефекту вже на 14-у добу після травми, помірною періостальною та ранньою появою ендоостальної реакції (табл. 7.4).

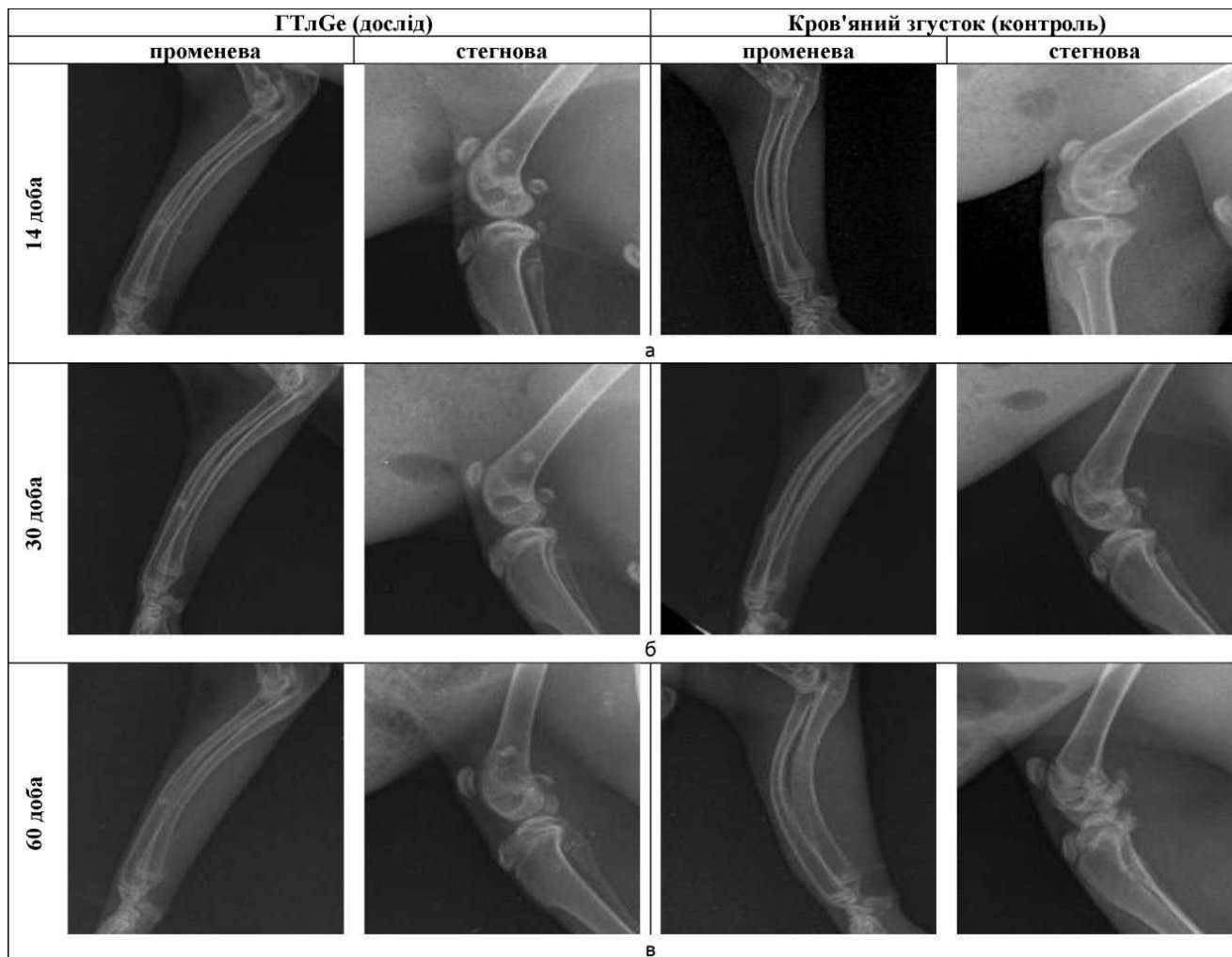


Рис. 7.12. Рентгенограми кісток кролів з остеопорозом за репаративного остеогенезу.

Таблиця 7.4

Бальна оцінка репаративного остеогенезу в кролів з остеопорозом за рентгенологічного дослідження

№ п/п	Показники	Кількість балів	
		ТТлGe	Контроль
<b>Рентгенодіагностика</b>			
1	ступінь щільності кісткової тканини	2,78±0,15***	1,11±0,11
2	поширення періостальної реакції	2,89±0,11***	1,22±0,15
3	реакція ендоосту	2,67±0,17***	0,78±0,15
<b>Загальна оцінка</b>		<b>2,78±0,06***</b>	<b>1,03±0,13</b>

Примітка: \*\*\* – P < 0,001, порівняно з показниками контрольної групи.

За макроморфологічного дослідження фрагментів променевих та стегнових кісток на 14-у добу репаративного остеогенезу у тварин дослідної групи в місці дефекту відмічали гранули кераміки, повністю занурені у сформований фіброзно-хрящовий регенерат, який рівномірно заповнював ділянку дірчастого дефекту і лише незначно виступав над поверхнею кістки. Значного розростання періосту не спостерігали. У контрольній групі місце сформованого дефекту виявилось не повністю заміщеним новоутвореною тканиною, про що свідчила кратероподібна

форма кісткового регенерату значного розміру. Проте відмічали масивні, зі значним поширенням за межі травмованої ділянки, розростання періосту (рис. 7.13 а).

На 30-у добу репаративного остеогенезу макрокартина кісткових фрагментів дослідних тварин була наступною: кістковий дефект повністю заповнений новоутвореною тканиною, яка не підвищувалася відносно рівня площини кісткової поверхні, та щільно вкритий періостом без ознак його надмірних розростань. У товщі регенерату візуалізувалися фрагменти гранул композиту. У тварин контрольної групи ділянка дефекту не мала щільної консистенції, в її центрі візуалізувався кратероподібний кістковий мозоль, але значно меншого розміру, порівняно з попереднім терміном дослідження. Розростання періосту залишалися досить масивними і значно поширювалися за межі травмованої ділянки (рис. 7.13 б).

На 60-у добу репаративного остеогенезу в дослідних тварин відмічали сформовану кісткову тканину із залишками гранул композитного матеріалу, що міцно з'єднані з кісткою. Ознак періостальної реакції не спостерігали. У контрольних зразках на 60-у добу досить значними залишалися розростання періосту. Місце травми не повністю було виповнене новоутвореною кістковою тканиною, в його центрі все ще візуалізувався невеликого розміру кратероподібний дефект з ознаками резорбції кісткової тканини (рис. 7.13 в).

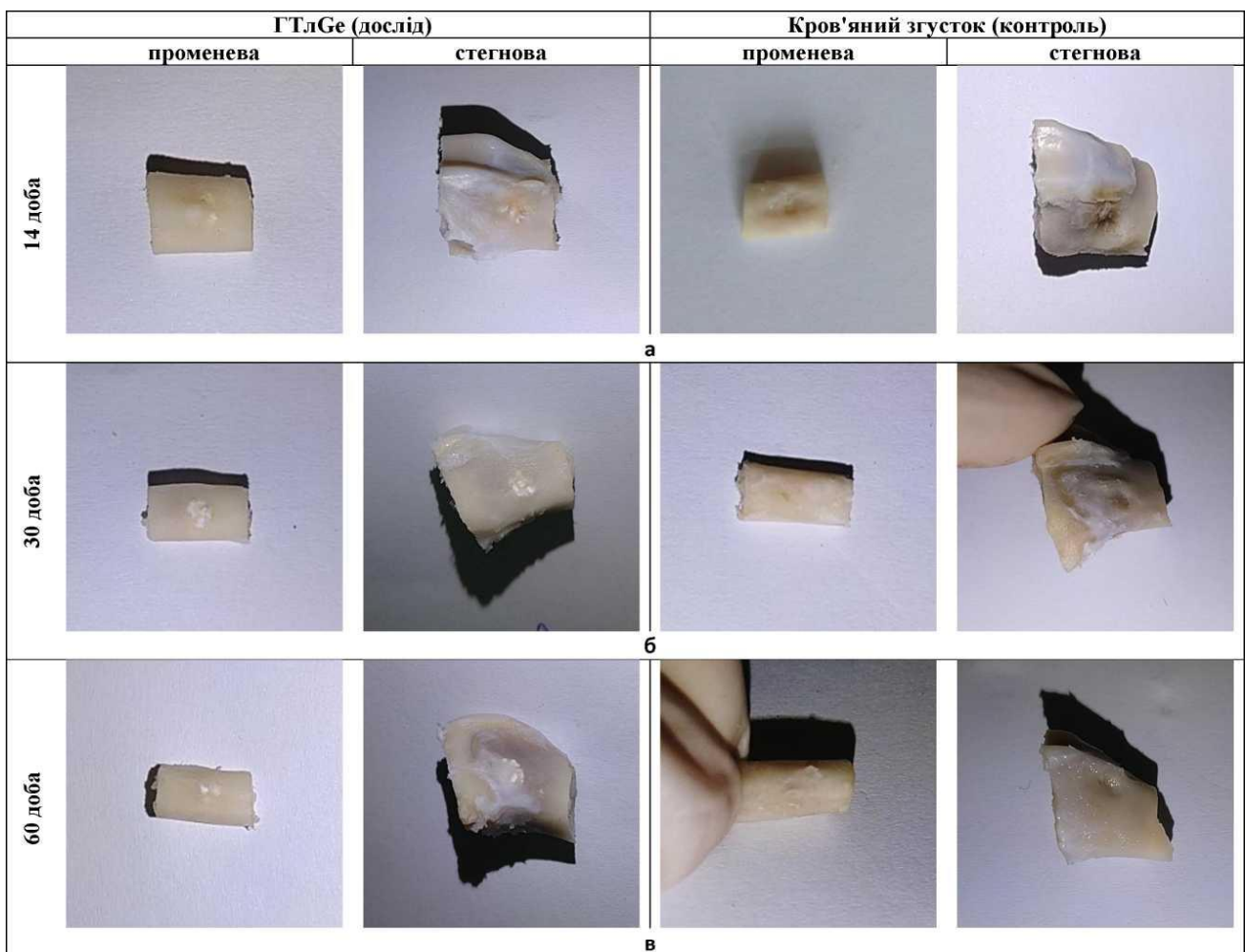


Рис. 7.13. Макроморфологічна оцінка фрагментів кісток кролів з остеопорозом за репаративного остеогенезу.



Вміст загального кальцію у тварин дослідної групи протягом дослідження зазнав певних змін. Вже на 7 добу репаративного остеогенезу він становив  $1,41 \pm 0,02$  ммоль/л, що в 1,1 раза ( $p < 0,001$ ) вище за показник контрольних тварин. На 14-у добу після травми рівень Са в сироватці крові дослідних тварин був у 1,3 раза ( $p < 0,001$ ) вищим за показник контрольних та тварин до операції, а на 30-у добу в 1,2 раза ( $p < 0,001$ ) відповідно. На 60-у добу репаративного остеогенезу вміст Са становив  $1,5 \pm 0,04$  ммоль/л, що в 1,2 раза вище за показник контрольних тварин. Слід відмітити, що у тварин яким дефект лишали загоюватися під кров'яним згустком, рівень загального Са суттєво не змінювався протягом усього періоду дослідження (табл. 7.5).

Концентрація неорганічного Р в сироватці крові на 7 добу репаративного остеогенезу в обох групах суттєво не змінилася. Проте, вже на 14-у добу після травми у тварин дослідної групи рівень Р був у 1,1 раза ( $p < 0,05$ ) нижчим ніж у контрольних тварин. На 30-у добу концентрація Р у тварин дослідної групи становила  $2,14 \pm 0,04$  ммоль/л, що у 1,1 раза ( $p < 0,01$ ) нижче за показник контрольних і в 1,2 раза – за показники тварин до операції. На 60-у добу рівень неорганічного Р продовжував знижуватися і становив  $1,7 \pm 0,03$  ммоль/л, що в 1,4 раза ( $p < 0,01$ ) нижче за показники контрольних тварин (табл. 7.5).

Протягом дослідження значних змін кальцій-фосфорного індексу в тварин контрольної групи не відмічали. Проте в дослідній починаючи з 7-ї доби відмічали достовірну різницю показників щодо контрольних тварин. На 7-у добу Са:Р співвідношення було 1,2:1, на 14-у та 30-у добу – 1,4:1. На 60 добу репаративного остеогенезу Са:Р індекс дещо збільшився і становив 1,6:1 порівняно з контрольною групою тварин (табл. 7.5).

Таблиця 7.5

Динаміка біохімічних показників крові за репаративного остеогенезу у кролів з остеопорозом

Доба		Са, ммоль/л	Р, ммоль/л	Са:Р
Норма (n=27)		$2,57 \pm 0,03$	$1,44 \pm 0,04$	$1,82 \pm 0,07$
0 до операції, (n=18)		$1,25 \pm 0,04$	$2,52 \pm 0,05$	$0,5 \pm 0,02$
7	ГТлGe, (n=9)	$1,41 \pm 0,02^{***}$	$2,5 \pm 0,05$	$0,57 \pm 0,02^{**}$
	Контроль, (n=9)	$1,25 \pm 0,02$	$2,56 \pm 0,05$	$0,49 \pm 0,01$
14	ГТлGe, (n=9)	$1,68 \pm 0,06^{***}$	$2,3 \pm 0,08^*$	$0,74 \pm 0,02^{***}$
	Контроль, (n=9)	$1,3 \pm 0,02$	$2,51 \pm 0,03$	$0,52 \pm 0,01$
30	ГТлGe, (n=6)	$1,57 \pm 0,03^{***}$	$2,14 \pm 0,04^{**}$	$0,74 \pm 0,02^{***}$
	Контроль, (n=6)	$1,26 \pm 0,04$	$2,37 \pm 0,04$	$0,53 \pm 0,02$
60	ГТлGe, (n=3)	$1,5 \pm 0,04^{**}$	$1,7 \pm 0,03^{**}$	$0,88 \pm 0,03^{***}$
	Контроль, (n=3)	$1,26 \pm 0,02$	$2,31 \pm 0,03$	$0,54 \pm 0,02$

Примітка. Значення p: \* –  $< 0,05$ ; \*\* –  $< 0,01$ ; \*\*\* –  $< 0,001$ , порівняно з контрольною групою.

Отже, гідроксиапатитний композит з  $\beta$ -трикальційфосфатом, легований германієм, може бути перспективним у травматології та ортопедії тварин-компаньйонів як за травматичних, так і низькоенергетичних переломів кісток, зумовлених системними остеопоротичними змінами кісткової тканини.

### **7.6. Гістоморфологічна та біохімічна оцінка впливу на репаративний остеогенез остеозаміщення легової германієм кальцій-фосфатною керамікою за модельних дефектів трубчастих кісток у кролів**

Було сформовано дослідну (n=12) та контрольну (n=12) групи тварин. Після загальної анестезії формували кісткові дефекти свердлом d=3 мм у променевої кістці та d=4,2 мм у стегновій кістці. У тварин дослідної групи дефекти заміщували гранулами гідроксиапатитної кераміки, легової германієм, а у контрольній групі – гранулами нелегової кераміки.

Гістологічні зрізи кісткових регенератів виготовляли на ротаційному мікромомі з їх фарбуванням гематоксиліном Вейгера та 1 % розчином еозину. В сироватці крові визначали активність загальної лужної фосфатази (AP), її кісткового ізоферменту (BAP) та тартрат-резистентної кислоти фосфатази (TRAcP).

**Гістологічні дослідження.** Компактна кісткова тканина. На 14-у добу репаративного остеогенезу в дослідній групі за остеозаміщення леговою керамікою (рис. 7.14 а) гістоморфологічно кісткові регенерати характеризувалися наявністю капілярів і судинних каналів, хаотично сформованих балок грубоволокнистої кісткової тканини, які щільно оточували гранули кераміки. Поверхневі шари кераміки та прилягаючі до них трабекули містили досить значну кількість клітин остеобластичного ряду, остеобласти та меншу – остеокластів.

У контрольній групі (рис. 7.14 б) на 14-у добу зразки регенератів характеризувалися незначною кількістю остеогенних клітин, а їх грубоволокнисті, пухко розташовані формування не мали тісного контакту із гранулами кальцій-фосфатної кераміки. Також були наявними поодинокі формування кровоносних капілярів.

На 30-у добу репаративного остеогенезу в зразках гістозрізів дослідної групи (рис. 7.14 с) залишки гранул остеозаміщувального матеріалу щільно оточені масивними пластинчастими балками із залишками грубоволокнистої кістки та значною кількістю клітин в остеоцитарних лакунах. Поверхня пластинчастих трабекул містила ряди остеобластів, що є ознакою зміцнення і потовщення кісткових балок. В ділянках контакту кісткового регенерату з материнською кісткою на поверхні сформованих трабекул відмічали острівці новоутвореної кісткової тканини, як ознаки органотипової перебудови.

У контрольних зразках (рис. 7.14 d) на 30-у добу кістковий дефект компактної кістки більшою мірою виповнювався грубоволокнистою кістковою тканиною, хоча спостерігалися і трабекули губчастого типу з невеликою кількістю остеогенних клітин. Ділянка контакту з материнською кісткою у стані помірної остеорезорбції, без щільного контакту гранул кераміки з регенератом.

На 60-у добу репаративного остеогенезу майже вся ділянка модельного дефекту діафіза променевої кістки у тварин дослідної групи (рис. 7.14 е) була

заповнена компактною кістковою тканиною за виключенням невеликих точкових ділянок, виповнених губчастою кістковою тканиною, грубоволокнисті елементи якої проникали в залишки гранул, що резорбувалися остеокластами та заміщувалися ділянками грубоволокнистої кісткової тканини.

У контрольній групі на 60-у добу (рис. 7.14 f) відмічали виповнення дефекту як грубоволокнистою, так і пластинчастою трабекулярною кістковою тканиною. Чітко візуалізувалися кісткові балки з рядами остеобластів на поверхні, а в їх товщі – замуrowані в лакунах остеоцити. Гранули композитного матеріалу знаходилися у нещільному контакті з новосформованою кістковою тканиною.

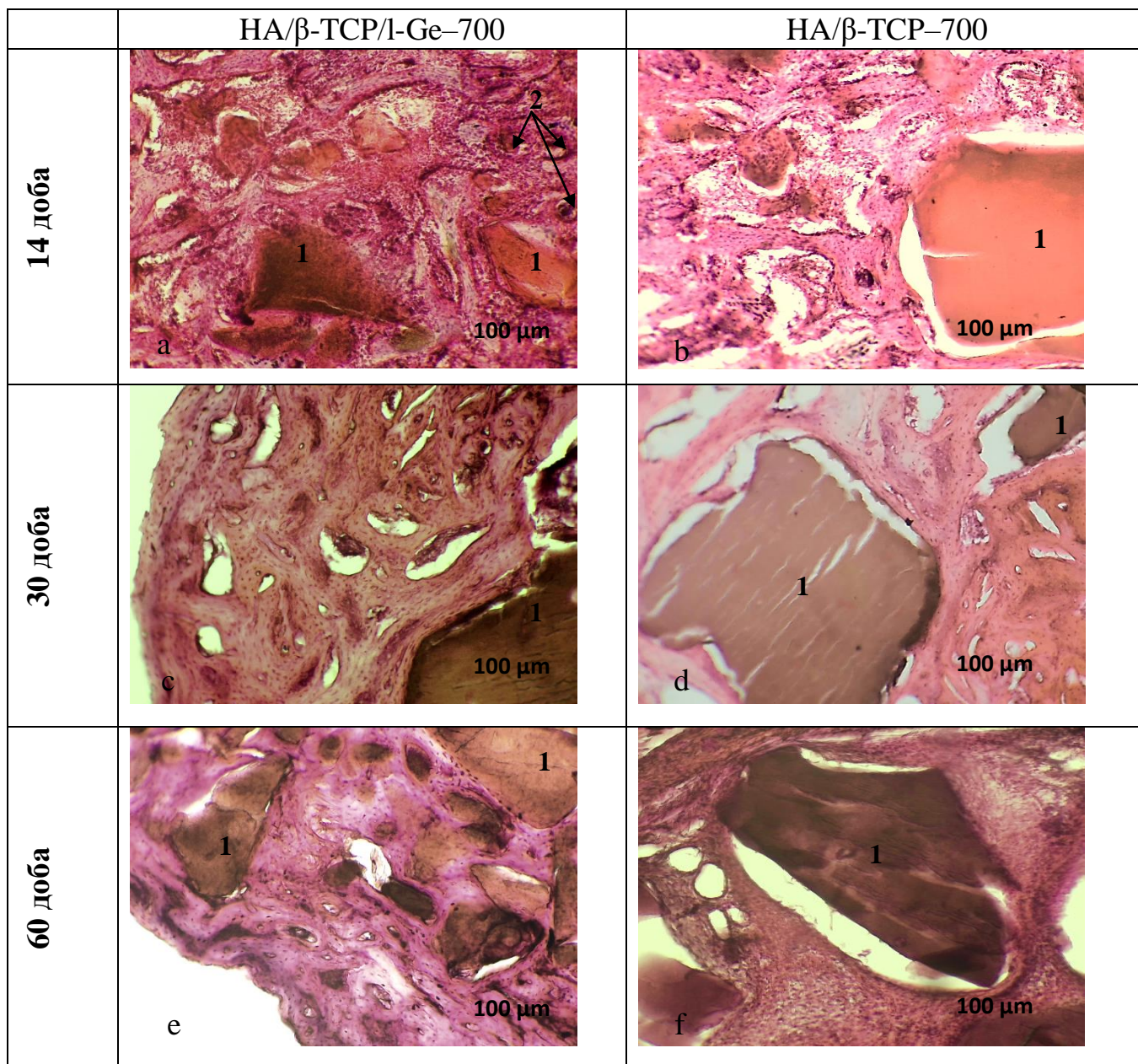


Рис. 7.14. Гістологічна картина кісткового регенерату променевої кістки за репаративного остеогенезу у кролів.

Губчаста кісткова тканина. На 14-у добу репаративного остеогенезу у гістоморфологічних зразках дослідної групи (рис. 7.15 a) навколо гранул кераміки формувалися тонкі кісткові балки, які щільно вкривали їх поверхню – між ними

розташовувалися досить сформовані судинні каналці. На межі з материнською кісткою значна кількість малодиференційованих остеогенних клітин, елементи кісткового мозку та невелика кількість жирових клітин.

На зразках контрольної групи (рис. 7.15 b) у цей же термін кістковий дефект заповнений регенератом волокнистої структури з помірною щільністю клітинних елементів навколо гранул кераміки та поодинокими судинними елементами, порівняно з дослідною групою. Контакт між масивом регенерату та гранулами кераміки був неповним.

На 30-у добу у зразках дослідної групи (рис. 7.15 c) відмічали переважно губчасту кісткову тканину у вигляді масивних балок, що щільно прилягали до гранул керамічного матеріалу. Залишки грубоволокнистої кісткової тканини вогнищево знаходилися у поверхневих і глибоких шарах композиту. Судинні канали мали чітко сформовані стінки. На периферії трабекул візуалізувалися ряди остеобластів, а в їх товщі – замуrowані в лакунах остецити. Контакт новоутвореної кісткової тканини із керамікою відмічали по всьому периметру залишків гранул.

У зразках контрольної групи на 30-у добу (рис. 7.15 d) остеозаміщення відмічали осередки формування грубоволокнистої кісткової тканини та поодинокі судинні канали. Гранули композитного матеріалу розташовувались між трабекулами губчастої кістки, їх тісного контакту не спостерігали.

На 60-у добу у зразках дослідної групи (рис. 7.15 e) сформована губчаста кісткова тканина щільно контактувала із залишками гранул композиту, які повністю втратили початкову структуру.

Регенерат у контрольній групі, в якій дефекти були заміщені нелегованою керамікою (рис. 7.15 f), на 60-у добу візуалізувався у вигляді трабекул губчастого типу, але гранули композитного матеріалу ще зберігали свою структуру і у переважній більшості не мали щільного контакту з регенератом або вільно розташовувалися у міжтрабекулярних проміжках.

**Біохімічні дослідження.** Встановлено динамічні зміни біохімічних маркерів кісткового метаболізму та активності загальної лужної фосфатази в сироватці крові кролів як за остеозаміщення нелегованою кальцій-фосфатною керамікою, так і за включення в її структуру іонів германію. Ці зміни виявилися достовірними за кількісними величинами і у різні терміни дослідження.

Загальна лужна фосфатаза бере участь у регуляції фосфатної буферної системи крові та рівня позаклітинних фосфатів, реципрокно забезпечує рівень позаклітинного кальцію та впливає на рівень у плазмі крові глюкози і її транспорт у тканини. Вона недостатньо специфічна, оскільки включає кістковий, печінковий і кишковий ізоферменти. При заборі крові натщесерце її специфічність щодо відображення стану кісткового метаболізму підвищується [25].

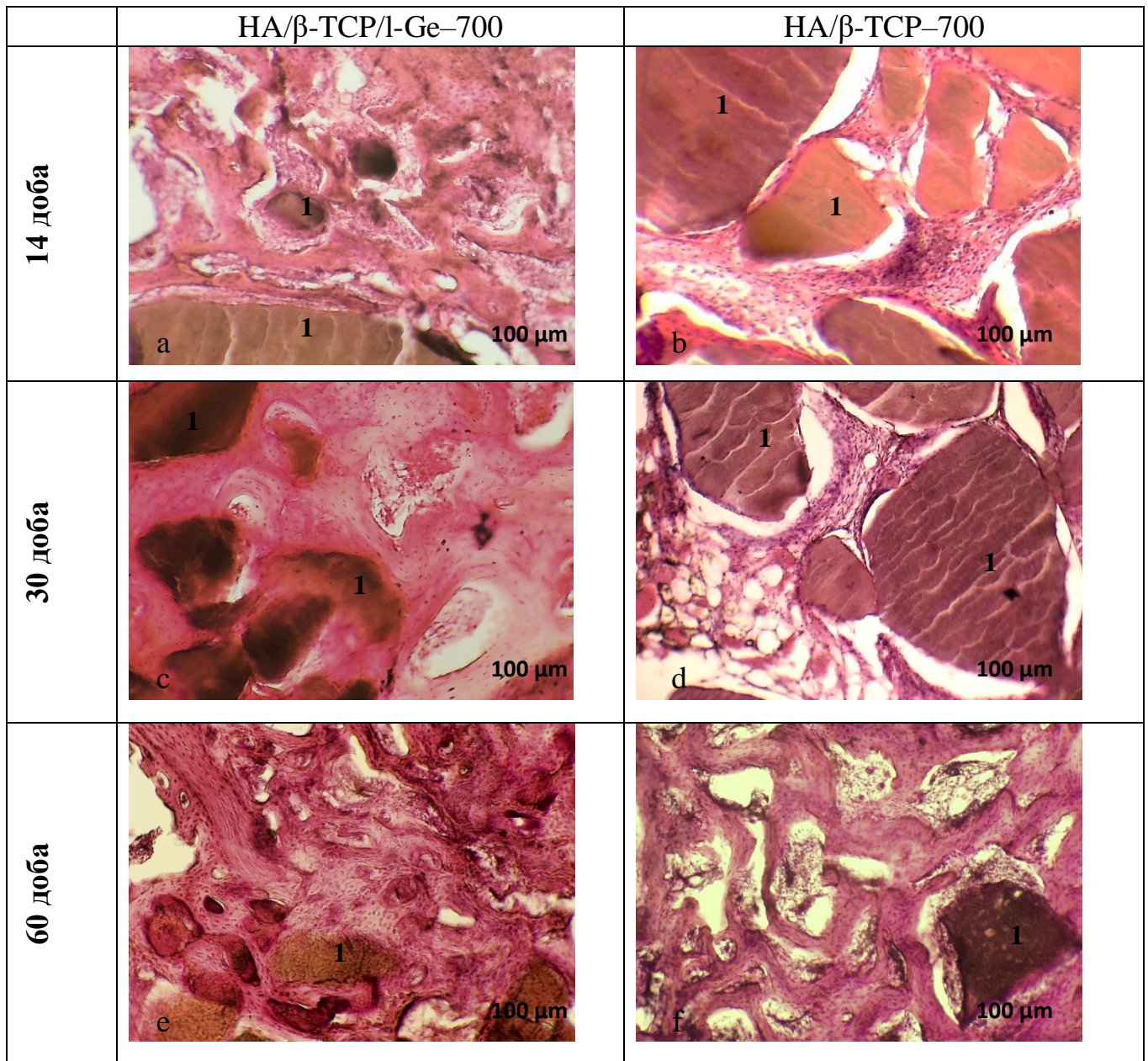


Рис. 7.15. Гістологічна картина кісткового регенерату стегнової кістки за репаративного остеогенезу у кролів (дослідна (HA/β-TCP/l-Ge-700) та контрольна (HA/β-TCP-700) групи).

В динаміці змін активності загальної лужної фосфатази встановлені (табл. 7.6) достовірні відмінності між контрольною і дослідною групами в усі терміни дослідження з 7-ї до 60-ї доби. Зокрема в контрольній групі відмічали поступове підвищення активності цього ензиму за високого рівня достовірності ( $p < 0,001$ ) на 14-ту добу та з досягненням пікового значення на 60-у добу дослідження –  $80,52 \pm 0,36$  од./л ( $p < 0,001$ ). У дослідній групі пікове значення –  $89,54 \pm 0,43$  од./л ( $p < 0,001$ ), встановлено на 14-у добу репаративного остеогенезу. В наступному активність загальної лужної фосфатази динамічно зменшувалася в бік рівня клінічно здорових кролів, але різниця з ними у всі терміни мала високу достовірність ( $p < 0,001$ ). Рівень достовірної різниці між контрольною і дослідною групами виявився найвищим ( $p < 0,001$ ) на 14-у та 60-у добу дослідження.

**Динаміка біохімічних маркерів кісткового метаболізму в сироватці крові кролів за імплантації легованої та нелегованої кальцій-фосфатної кераміки**

Доба	Група	ЗЛФ, од./л	КіЛФ, од./л	ТрКФ, од./л
<b>0</b>	Норма (n=24)	65,75±0,44	41,18±0,42	29,78±0,6
<b>7</b>	ГТлGe (n=12)	73,0±0,56** <sup>***</sup>	52±0,41*** <sup>***</sup>	30,08±0,75
	ГТ (n=12)	69,74±0,76 <sup>**</sup>	44,38±0,63 <sup>**</sup>	29,69±0,51
<b>14</b>	ГТлGe (n=12)	89,54±0,43*** <sup>***</sup>	57,54±0,48*** <sup>***</sup>	39,63±0,59*** <sup>***</sup>
	ГТ (n=12)	70,47±0,37 <sup>***</sup>	46,25±0,47 <sup>***</sup>	34,29±0,48 <sup>***</sup>
<b>30</b>	ГТлGe (n=9)	79,19±0,44* <sup>***</sup>	45,23±0,61* <sup>***</sup>	35,42±0,59*** <sup>***</sup>
	ГТ (n=9)	76,93±0,66 <sup>***</sup>	46,94±0,34 <sup>***</sup>	42,29±0,24 <sup>***</sup>
<b>60</b>	ГТлGe (n=6)	68,92±0,34*** <sup>***</sup>	44,7±0,35*** <sup>***</sup>	33,55±0,76*** <sup>**</sup>
	ГТ (n=6)	80,52±0,36 <sup>***</sup>	51,13±0,42 <sup>***</sup>	38,13±0,48 <sup>***</sup>

**Примітка:** 1) значення p: \* – <0,05; \*\* – <0,01; \*\*\* – <0,001, порівняно з показниками контрольної групи; 2) значення p: • – <0,05; •• – <0,01; ••• – <0,001, порівняно з показниками клінічно здорових тварин.

Кісткова лужна фосфатаза локалізується у цитоплазматичній мембрані остеобластів, генерує позаклітинний неорганічний фосфат і тому вважається біохімічним маркером остеогенезу [26].

В усі терміни досліджень активність bone AP в контрольній і дослідній групах виявилася достовірно вищою (p<0,01–0,001), ніж у клінічно здорових кролів.

У контрольній групі встановлено помірне підвищення (p<0,01–0,001) активності ВАР протягом 30 діб, але її піковий показник (p<0,001) виявлено лише на 60-у добу – 51,13±0,42 од./л репаративного остеогенезу. Проте за остеозаміщення НА/β-ТСР/І-Ge–700 у дослідних кролів пік активності ВАР встановлено вже на 14-у добу – 57,54±0,48 од./л (p<0,001). Причому інтенсивне наростання цієї ензиматичної активності виявлено вже з 7-ї доби, яка в 1,2 раза (p<0,001) була вищою, ніж у контрольних тварин (рис. 7.16).

Отже, динаміка активності ВАР свідчить про більш ранню та більш інтенсивну остеобластичну реакцію у випадку остеозаміщення леговою германієм кальцій-фосфатною керамікою.

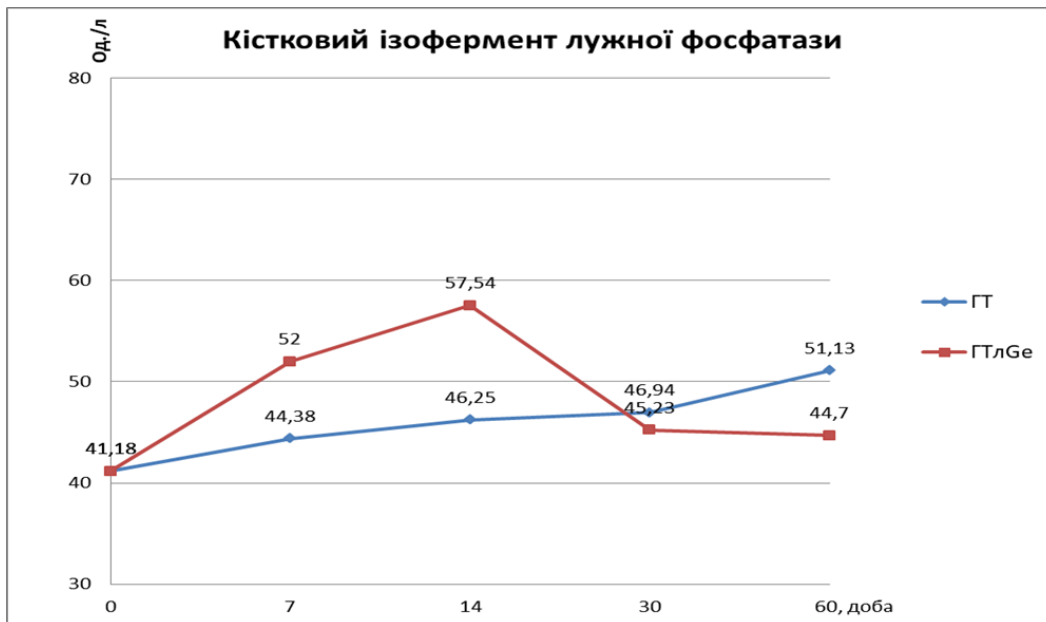


Рис. 7.16. Динаміка активності КіЛФ в сироватці крові кролів за репаративного остеогенезу з використанням різних видів кераміки.

Тартрат-резистентна кисла фосфатаза (tartrate-resistant acid phosphatase, TRAcP) екскретується макрофагами і є лізосомальним ферментом остеокластів, а тому належить до специфічних маркерів кісткової резорбції. У контрольній і дослідній групах її активність виявилася достовірно збільшеною в період 14-, 30- та 60-ої доби репаративного остеогенезу. Причому в дослідній групі пік активності TRAcP спостерігався на 14-у добу –  $39,63 \pm 0,59$  од./л ( $p < 0,001$ ), а в контрольній групі на 30-у добу –  $42,29 \pm 0,24$  од./л ( $p < 0,001$ ) і на 60-у добу залишався ще досить високим –  $38,13 \pm 0,48$  од./л ( $p < 0,001$ ). У всі терміни підвищення активності TRAcP рівень достовірності між її показниками в групах був високим –  $p < 0,001$  (рис. 7.17).

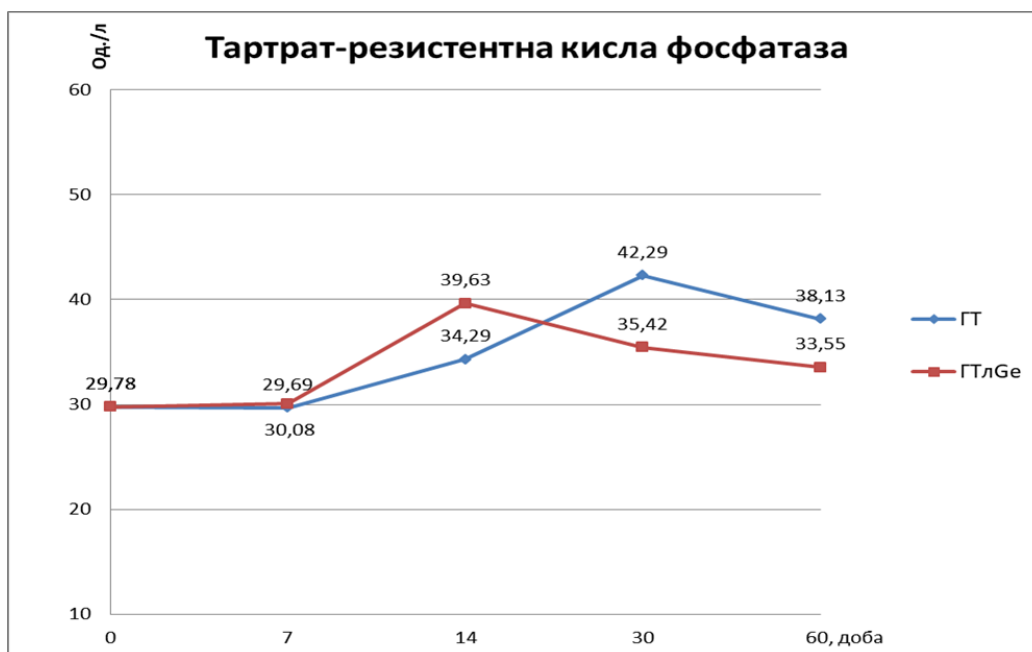


Рис. 7.17. Динаміка рівня TRAcP в сироватці крові кролів за репаративного остеогенезу з використанням легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки.

Оскільки активність TRAcP відображає рівень активності остеокластів, а відповідно і ступінь резорбції кісткової тканини, то встановлена динаміка показників TRAcP свідчить про більш ранню і менш інтенсивнішу остеорезорбцію у дослідній групі за остеозаміщення біоактивною керамікою, легованою германієм.

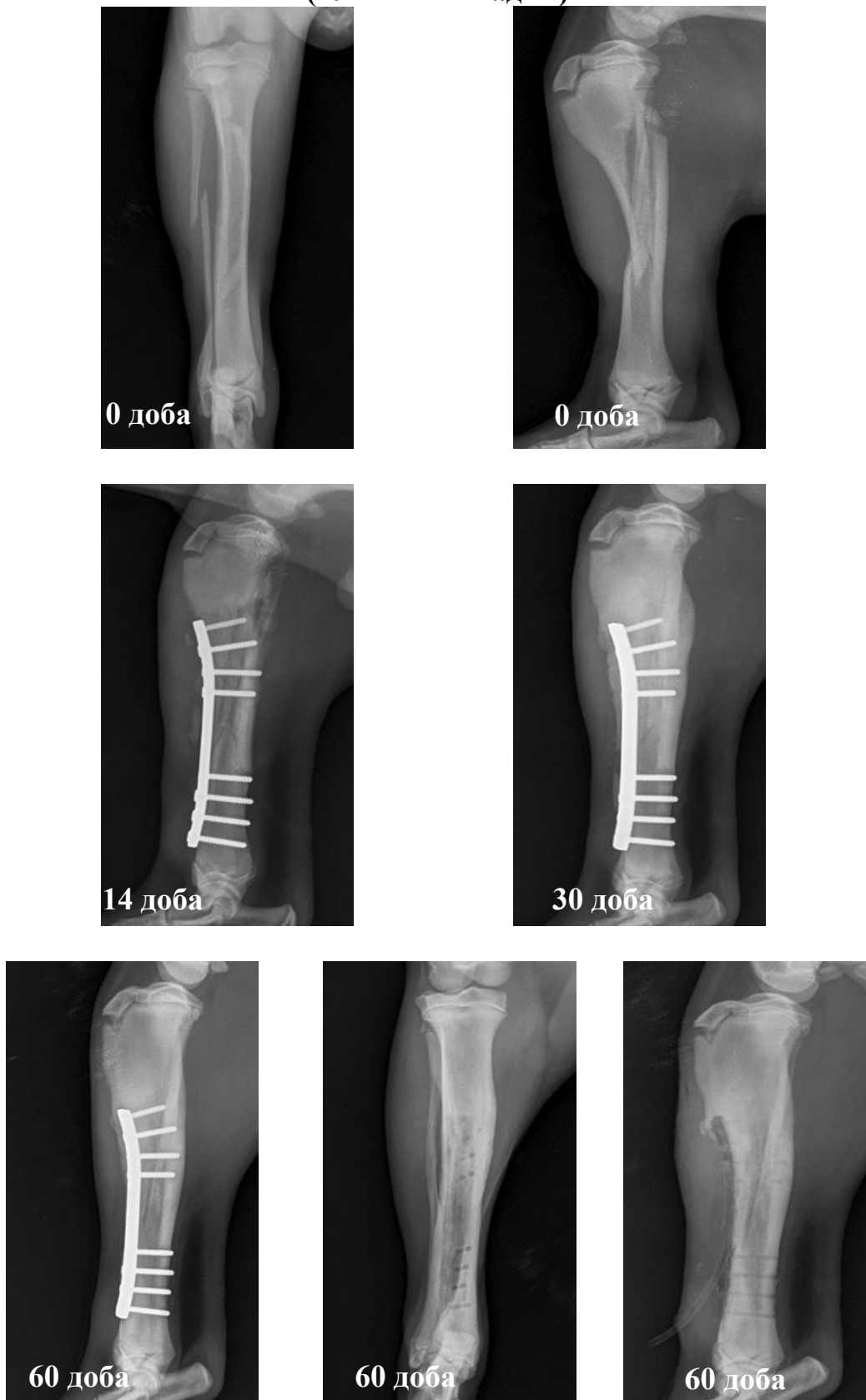
Тобто репаративна регенерація (загоєння кісткового дефекту за вторинним натягом) максимально наближена до фізіологічної регенерації за первинним натягом.

Патохімічним підтвердженням цьому є динаміка біохімічних маркерів кісткового метаболізму. Зокрема, у разі використання ГТлGe-700 збільшення активності КіЛФ досягало пікових значень у період 7–14-ої доби, а активності ТрКФ – на 14-у добу з поступовим її зменшенням у наступні терміни дослідження. Тобто така динаміка активності фосфатаз узгоджувалася з гістоморфологічною картиною репаративного остеогенезу і відображала ранню та інтенсивну остеобластичну реакцію і швидкоплинну запально-резорбтивну фазу.

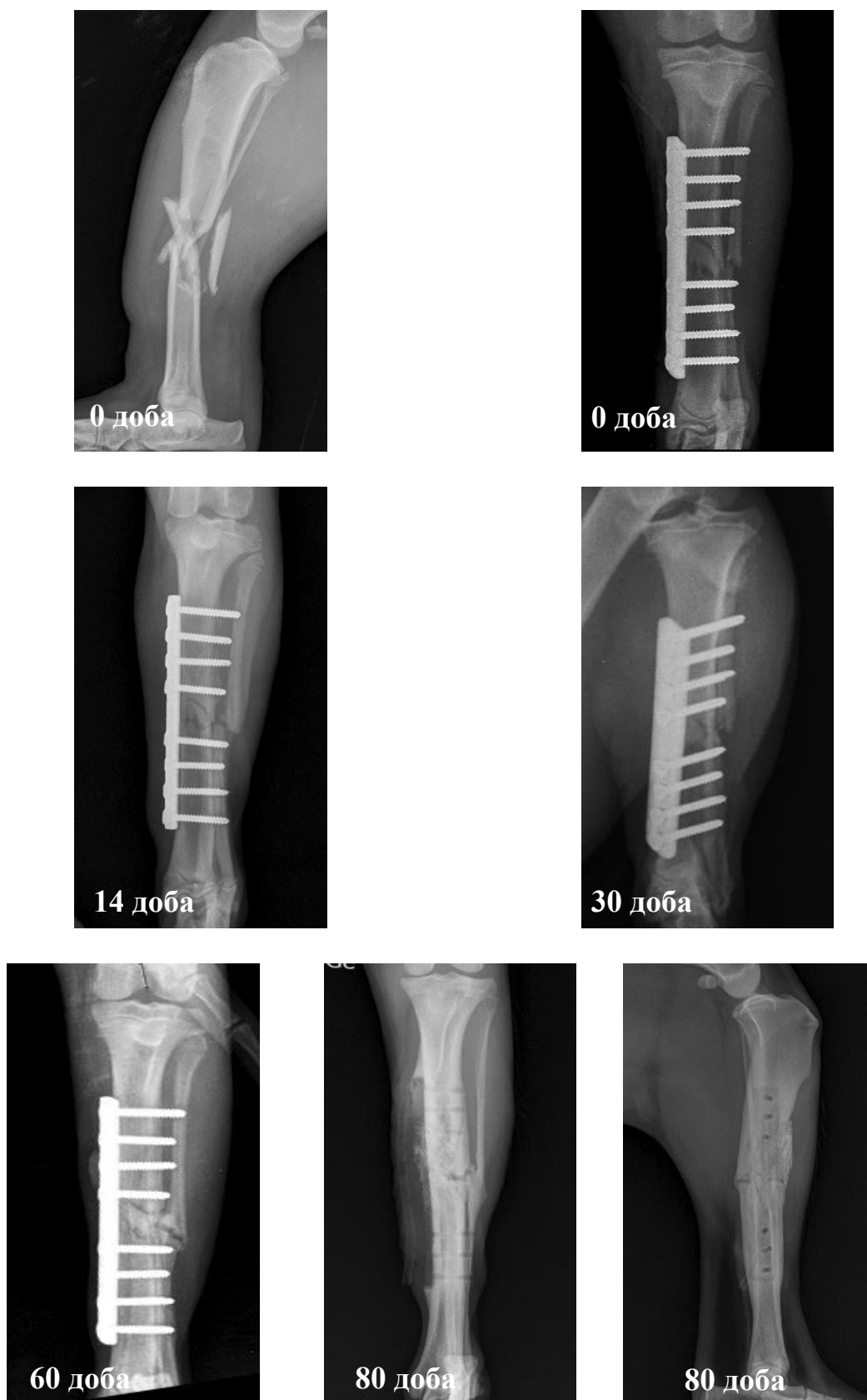
**Висновок.** Динаміка біохімічних маркерів кісткового метаболізму, таких як кістковий ізофермент лужної фосфатази і тартрат-резистентна кисла фосфатаза засвідчує оптимізований перебіг репаративного остеогенезу за остеозаміщення кісткових дефектів легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою. Їх динаміка узгоджується з гістоморфологічною картиною кісткових регенератів, яка засвідчує виражені osteoіндуктивні та osteoінтеграційні властивості ГТлGe-700 за ознаками ранньої остеобластичної реакції з пришвидшеним формуванням у місці кісткового дефекту повноцінної пластинчастої кісткової тканини добре інтегрованої з материнською кісткою. При цьому ГТлGe-700 має помірну біодеградацію. На підставі одержаних результатів досліджень вважаємо, що легована германієм кальцій-фосфатна кераміка може бути перспективною для потреб остеозаміщення у ветеринарній ортопедії.



**РЕНТГЕНОЛОГІЧНА ОЦІНКА ОСТЕОЗАМІЩЕННЯ КАЛЬЦІЙ-ФОСФАТНОЮ КЕРАМІКОЮ, ЛЕГОВАНОЮ ГЕРМАНІЄМ, У СОБАК  
(клінічні випадки)**



**Рис. 8.1. Динаміка загоєння перелому кісток гомілки в собаки за використання легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки (лабрадор, самець, 6 міс., 21 кг, автомобільна травма).**



**Рис. 8.2. Динаміка загоєння перелому стегнової кістки в собаки за використання нелегованої кальцій-фосфатної кераміки (метис німецької вівчарки, самець, 9 міс., 23 кг, автомобільна травма).**

У дослідження включали собак із складними осколковими переломами кісток гомілки, які надходили у міжкафедральну клініку дрібних домашніх тварин факультету ветеринарної медицини Білоцерківського НАУ протягом 2020–2023 років. Травмованих тварин розділили на дослідну (n=10) і контрольну (n=10) групи. Наявність перелому встановлювали за клінічними ознаками та підтверджували рентгенологічно на рентгенапараті РУМ-20. Знімки відцифровували на електронний носій (AGFA. Healthcare N.V. CR 10-X, Німеччина). В подальшому проводили контроль консолідації переломів в динаміці, а саме на 14-, 30-, 60-у добу репаративного остеогенезу.

Анестезіологічне забезпечення за остеосинтезу включало внутрішньо-м'язове введення медетомідину в дозі 20 мкг/кг (Медісон, Бровафарма, Україна), буторфанолу тартрат – 0,1 мг/кг (Бутолар ЗОО, Борщагівський ХФЗ, Україна). Для підтримання анестезії внутрішньовенно тіопентал натрію (7 мг/кг, Тіопенат, Бровафарма, Україна). Епідуральну анестезію виконували 2 % розчином лідокаїну із розрахунку 3 мг/кг.

Оперативний доступ до ділянки перелому виконували з медіальної поверхні кінцівки, нежиттездатні уламки видаляли. У обох групах виконували екстракортикальний остеосинтез опорною пластиною із нелегованої нержавіючої сталі фірми НП ООО „Інмед” (Україна). Тваринам дослідної групи кісткові дефекти заміщували легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою (ГТлGe), контрольної – нелегованою керамікою (ГТ), синтезованою в Інституті матеріалознавства ім. І.М. Францевича (м. Київ). Рану ушивали вузловим швом із застосуванням пасивного дренажу і подальшим його видаленням на 3–4 добу післяопераційного періоду. Тваринам призначали курс антибіотикотерапії (цефтріаксон 20 мг/кг двічі на добу протягом 7 діб).

В післяопераційний період клінічні дослідження проводили за терміном часткового і повного відновлення функції кінцівки та консолідації перелому підтвердженої рентгенологічно.

**Результати дослідження.** Тварини дослідної групи, кісткові дефекти яким заміщували легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою, починали опиратися на травмовану кінцівку вже на 6–10 добу після оперативного втручання, що в 1,3 раза ( $p < 0,001$ ) швидше за відновлення тварин контрольної групи. Повне відновлення функції кінцівки в дослідній групі було швидшим в 1,2 раза ( $p < 0,01$ ) порівняно з контрольними тваринами (15–20 доба післяопераційного періоду). Також у собак, яким імплантували ГТлGe рентгенологічно було встановлено більш ранню консолідацію переломів у 1,4 раза, порівняно із тваринами контрольної групи (табл. 8.1.).

Рентгенологічно в обох групах у місці кісткового дефекту візуалізуються гранули кальцій-фосфатного матеріалу. Проте на 60-у добу репаративного остеогенезу в тварин дослідної групи відмічали виповнення кісткового дефекту регенератом високої рентгенщільності з відсутньою реакцією періосту, що свідчило про повну консолідацію перелому і було підставою для проведення оперативного втручання з видалення засобів фіксації. У контрольних тварин на цей термін дослідження в місці травми відмічали кістковий регенерат неоднорідної структури з відносно низькою рентгенщільністю і значним поширенням періостальної реакції поксимально і дистально від місця травми, як

на великогомілковій, так і малоогомілковій кістках. Також чітко візуалізувалася невивповнена регенератом ділянка дефекту кісткової тканини.

Таблиця 8.1

**Клінічні критерії динаміки консолидації переломів довгих  
трубчастих кісток у собак**

Критерії	Групи	
	ГТЛGe (дослід), доба n=10	ГТ (контроль), доба n=10
Часткове відновлення функції кінцівки	7,9±0,37	10,0±0,3
Повне відновлення функції кінцівки	18,0±0,56	21,2±0,63
Консолидація перелому	58,7±0,47	79,9±0,82

Висновок. Отже, за результатами клініко-рентгенологічного дослідження застосування легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки за переломів кісток гомілки у собак прискорює їх консолидацію завдяки зменшенню інтенсивності запально-резорбтивної стадії та раннього формування інтегрованого кісткового регенерата.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ**

1. Рубленко С.В., Єрошенко О.В. Моніторинг ветеринарної допомоги і структура хірургічної патології серед дрібних домашніх тварин в умовах міської клініки. Вісник Сумського НАУ. Суми, 2012 / Вип. 1 (30). С. 150–154.
2. Використання композитних матеріалів за переломів трубчастих кісток у тварин / М.В. Рубленко та ін. Біла Церква, 2015. 86 с.
3. Хомин Н. М., Мисак А.Р., Дмитрієв В.С. Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. 2015. Т. 17. № 2 (62). С. 259–264.
4. Appendicular fracture repair in dogs using the locking compression plate system: 47 cases / P.J. Naaland et al. Vet. Comp. Orthop Traumatol. 2009. Vol. 4. P. 309–315. DOI:10.3415/VCOT08-05-0044.
5. Бумейстер В.І., Погорелов М.В. Сучасний погляд на репаративний остеогенез. Світ медицини та біології. 2008. № 4. С. 104–110.
6. Dmitrijev V., Khomyn N.M. Frequency of occurrence and peculiarities of bones fracture of the peripheral skeleton in dogs. Scientific Messenger LNUVMB 2017. Vol. 19(82). P. 180–183.
7. DiGirolamo D. J., Clemens T. L., Kousteni S. The skeleton as an endocrine organ. Nature Reviews Rheumatology. 2012. Vol. 8, no. 11. P. 674–683. URL: <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2012.157>
8. Klassifikation und Management des komplexen Beckentraumans / U.T. Bosch et al. Umfallechirurg. 1992. Vol. 95. P. 189–196.
9. Пустовіт Р.В., Данилейко Ю.М., Рубленко М.В. Моніторинг хірургічної патології серед дрібних домашніх тварин ДЛВМ у Київському районі м. Одеси за

2003–2005 роки. Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. Біла Церква, 2006. Вип. 36. С. 132–137.

10. Рубленко М.В., Чемеровський В.О., Власенко В.М., Ульянович Н.В. Оцінка остеоінтеграційних і остеоіндуктивних властивостей кераміки, легованої кремнієм, за модельних переломів стегнової кістки у кролів. Науковий вісник ветеринарної медицини. 2018. № 2. С. 44–53. DOI: 10.33245/2310-4902-2018-144-2-44-53

11. Телятніков А.В. Поширення переломів кісток у собак. Науковий вісник ветеринарної медицини: зб. наук. праць. Біла Церква. 2013. Вип. 11 (101). С. 149–153.

12. Телятніков А.В. Застосування наночасток Mg, Fe, Co, Cu, Zn, Ag за переломів кісток та їх ускладнень у собак: автореф. дис. д-ра вет. наук: 16.00.05. Біла Церква: Білоцерківський НАУ, 2017. 35 с.

13. Киричек С.И. Травматология и ортопедия. Минск: БГМУ, 2002. 131 с. (140 Т).

14. Lopez M., Schachner E. Diagnosis, prevention, and management of canine hip dysplasia: a review. *Veterinary Medicine: Research and Reports*. 2015. P. 181–192. DOI:10.2147/VMRR.S53266

15. Abd El Raouf M., Ezzeldeen S.A., Eisa E. F.M. Bone fractures in dogs: A retrospective study of 129 dogs. *Journal of Veterinary Sciences*. 2019. Vol. 33, no. 2. P. 401–405. URL: <https://doi.org/10.33899/ijvs.2019.163086>

16. INCIDENCE OF FRACTURE IN DOG: A RETROSPECTIVE STUDY / R. Jain et. al. *Veterinary Practitioner*. 2018. Vol. 19. No. 1. P. 63–65

17. Marongiu G., Dolci A., Verona M., & Capone A. The biology and treatment of acute long-bones diaphyseal fractures: Overview of the current options for bone healing enhancement. *Bone Reports*. 2020. 100249. <https://doi.org/10.1016/j.bonr.2020.100249>

18. Рубленко М. В., Андрієць В. Г., Семеняк С. А. Молекулярно-біологічні механізми репаративного остеогенезу. Науковий вісник ветеринарної медицини. 2017. Т 2, № 136. С. 13–21.

19. Evaluation of intramedullary pinning technique for management of tibia fractures in dogs / P. Tarunbir Singh et. al. *The Pharma Innovation Journal*. 2019. Vol. 8(2). P. 291–297.

20. Spontaneous and bilateral necrosis of the femoral head in a young experimental beagle dog / R. Kobayashi et al. *Journal of Toxicologic Pathology*. 2015. Vol. 28, no. 2. P. 121–124. URL: <https://doi.org/10.1293/tox.2014-0060>

21. Rychel J. K. Diagnosis and Treatment of Osteoarthritis. *Topics in Companion Animal Medicine*. 2010. Vol. 25, no. 1. P. 20–25. DOI:10.1053/j.tcam.2009.10.005.

22. Сухонос В.П., Кисельов І.Г. Моніторинг травматизму дрібних домашніх тварин в умовах міста. Вісник ЛНУВМБТ ім. С.З. Ґжицького. 2013. Т. 15. № 3. С. 329–332.

23. Won S., Chung W.J., Yoon J. Clinical application of quantitative computed tomography in osteogenesis imperfecta-suspected cat. *J Vet Sci*. 2017 Sep. Vol. 18(3). P. 415–417. DOI:10.4142/jvs.2017.18.3.415.

24. Sartoris D.J., Resnick D. Dual-energy radiographic absorptiometry for bone densitometry: current status and perspective. *AJR Am J Roentgenol.* 1989. Vol. P. 152:241–246.
25. Giannoudis P., Tzioupis C., Almalki T., Buckley R. Fracture healing in osteoporotic fractures: Is it really different?: A basic science perspective. *Injury* 2007. Vol. 38, Issue 1, Suppl. P. S90-S99. ISSN 0020-1383, DOI:10.1016-/j.injury.2007.02.014
26. Проблеми остеопорозу/за ред. проф. Л.Я. Ковальчука. Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. 446 с.
27. Osteoporosis influences the middle and late periods of fracture healing in a rat osteoporotic model/P.P. Wang et. al. *Chin. J. Traumatol.* 2005. Vol. 8. P. 111–116.
28. The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research/P.P. Lelovas et. al. *Comp Med.* 2008. P. 58(5):424–430.
29. Turner RT. Mice, estrogen, and postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 1999. Vol. 14. P. 187–91.
30. Bradley A., Hasty P., Davis A., Ramirez-Solis R. Modifying the mouse: design and desire. *Biotechnology (N Y).* 1992. Vol. 10. P. 534–9.
31. Oheim R., Schinke T., Amling M., Pogoda P. Can we induce osteoporosis in animals comparable to the human situation? *Injury.* 2016 Jan. Vol. 47 Suppl. 1. P. S3–9. DOI:10.1016/S0020-1383(16)30002-X.
32. Egermann M., Goldhahn J. & Schneider E. Animal models for fracture treatment in osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2005. Vol. 16. P. S129–S138. DOI:10.1007/s00198-005-1859-7.
33. Cortet B. Bone repair in osteoporotic bone: postmenopausal and cortisoneinduced osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2011. Vol. 22. P. 2007–10.
34. Kalu D.N. The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone Miner* 1991. Vol. 15. P. 175–91.
35. Osteoporosis influences the late period of fracture healing in a rat model prepared by ovariectomy and low calcium diet/ T. Kubo et. al. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1999 Mar. Vol. 68(5–6). P. 197–202. DOI:10.1016/s0960-0760(99)00032-1.
36. Chavassieux P. et al. Short-term effects of corticosteroids on trabecular bone remodeling in old ewes. *Bone.* 1997. T. 20. №. 5. С. 451–455.
37. Animal models to explore the effects of glucocorticoids on skeletal growth and structure/C.L. Wood et. al. *Journal of Endocrinology.* 2018. Vol. 236. P. R69-R91. DOI:10.1530/JOE-17-0361.
38. Animal models for glucocorticoid-induced postmenopausal osteoporosis: An updated review / Z. Zhang et al. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 2016. Vol. 84. P. 438–446. DOI:10.1016/j.biopha.2016.09.045.
39. Дедух Н.В., Нікольченко О.А. Регенерація кістки при аліментарному остеопорозі (експериментальне дослідження). *Ортопедия, травматология и протезирование.* 2009. № 2. С. 34–40. УДК 616.71-003.93:546.41:578.08. DOI: <https://doi.org/10.15674/0030-59872009234-40>
40. Гайко В., Бруско А.Т. Теоретические аспекты физиологической и репаративной регенерации костей с позиций системных представлений. *Журнал НАМН України,* 2013. Т. 19, № 4. С. 471–481.

41. Effect of implants of hydroxyapatite with tricalcium phosphates alloyed with Si on histomorphological and biochemical parameters in cases of bone defects of rabbits/ V.O. Chemerovskiy et. al. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2021. Vol. 12. No 2. P. 281–288. Doi: 10.15421/022137
42. Sturmer K.M. Pathophysiology disrupted bone healing. *Orthopaede*. 1996. Vol. 25, № 5. P. 386–393.
43. Dmitrijev V. Features of Dogs Treatment at Fractures of Peripheral Skeleton. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences* 2018. Vol. 20. P. 279-281. <https://doi.org/10.15421/nvlvet8355>
44. Дмитрієв В.С., Хомин Н.М. Частота виникнення та особливості переломів кісток периферичного скелета у собак: навч. посіб. Вип. 19 (82). 180–183. УДК 619:611.7:619:617.089.8:636.7
45. Чемеровський В.О. Рентгенографічна, макроморфологічна і гематологічна оцінка гідроксиапатитної кераміки з різними фізико-хімічними властивостями. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2020. № 1. С. 140–152. DOI: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-140-152
46. Ільницький М.Г., Смурна О.В. Особливості остеогенезу та репаративної регенерації кісток таза у собак. *Вет. медицина України*. 2007. № 7. С. 35–37.
47. Основные направления в разработке и применении биоматериалов в институте имени профессора М. И. Ситенко АМН Украины Н. А. Корж и др: сб. работ 5 научн.-практ. семинара; под ред. проф. А. А. Очкуренко Искусственные материалы в травматологии и ортопедии. М., 2009. С. 48–53.
48. Nakada, Y., Kosaka, T., Kuwabara, M., Tanaka, S., Sato, K., & Koide, F. (1993). Effects of 2-carboxyethylgermanium sesquioxide (Ge-132) as an immunological modifier of post-surgical immunosuppression in dogs. *The Journal of veterinary medical science*, 55(5), 795–799. <https://doi.org/10.1292/jvms.55.79>
49. Труфанов И.И., Миренков К.В., Андрияс И.А., Костная ткань – композиционная основа опорно-двигательного аппарата. *Літопис травматології та ортопедії*. 2014. № 1–2. С. 26–29.
50. Бур'янов О.А., Проценко В.В. Порівняльна характеристика гідроксиапатиту і біокомпозиту – матеріалів для заміщення дефекту кістки після видалення пухлини. *Літопис травматології та ортопедії*. 2014. № 1–2. С. 50-56.
51. Рубленко М.В., Семеняк С.А., Ульянович Н.В. Динаміка біомаркерів репаративного остеогенезу за умов заміщення кісткових дефектів. *Науковий вісник ЛНУВВБТ ім. С.З. Гжицького. Львів, 2014. Т.16. № 3 (60). Ч. 1. С. 287–294.*
52. Effect of low or high dietary calcium on the morphology of therat femur/H. Chen et al. *Histol. Histopathol*. 2002. Vol. 17, No 4. P. 1129–1135.
53. Winkler F. A. Sass, Duda G.N., Schmidt-Bleek K. A review of biomaterials in bone defect healing, remaining shortcomings and future opportunities for bone tissue engineering. *Bone Joint Res*. 2018. Vol. 7. No 3. P. 232–243. doi: 10.1302/2046-3758.73.BJR-2017-0270.
54. Ульянович Н.В. Формування властивостей кальцій-фосфатної кераміки для регенеративної медицини: автореф. дис. ... канд. техн. наук: 05.02.01. Київ, 2020. 27 с.
55. Годосюк Т.П. Рентгено- та макроморфологічна оцінка репаративного остеогенезу за імплантації гідроксиапатитного композиту, легованого германієм.

Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 2. С. 183–194.  
doi:10.33245/2310-4902-2020-160-2-183-194

56. Effect of organic germanium compound (Ge-132) on experimental osteoporosis in rats/ A. Fujii et al. *General Pharmacology: The Vascular System*. 1993. Vol. 24(6). P. 1527–1532. <https://doi.org/10.1007/s10653-017-0061-0>

57. Matthias H.F. Klinger, Wolfgang Jelkmann. Role of Blood Platelets in Infection and Inflammation. *JOURNAL OF INTERFERON & CYTOKINE RESEARCH*. 2002. Vol. 22. P. 913–922. DOI: 10.1089-10799900260286623

58. Лукевиц Э.Я., Гар Т.К., Игнатович Л.М., Миронов В.Ф. Биологическая активность соединений германия. Рига: Знание, 1990. 191 с.

59. Bian D., Zhou W., Den J., Li Y. Development of magnesium-based biodegradable metals with dietary trace element germanium as orthopaedic implant applications. *Acta Biomaterialia*. Dec. 2017. Vol. 64. P. 421–436. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.10.004>.

60. Храбко М., Федорук Р., Долайчук О. Фізіолого-біохімічні процеси в організмі самиць F0 і самців F1 щурів за умов випоювання їм «наногерманію» цитрату і цитрату германію хімічно синтезованого. Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2016. Вип. 73. С. 226–234.

61. Kaplan B.J., Parish W.W., Andrus G.M., Simpson J.S., & Fiel C.J. (2004). Germane facts about germanium sesquioxide: I. Chemistry and anticancer properties. *Journal of alternative and complementary medicine (New York, N.Y.)*, 10(2), 337–344. <https://doi.org/10.1089/107555304323062329>

62. Brutkiewicz R.R., & Suzuki F. (1987). Biological activities and antitumor mechanism of an immunopotentiating organogermanium compound, Ge-132 (review). *In vivo (Athens, Greece)*, 1(4), 189–203.

63. Li L., Ruan T., Lyu Y., Wu B. Advances in Effect of Germanium or Germanium Compound on Animals. *Journal of Biosciences and Medicines*. 2017. Vol. 5. P. 56–73. DOI: 10.4236/jbm.2017.57006

64. Dolaychuk O. P., Fedoruk R. S., Kovalchuk I. I., Kropyvka S. I. Physiological and biochemical processes in the organisms of rats when feeding them with different amounts of germanium citrate. *The Animal Biology*. 2015. Vol. 17. N 2. P. 50–56.

65. Long Q.C., Zeng G.X., Zhao X.L. Pharmacokinetics of germanium after po beta- carboxyethylgermanium sesquioxide in 24 Chinese volunteers. *Zhongguo Yao Li Xue Bao*. 1996. Vol. 17 (5). P. 415–418.

66. Федорук Р. С., Ковальчук І. І., Романів Л. І., Храбко М. І. Вплив цитратів германію та селену на вміст ліпідів і важких металів в організмі медоносних бджіл. *Біологія тварин*. 2014. Т. 16. № 2. С. 141–149.

67. Саханда І. В. Препарати Германію та їх застосування в медицині. *Укр. наук.-мед. молодіж. журнал*. 2014. № 4 (84). С. 83–86.

68. Рубленко М.В., Шаганенко В.С. Патогенетична роль оксиду азоту в умовах запально-репаративного процесу при переломах трубчастих кісток у собак та його корекція Імуном-депо. *Біологія тварин*. 2011. № 1–2, Т. 13. С. 340–346.

69. Inducing angiogenesis with the controlled release of nitric oxide from biodegradable and biocompatible copolymeric nanoparticles/ C. Yang et al. *International Journal of Nanomedicine*. 2018. Vol. 13. P. 6517–6530. doi:10.2147/ijn.s174989



70. The roles of ions on bone regeneration E.O. Neill et al. *Drug discovery today*. 2018. Vol. 23 (4). P. 879–890.
71. Эндопротезы суставов человека: материалы и технологии: монография. Киев: ИСМ им. В.Н. Бакуля НАН Украины.
72. Chim H. Biomaterials in craniofacial surgery: experimental studies and clinical application. *Craniofac. Surg.* 2009. Vol. 20 (1). P. 29–33.
73. Наноматеріали медичного призначення: монографія / І.В. Уварова, П.П. та ін. Київ, 2014. 415 с.
74. Кореньков О. В. Використання біогенних та біоінертних матеріалів у кістково-пластичній хірургії (огляд літератури). *Ортопедия, травматология и протезирование*. 2012. № 4. С. 120–128.
75. Загородько О.В., Антонюк Н. Г., Бурбан А. Ф. Загальна характеристика основних остеозаміщувальних імплантатів для кісткової пластики. *Магістеріум*. 2008. Вип. 33. С. 29–35.
76. Pavlov O., Pastukh V., & Karpinsky M. The problem of using composite biodegradable implants for the treatment of bone fractures (literature review). *TRAUMA*. 2021. Vol. 22(2). 5–16. <https://doi.org/10.22141/1608-1706.2.22.2021.231952>
77. Kornsuthisophon C., Pirarat N., Osathanon T., & Kalpravidh C. Autologous platelet-rich fibrin stimulates canine periodontal regeneration. *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10(1). P. 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58732-x>
78. Platelet-rich plasma: From basic science to clinical applications/ T.E. Foster et al. *American Journal of Sports Medicine*. 2009. Vol. 37(11). P. 2259–2272. <https://doi.org/10.1177/0363546509349921>
79. Shevchenko S. N., Rublenko M. V. Histological characteristics of Platelet-Rich Fibrin clots obtained under various modes of blood centrifugation. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*. 2020. Vol. 22 (99). P. 84–93. doi: 10.32718/nvlvet9914.
80. Ribitsch I., Oreff G. L., & Jenner F. Regenerative medicine for equine musculoskeletal diseases. *Animals*. Vol. 2021. 11(1). P. 1–30. <https://doi.org/10.3390/ani11010234>
81. Current Knowledge and Perspectives for the Use of Platelet-Rich Plasma (PRP) and Platelet-Rich Fibrin (PRF) in Oral and Maxillofacial Surgery Part 2: Bone Graft, Implant and Reconstructive Surgery / A. Simonpieri et al. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2012. Vol. 13, no. 7. P. 1231–1256. <https://doi.org/10.2174/138920112800624472>
82. Hiroshi Kaji. *Interaction between Muscle and Bone*. Japan, Osaka. Kinki University Faculty of Medicine, 2014. 32 p.
83. NF- $\kappa$ B p50 and p52 regulate receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL) and tumor necrosis factor induced osteoblast precursor differentiation by activating c-Fos and NFATc1 T. Yamashita et al. *J. Biol. Chem.* 2007. Vol. 282. No 25. P. 18245–18263.
84. Kohli S.S., Kohli V.S. Role of RANKL–RANK osteoprotegerin molecular complex in bone remodeling and its immunopathologic implications. *Indian J. Endocrinol Metab.* 2011. Vol. 15(3). P. 175–181.

85. Expression of osteoprotegerin, receptor activator of NF-kappaB ligand (osteoprotegerin ligand) and related proinflammatory cytokines during fracture healing/T Kon et al. *J Bone Miner Res.* 2001. Vol. 16(6). P. 1004–14.
86. Рубленко М.В., Мельніков В.В., Ушкалов В.О., Пінчук Н.Г. Цитокіни і білки гострої фази за гнійних ран та застосування імуномодулюючих препаратів у собак. *Науковий вісник ветеринарної медицини.* Вип. 2012. №10 (99). С. 92–98.
87. Gorter D.J., Dinther M., Korchynskyi O., Dijke P. Biphasic effects of transforming growth factor  $\beta$  on bone morphogenetic protein-induced osteoblast differentiation. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2011. Vol. 26(6). P. 1178–1187. doi:10.1002/jbmr.313
88. Bellows C.G., Aubine J.E., Heersche J.N. Physiological concentrations of glucocorticoids stimulate formation of bone nodules from isolated rat calvaria cells in vitro. *Endocrinology.* 1992. Vol. 121. P. 1985–1992.
89. Canalis E., Pereira R.C., Delany A.M. Effects of glucocorticoids on the skeleton *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 2002. Vol. 15, Suppl. 5. P. 1341–1345.
90. Raisz L.G. Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects. *J Clin Invest.* 2005 Dec. Vol. 115(12). P. 3318-25. doi: 10.1172/JCI27071.
91. Dedukh N., & Batura I. Structural-metabolic peculiarities of the bone tissue and reparative osteogenesis in conditions of experimental glucocorticoid-induced osteoporosis (a literature review). *ORTHOPAEDICS, TRAUMATOLOGY and PROSTHETICS.* 2010. Vol. (3). P. 133–138. <https://doi.org/10.15674/0030-598720103133-138>
92. Бенгус Л. М. Ремоделирование губчатой костной ткани при элементарном дефиците кальция и на фоне длительного применения глюкокортикоидов. *Укр. морфол. альманах.* 2003. Т.1, № 1. С. 10–13.
93. Батура И. А., Ашукіна Н.А., Шаповалов А. А. Регенерація кістки при експериментально-індукованому порушенні балансу глюкокортикоїдів у білих лабораторних крис. *Таврич. медико-біол. вісник.* 2004. Т. 7, № 4. С. 134–136.

ОСТЕОЗАМІЩЕННЯ КАЛЬЦІЙ-ФОСФАТНОЮ КЕРАМІКОЮ,  
ЛЕГОВАНОЮ КРЕМНІЄМ І ГЕРМАНІЄМ, ЗА ПЕРЕЛОМІВ  
КІСТОК У ТВАРИН

*Науково-практична монографія*

**Рубленко М.В., Тодосюк Т.П., Чемеровський В.О., Ульянович Н.В.,  
Фірстов С.О., Коломієць В.В.**

Підписано до друку 27.06.2023. Формат 60x90 <sup>1/16</sup>  
Папір офс. Гранітура «Таймс», цифровий друк.  
Ум. друк. арк. 2.6 Наклад 100 прим. Зам. 69.

Друк ФОП Васильєв С.В. св. № 065147  
09100, м. Біла Церква, бул. Олександрійський, 86. тел. 6-32-51