


## ХІРУРГІЯ ТА АНЕСТЕЗІОЛОГІЯ

УДК 636.7.09:616-001.5:666.3

### Динаміка гематологічних показників і реакції гострої фази за остеозаміщення аутофібрином та гідроксиапатитною керамікою з $\beta$ -трикальційфосфатом осколкових переломів кісток у собак

Шевченко С.М. , Рубленко М.В. 

Білоцерківський національний аграрний університет

 E-mail: Шевченко С.М. [svitlana.shevchenko@btsau.edu.ua](mailto:svitlana.shevchenko@btsau.edu.ua); Рубленко М.В. [mykhailo.rublenko@btsau.edu.ua](mailto:mykhailo.rublenko@btsau.edu.ua)



Шевченко С.М., Рубленко М.В. Динаміка гематологічних показників і реакції гострої фази за остеозаміщення аутофібрином та гідроксиапатитною керамікою з  $\beta$ -трикальційфосфатом осколкових переломів кісток у собак. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2022. № 1. С. 188–199.

Shevchenko S., Rublenko M. Dynamics of hematological parameters and acute phase reactions for osteosubstitution by autofibrin and hydroxyapatite ceramics with  $\beta$ -tricalcium phosphate fragmentary bone fractures in dogs. *Nauk. visn. vet. med.*, 2022. № 1. PP. 188–199.

Рукопис отримано: 04.04.2022 р.

Прийнято: 22.04.2022 р.

Затверджено до друку: 24.06.2022 р.

Doi: 10.33245/2310-4902-2022-173-1-188-199

Остеозаміщувальні матеріали вважаються найбільш перспективним напрямом у вирішенні проблеми відновлення регенеративного потенціалу кісткової тканини, особливо осколкових переломів. Однак механізм їх впливу на гістоморфологію кісткових регенеративів і патохімічну фазу репаративного остеогенезу потребують подальшого і всестороннього обґрунтування.

Мета роботи – встановити динаміку гематологічних показників і реакції гострої фази за остеозаміщення гідроксиапатитною керамікою з  $\beta$ -трикальційфосфатом і аутофібрином, збагаченим тромбоцитами, за осколкових переломів кісток у собак.

Сформовано контрольну та дослідні групи тварин, у кожен з яких входили собаки з переломами як плечових, так і кісток передпліччя, які надходили протягом 2019–2021 рр. у клініку дрібних домашніх тварин факультету ветеринарної медицини Білоцерківського НАУ. Після загальної та місцевої анестезії виконували екстраортикальний остеосинтез та заміщення кісткових дефектів: у першій дослідній групі (n=10) аутофібрином, збагаченим тромбоцитами (PRF), у другій (n=10) – його комбінацією з гідроксиапатитною керамікою (PRF + HA/ $\beta$ -TCP–700); у контрольній групі (n=10) дефекти залишали загоюватись під кров'яним згустком. Проби крові для гематологічних і біохімічних досліджень відбирали після травми не пізніше 24-х годин та на 3-ю, 7-, 14-, 21- і 42-у добу після остеосинтезу. У периферичній крові кількість еритроцитів, тромбоцитів і лейкоцитів визначали загальноприйнятими методами, гемоглобін – гемоглобінціанідним. У сироватці крові визначали вміст оксиду азоту (NO) методом Гріна у модифікації Голікова, гаптоглобін – за реакцією з риванолом наборами ПрАТ "Реагент" (Україна) та  $\alpha$ 2-макроглобулін – за К.М. Веремєнком.

Статистичну обробку результатів проводили за програмою Statistica 10 (StatSoft Inc, USA, 2011).

Встановлено, що кісткова травма у собак супроводжується зменшенням у периферичній крові кількості еритроцитів у 1,3 рази ( $p<0,001$ ) та збільшенням в 1,1 рази ( $p<0,05$ ) кількості лейкоцитів з тенденцією до підвищення вмісту гемоглобіну і тромбоцитів, порівняно з показниками клінічно здорових тварин. Після остеосинтезу в усіх групах набував розвитку лейкоцитоз. За остеозаміщення інтенсивність і тривалість лейкоцитарної реакції суттєво зменшувалася.

У першій дослідній групі пік концентрації NO припадав на 21-у добу, за комбінованого остеозаміщення була відмічена фазність її змін, що мала два піки: на 7-у в 1,5 та на 21-у в 1,8 ( $p<0,001$ ) рази більша, порівняно з показниками контрольної групи.

Концентрація гаптоглобіну після кісткової травми у собак збільшувалася в 1,1 раза ( $p < 0,001$ ), порівняно з показником клінічно здорових тварин та сягала свого піку в усіх групах на 3-ю добу ( $p < 0,001$ ). Змін концентрації  $\alpha 2$ -макроглобуліну протягом усього періоду дослідження у групах не виявили.

Комбіноване остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою із фібрином, збагаченим тромбоцитами, забезпечує індукцію ранніх остеогенних процесів за меншої інтенсивності реакції гострої фази за фазними піками оксиду азоту – індуктора ангіогенезу, що свідчить про перспективність остеозаміщення представленими матеріалами у тварин.

**Ключові слова:** оксид азоту, білки гострої фази, репаративний потенціал, тромбоцити.

**Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень.** Переломи кісток у тварин-компаньйонів досить поширена нозологічна група кісткової патології, яка може становити близько 20 % у структурі хірургічних хвороб. Здебільшого вони зумовлені механічними травмами з анатомо-топографічною локалізацією у ділянках стило- і зейгоподія: довгі трубчасті кістки гомілки і передпліччя, стегнова [1–4]. Серед них найбільш складними за біомеханікою, ступенем порушення місцевого кровообігу, втратою кісткової тканини і її регенеративного потенціалу вирізняються осколкові та відкриті переломи. Їх консолідація ускладнюється додатковою травмою великого масиву м'яких тканин, їх розміщенням та просоченням кров'ю з високим ризиком інфікування та розвитку травматичного ендотоксикозу [5]. Формування кісткових дефектів за осколкових переломів зумовлюють технічні складності у проведенні остеосинтезу кісткових уламків. При цьому руйнування первинної фібринової матриці гематоми, втрата осколками кровозабезпечення і наявність кісткових дефектів порушують біологічну програму репаративного остеогенезу, що зумовлює досить суттєвий рівень ускладнень консолідації таких переломів – близько 30 % [6–8].

Великий діастаз між уламками та відсутність біологічної матриці, з одного боку, гальмують міграцію, а з другого, диференціацію і проліферацію прогеніторних остеогенних клітин, які забезпечують фактори росту і кістково-морфогенетичні білки гематоми [9].

У зв'язку з цим як у ветеринарній, так і гуманній ортопедії перспективним за осколкових переломів вважається остеозаміщення, спрямоване на комплексне забезпечення відновлення механізмів остеорепаративних процесів [10, 11].

Остеозаміщувальні матеріали мають характеризуватися низкою властивостей: остеокондуктивними, остеointegraційними, остеoіндуктивними і остеогенними [12, 13]. Нині для

остеозаміщення розробляють і обґрунтовують групи матеріалів, які різняться за походженням, структурою, фізико-хімічними і біологічними властивостями: метали; синтетичні полімери; керамічні, зокрема кальцій-фосфатні; біоскло; біосітали; склокераміка; вуглецеві; колагенові [11, 14].

Проте серед них найбільш перспективними для широкої клінічної практики вважаються кальцій-фосфатні матеріали (гідроксиапатитні композити), оскільки вони за складом найбільш подібні до мінерального компоненту кісткової тканини і мають виражені остеокондуктивні та остеointegraційні властивості, що, як було встановлено нами попередньо [14, 15], залежить від їх фазового складу, величини пор і адсорбційної активності. Включення до складу кальцій-фосфатної кераміки іонів кремнію [14] чи германію [11] до 1–1,5 % зумовлюють її остеoіндуктивність.

Цілком передбачуваним є те, що включення до кальцій-фосфатних матеріалів структурних елементів «природної гематоми» може надати їм суттєвих остеогенних властивостей та відновити процеси репаративного остеогенезу. Це стало можливим завдяки розвитку технологій PRP – Platelet-Rich Plasma, плазма, збагачена тромбоцитами [16–17].

Останні передбачають одержання високої концентрації тромбоцитів у невеликому об'ємі плазми крові і введення в такий спосіб у місце пошкодження факторів росту, які містяться в  $\alpha$ -гранулах тромбоцитів [19, 20].

Фібрин, збагачений тромбоцитами (PRF), також є однією із форм тромбоцитарних концентратів. Його використовують як самостійний компонент, що здатний індукувати регенерацію, так і у комбінації з іншими остеокондуктивними матеріалами [21, 22]. Зокрема, є перші повідомлення про його застосування у ветеринарній стоматології для заміщення дефектів кісткової та м'яких тканин після екстракції чи за імплантування зубів у собак [23, 24], а також у клінічній травматології та

ортопедії за переломів довгих трубчастих кісток [25, 26], що однак потребує подальших досліджень та всебічного обґрунтування.

Попередньо нами [15, 27] за модельного остеозаміщення у кролів було встановлено певну закономірність щодо ступеня впливу різних форм фібрину, збагаченого тромбоцитами, та їх комбінацій з кальцій-фосфатною керамікою на репаративний остеогенез:  $i\text{-PRF} < \text{PRF} < \text{PRF} + \text{ГТ}$  (гідроксиапатит з  $\beta$ -трикальційфосфатом). При цьому PRF суттєво підвищував остеointegraційні характеристики остеозаміщення кальцій-фосфатними імплантатами та зумовлював остеоіндуктивні і остеогенні їх властивості. Це проявлялося у ранній остеобластичній реакції з достатньою щільністю остеоцитів за патохімічного підтвердження меншого рівня гострозапальної остеорезорбції та гострофазної реакції, що засвідчило позитивні результати доклінічного дослідження.

**Мета роботи** – встановити динаміку гематологічних показників і реакції гострої фази за остеозаміщення гідроксиапатитною керамікою з  $\beta$ -трикальційфосфатом і аутофібрином, збагаченим тромбоцитами, за осколкових переломів кісток у собак.

**Матеріал і методи.** Дослідження проведено відповідно до принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей (Official Journal of the European Union L276/33, 2010), а також відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 28.03.2006 р № 27, ст. 230, наказу МОН № 416/20729 від 16 березня 2012 р. «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» та схвалене Етичним комітетом Білоцерківського НАУ (висновок № 2 від 31.05.18 р., протокол № 1).

У дослідження включали собак ( $n=30$ ) із осколковими переломами кісток передпліччя та плечової, які надходили протягом 2019–2021 рр. у клініку дрібних домашніх тварин факультету ветеринарної медицини Білоцерківського НАУ.

Наявність перелому встановлювали за клінічними ознаками та рентгенологічно на рентгенапараті РУМ-20 відповідно до уніфікованих для кісток собак параметрів напруги і експозиції рентгенівських променів. Одержані рентгензнімки відцифровували на електронний носій (AGFA. Healthcare N.V. CR 10-X, Німеччина).

Було сформовано контрольну та дві дослідні групи тварин, у кожному з яких входили пацієнти з переломами як плечових, так і кісток

передпліччя. Критеріями відбору тварин в групи були: термін отримання кісткової травми не більше двох діб, локалізація кісткової травми у ділянці діафіза.

Анестезіологічне забезпечення за остеосинтезу включало внутрішньом'язове введення медетомідину (20 мкг/кг, медісон, Бровафарма), буторфанолу тартрат (0,1 мг/кг, бутолар зоо) та для підтримання анестезії внутрішньовенно тіопенталу натрію (7 мг/кг, тіопенат, Бровафарма). Місцево проводили інфільтраційну анестезію 0,5 % розчином лідокаїну (3 мг/кг).

Оперативний доступ до ділянки перелому виконували на латеральній поверхні плечової кістки та дорсо-латеральній у ділянці передпліччя. Після видалення нежиттєздатних осколків у всіх групах виконували екстракортикальний остеосинтез пластиною із нелегваного титанового сплаву фірми НІ ООО „Ін-мед” (Україна). У контрольній групі ( $n=10$ ) їх залишали загоюватись під кров'яним згустком, у першій дослідній ( $n=10$ ) заміщували аутофібрином, збагаченим тромбоцитами (рис. 1), у другій ( $n=10$ ) – його комбінацією з гідроксиапатитною керамікою, синтезованою в Інституті матеріалознавства ім. І.Н. Францевича (м. Київ) у складі 70 % гідроксиапатиту та 30 %  $\beta$ -трикальційфосфату з розміром гранул  $\approx 700$  мкм і адсорбційною активністю 118–120 мг/г. У операційну рану встановлювали дренаж із поліпропіленової трубки, потім її ушивали вузловим швом. Дренаж знімали на 2–3 добу після припинення виділення серозного ексудату. У післяопераційний період тваринам призначали курс антибіотикотерапії (цефтріаксон 20 мг/кг двічі на добу протягом 7 діб).

Приготування аутологічного фібрину, збагаченого тромбоцитами, проводили за допомогою відбору 5 мл крові з підшкірної вени передпліччя здорової кінцівки у стерильну пробірку без антикоагулянту, яку відразу центрифугували за 3000 об./хв протягом 10 хв і одержували сформований згусток у середній частині пробірки. Стерильними ножицями відрізали згусток від еритроцитарної маси. На підставі власних результатів гістоморфологічних досліджень фібринових згустків [28] використовували їх нижню частину. В другій дослідній групі спочатку в місце дефекту вносили гранули гідроксиапатиту з  $\beta$ -трикальційфосфатом, а поверх них згусток фібрину, збагачений тромбоцитами.

Проби крові для гематологічних і біохімічних досліджень відбирали після травми не пізніше 24-х годин та на 3-, 7-, 14-, 21- і 42-у добу після остеосинтезу.



Оскільки для зазначених біохімічних показників немає референтних показників, то додатково сформувавши групу із клінічно здорових собак ( $n=10$ ), які надходили в клініку дрібних домашніх тварин Білоцерківського НАУ для проведення планової вакцинації, у яких за згодою власників відбирали зразки крові.

Кількість у периферичній крові еритроцитів, тромбоцитів і лейкоцитів визначали загальноприйнятими методами, гемоглобін – гемоглобінціанідним.

У сироватці крові визначали вміст оксиду азоту (NO) методом Гріна [29] у модифікації Голікова [30], гаптоглобін – за реакцією з риванолом наборами ПрАТ "Реагент" (Україна) та  $\alpha 2$ -макроглобуліну – за К.М. Веремеєнком зі співавт. [31]. Вимірювання проводили спектрофотометром Stat Fax 4500.

Статистичну обробку результатів проводили за програмою Statistica 10 (StatSoft Inc, USA, 2011). Дані у таблицях представлені у вигляді  $x \pm SD$  ( $x \pm$ відхилення). Між групами відмінності визначали за допомогою ANOVA,  $p < 0,05$  вважались достовірними (з урахуванням поправки Бонферроні).

**Результати дослідження. Гематологічні дослідження.** Внаслідок травми з порушенням цілісності кісток одночасно пошкоджуються і навколишні тканини, які їх оточують: м'язи, судини, сухожилки. При цьому їх додаткове

пошкодження зумовлюють і кісткові уламки. Це спричинює запуск локальних і системних механізмів, які між собою досить тісно взаємодіють. Водночас кровотеча зумовлює запуск каскаду коагуляційних процесів і, як наслідок, формується кров'яний згусток між кістковими уламками. Гемостаз тісно пов'язаний із розвитком запальної реакції та здатний активувати лейкоцитоз, коагуляцію і каскадні реакції у системі комплементу. Може виникати не лише дезорганізація мікроциркуляції у тканинах, а й системне порушення гемодинаміки. Це зумовлює необхідність оцінки реакції крові.

Встановлено (табл. 1), що кісткова травма у собак супроводжується зменшенням у периферичній крові кількості еритроцитів у 1,3 раза ( $p < 0,001$ ) та збільшенням в 1,1 раза ( $p < 0,05$ ) кількості лейкоцитів з тенденцією до підвищення вмісту гемоглобіну і тромбоцитів, порівняно з показниками клінічно здорових тварин. Водночас кількість лейкоцитів виявилася збільшеною в 1,1 раза ( $p < 0,05$ ), що, ймовірно, насамперед зумовлено реакцією мобілізації депонованого (пристінкового) пулу нейтрофілів. Це пов'язано з крововиливом у ділянці перелому та перерозподілом лейкоцитів із пристінкового депо. В наступні терміни дослідження динаміка зазначених гематологічних показників мала певні відмінності в групах.

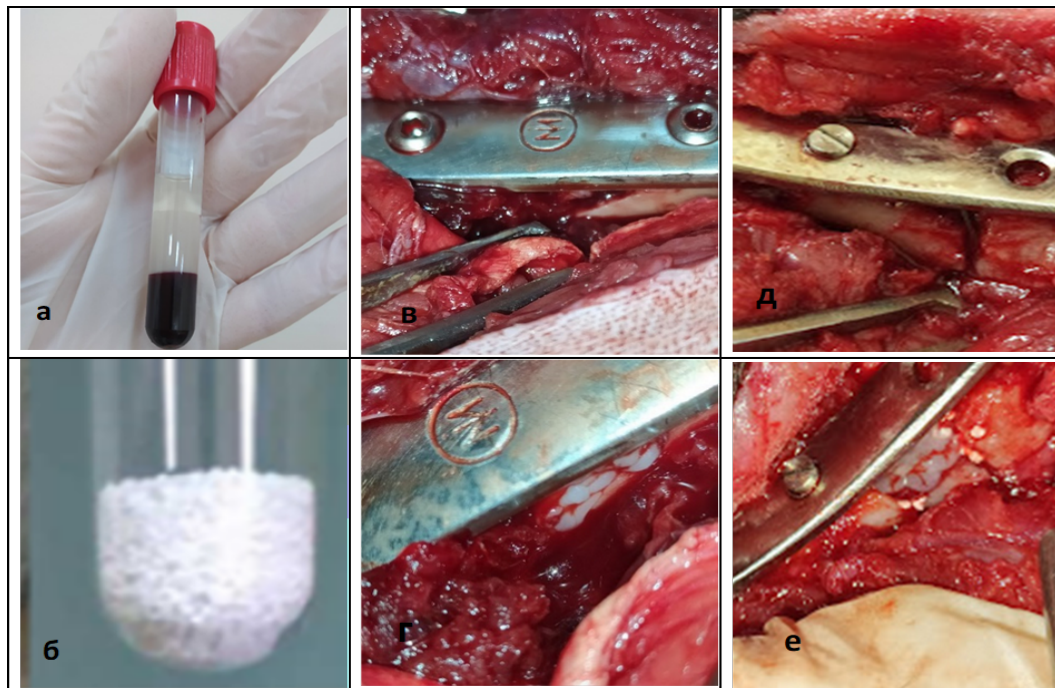


Рис. 1. Фібрин, збагачений тромбоцитами (а), гранули гідроксиапатиту з  $\beta$ -трикальційфосфатом (б), кісткові дефекти (в, д). Макроморфологічна картина заміщення кісткових дефектів у першій дослідній групі (г), у другій дослідній групі (е).

На 3-ю і 7-у добу у всіх групах спостерігали зменшення кількості еритроцитів, що у 1,3–1,4 раза ( $p < 0,001$ ) була нижчою за показник клінічно здорових тварин. Проте вже з 7-ї доби в групах остеозаміщення намітилася тенденція до її підвищення, а в 1-й дослідній групі вона навіть виявилася більшою в 1,1 раза ( $p < 0,05$ ), ніж у контрольній. Надалі вона поступово відновлювалася, що більш динамічно відбувалося в дослідних групах.

У тварин цих груп кількість еритроцитів була достовірно більшою ( $p < 0,05$ ), ніж у контрольних, і вже на 21-у добу досягала нижньої межі фізіологічної норми (5–8,5 Т/л).

Водночас, коливання концентрації гемоглобіну відбувалися в межах фізіологічної норми (110–170 Г/л), у дослідних групах вона виявилася навіть дещо вищою.

Після остеосинтезу в усіх групах набував розвитку лейкоцитоз. На 3-ю добу кількість лейкоцитів у дослідних групах збільшувалася в 1,4–1,5 раза ( $p < 0,01$ ), порівняно з клінічно здоровими тваринами, у контрольній в 1,7 раза ( $p < 0,001$ ), у яких вона утримувалася на цьому піку до 14-ї доби.

При цьому з 14-ї доби в обох дослідних групах відбувалось динамічне зниження вміс-

ту в крові лейкоцитів в 1,5 раза ( $p < 0,001$ ) порівняно з показниками контрольної групи. Їх рівень вже на 21-у добу був у межах фізіологічної норми, тимчасом у контрольній – лише на 42-у добу. Тобто остеозаміщення суттєво зменшує інтенсивність і тривалість лейкоцитарної реакції.

Водночас зміни кількості тромбоцитів відбувалися у межах фізіологічної норми (220–550 Г/л), хоча в період 14-ї доби вона у 2-й дослідній групі була меншою в 1,2 раза ( $p < 0,05$ ), ніж у контрольній.

**Біохімічні дослідження.** NO – це індуктор ангиогенезу, що продукується в клітинах кісткового мозку, макрофагах, нейтрофілах, моноцитах та еозинофілах індукцибельною формою NO-синтази [32]. Встановлено, що протягом 48 год після травми рівень NO (табл. 2.) підвищувався в 1,2 раза ( $p < 0,001$ ), що відображало перебіг запально-резорбтивних явищ у ранній посттравматичний період. У контрольній групі максимальну концентрацію NO у сироватці крові реєстрували на 3-ю добу, яка у 1,5 ( $p < 0,001$ ) раза була вищою за показники клінічно здорових тварин, а далі відмічали поступове її зниження. Вже з 14-ї доби вона досягла рівня фізіологічної норми.

Таблиця 1 – Динаміка гематологічних показників за остеозаміщення у собак

Показник	Група	Клінічно здорові (n=10)	Після травми (n=30)	3-я доба	7-а доба	14-а доба	21-а доба	42-а доба
Еритроцити, Т/л	I	5,9±0,16	4,61±0,098***	4,3±0,09***	4,36±0,09***	4,5±0,12***	4,59±0,07***	4,79±0,06***
	II			4,5±0,16***	4,71±0,14***	4,88±0,19**	5,1±0,18***	5,2±0,18**
	III			4,41±0,097***	4,57±0,15***	4,87±0,11**	5,13±0,12***	5,1±0,13**
Лейкоцити, Г/л	I	9,38±0,25	10,42±0,396*	15,4±0,84***	16,29±0,74***	16,3±0,82***	12,65±1,03*	10,7±0,68
	II			12,7±0,83***	13,95±0,77***	10,6±0,56***	10,06±0,11**	8,92±0,18*
	III			14,7±0,92***	13,6±1,12**	11,1±0,8***	9,2±0,45*	8,6±0,35*
Тромбоцити, Г/л	I	324±31,87	395±21,63	482±28,72*	496±36,76*	518±21,44***	444±21,95**	435±24,98*
	II			447±25,2*	497±20,6***	497±31,2**	441±23,02*	447±35,08*
	III			446±41,8*	457±19,6*	418±13,77***	408±19,44	453±36,5*
Гемоглобін, Г/л	I	127,8±4,04	132,29±3,096	115,8±4,93	118,0±3,15	121,8±3,75	131,6±7,87**	126,9±3,39*
	II			119,8±2,9	129,2±1,45**	132,7±1,86*	135,5±3,18	137,2±4,08
	III			118,1±4,42	123,0±4,03	129,8±3,05	136,3±3,8	134,3±2,47

**Примітки:** 1) I – контрольна, II – перша дослідна, III – друга дослідна групи;

2) значення P: \* –  $< 0,05$ ; \*\* –  $< 0,01$ ; \*\*\* –  $< 0,001$ , порівняно з показниками контрольної групи; • –  $< 0,05$ ; \*\* –  $< 0,01$ ; \*\*\* –  $< 0,001$ , порівняно до показників клінічно здорових тварин.

Водночас у дослідних групах виявили деякі відмінності. Зокрема, за остеозаміщення кісткових дефектів фібрином, збагаченим тромбоцитами, з 7-ї доби реєстрували динамічне зростання показників NO з піком на 21-у добу. При цьому його вміст у сироватці крові виявився більшим у 1,6 ( $p < 0,001$ ) раза за показник контрольної групи та в 1,7 раза ( $p < 0,001$ ) – у клінічно здорових тварин.

У 2-й дослідній групі динаміка вмісту NO у сироватці крові була подібною, проте мала два піки концентрації цього ендотеліального маркера: на 7-у в 1,5 та на 21-у в 1,8 ( $p < 0,001$ ) раза вища за показники контрольної групи. Це може бути свідченням раннього ангиогенезу в разі заміщення кісткових дефектів аутофібрином, збагаченим тромбоцитами, з гранулами гідроксиапатиту та  $\beta$ -трикальційфосфатом.

Гаптоглобін – білок гострої фази, вміст якого у крові збільшується під час запалення. Його концентрація після кісткової травми у собак збільшувалася в 1,1 раза ( $p < 0,001$ ), порівняно з показником клінічно здорових тварин, та сягала свого піку в усіх групах на 3-ю добу ( $p < 0,001$ ). Далі відмічали поступове її зниження у сироватці крові, проте навіть на 42-добу рівень цього білка гострої фази все ще був достовірно підвищеним в 1,2 раза ( $p < 0,001$ ), порівняно з показником клінічно здорових тварин. Водночас достовірних відмінностей між групами не встановлено.

$\alpha 2$ -макроглобулін регулює активність більшості протеїназ і бере участь в імунологічних реакціях та метаболізмі сполучної тканини. Він обмежує деструктивну дію протеолітичних ферментів щодо сполучнотканинних матриксів. За репаративного остеогенезу змін концентрації  $\alpha 2$ -макроглобуліну (табл. 2.) протягом усього періоду дослідження у групах не встановлено. Це свідчить, з одного боку, про відсутність реактивних змін під впливом цитокінів, а з іншого про те, що його нормальний рівень забезпечує інгібіторний потенціал сироватки крові.

Отже, за остеозаміщення динаміка гематологічних показників засвідчує про меншу інтенсивність запальних реакцій та супроводжується вищими концентраціями в крові NO, що свідчить про ранній ангиогенез.

**Обговорення.** Процес відновлення пошкодженої кістки складний, проте, на відміну від інших тканин, завершується формуванням кісткової тканини ідентичної до здорової [14, 33]. Остеозаміщення – загально визнаний напрям у вирішенні проблеми відновлення дефектів кісткової тканини. Однак, за великого вибору остеозаміщувальних матеріалів залишається відкритим питання щодо їх властивостей, зокрема, ступенів остеоіндуктивності, остеоіндуктивності та здатності до остеоінтеграції [13, 14, 38].

Таблиця 2 – Динаміка реактантів гострої фази за остеозаміщення осколкових переломів у собак

Показник	Група	Клінічно здорові (n=10)	Після травми (n=30)	3-я доба	7-а доба	14-а доба	21-а доба	42-а доба
Оксид азоту, мкмоль/л	I	26,72±0,93	32,56±0,71***	40,05±1,72***	35,05±0,99***	28,73±1,43	28,68±2,1	27,24±1,27
	II			28,88±1,05***	39,86±1,64***	44,98±2,02***	45,8±2,28***	42,16±1,54***
	III			29,58±2,14**	51,4±1,48***	44,85±3,91***	50,3±2,99***	47,23±2,23***
Гаптоглобін, Г/л	I	1,5±0,02	1,71±0,02***	1,9±0,03***	1,87±0,02***	1,85±0,03***	1,81±0,03***	1,79±0,03***
	II			1,91±0,03***	1,85±0,03***	1,84±0,03***	1,83±0,03***	1,76±0,04***
	III			1,89±0,02***	1,87±0,03***	1,8±0,03***	1,74±0,04***	1,76±0,06***
$\alpha 2$ -макроглобулін, Г/л	I	2,17±0,07	2,07±0,05	2,28±0,04	2,17±0,03	2,14±0,03	2,15±0,02	2,17±0,05
	II			2,2±0,02	2,18±0,03	2,19±0,05	2,18±0,03	2,16±0,02
	III			2,2±0,04	2,16±0,05	2,17±0,05	2,16±0,02	2,17±0,02

**Примітки:** 1) I – контрольна, II – перша дослідна, III – друга дослідна групи;

2) значення P: \* –  $< 0,05$ ; \*\* –  $< 0,01$ ; \*\*\* –  $< 0,001$ , порівняно з показниками контрольної групи; • –  $< 0,05$ ; \*\* –  $< 0,01$ ; \*\*\* –  $< 0,001$ , порівняно до показників клінічно здорових тварин.

Більшість матеріалів для остеозаміщення характеризуються переважно лише остеокондуктивністю, що суттєво покращує біомеханіку ділянки травми та формує каркас для остеогенних клітин. Однак за великих об'ємів остеозаміщення міграція остеопрогеніторних клітин також тривала у часі. З іншого боку, будь-який імплант необхідно оцінити за реакцією системи крові.

Тим більше, що для досягнення всіх властивостей кісткової тканини остеозаміщувальних матеріалів пропонуються і біологічні – стовбурові клітини, кісткові морфогенетичні білки, фактори росту [5, 7, 25].

При цьому найбільш простими і економічними в цьому значенні є продукти PRP-технологій [11, 14, 16, 17].

На сьогодні відомо поєднання кераміки на основі гідроксиапатиту і  $\beta$ -трикальційфосфату з аутофібрином, збагаченим тромбоцитами, оскільки при цьому кераміка набуває здатності до остеоіндукції завдяки дії низки факторів росту, локалізованих у  $\alpha$ -гранулах тромбоцитів [15]. Проте клініко-експериментальні матеріали накопичені в останні роки хоч і свідчать про позитивний вплив PRF на репарацію тканин, зокрема і кісткової, однак його одержують за різними технологіями, а його застосування немає достовірного патохімічного обґрунтування, особливо у цільових тварин [21, 28].

Гідроксиапатитна кераміка виконує функцію матриці, яка має остеокондуктивні властивості. Водночас фібрин, збагачений тромбоцитами, здатний відновлювати регенеративний потенціал кісткової тканини завдяки індукції процесів ангиогенезу, адгезії, хемотаксису і міграції стовбурових клітин, проліферації і диференціювання [34], що насамперед сприяє відновленню живлення у ділянці кісткового дефекту.

Динаміка гематологічних показників крові в представленому дослідженні не виходила за межі закономірностей, встановлених попередніми авторами [11, 35]. При цьому спостерігаються менш виражені зміни кількостей еритроцитів і лейкоцитів, які за кісткової травми зменшуються чи збільшуються під впливом прозапальних цитокінів [35–37]. Тобто, остеозаміщення в обох випадках супроводжується більш помірною запальною реакцією.

Продукція колагену I типу значною мірою залежить від оксигенації в ділянці кісткової травми. Піки NO у дослідних групах засвідчують ранні процеси ангиогенезу, оскільки оксид азоту індукує їх через експресію клітинами ен-

дотелію інтерлейкінів та інтегринів, що забезпечує формування сітки судинних каналців у зоні кісткової травми. Попередні дослідження [29, 36, 37] також свідчать про позитивний вплив донаторів NO на мікроциркуляцію, завдяки посиленню синтезу тканинного активатора плазміногену в крові.

Концентрація гаптоглобіну в сироватці крові характеризує реакцію гострої фази. Його підвищений рівень за репаративного остеогенезу може свідчити як про перебіг запально-резорбтивних процесів, так і про посилення цитокінової активності, пов'язаної з ендотеліальною реактивністю [39].

Відсутність змін концентрації  $\alpha$ 2-макроглобуліну, зумовлена відсутністю значних реактивних змін під впливом цитокінів, адже він бере активну участь в регуляції протеолітичних ферментів системи зсідання крові, кінінової системи та фібринолізу, має важливе значення в імунологічних реакціях, клітинному рості, диференціації, метаболізмі сполучної тканини, модуляції активності різних цитокінів, регуляції синтезу оксиду азоту макрофагами [31].

Отже, заміщення кісткових дефектів керамікою на основі гідроксиапатиту і  $\beta$ -трикальційфосфату з аутофібрином, збагаченим тромбоцитами, не спричинюють значного системного впливу на організм, забезпечують менш інтенсивний прояв запально-резорбтивної фази та сприяють ранньому ангиогенезу.

**Висновки.** Комбіноване остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою із фібрином, збагаченим тромбоцитами, забезпечує індукцію ранніх остеогенних процесів за меншої інтенсивності реакції гострої фази за фазними піками оксиду азоту – індуктора ангиогенезу, що свідчить про перспективність остеозаміщення представленими матеріалами у тварин.

**Відомості про дотримання біоетичних норм.** Дослідження проведено відповідно до принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей (Official Journal of the European Union L276/33, 2010), а також відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 28.03.2006 р. № 27, ст. 230, наказу МОН № 416/20729 від 16 березня 2012 р. «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» та схвалене Етичним комітетом Білоцерківського НАУ (висновок № 2 від 31.05.18 р., протокол № 1).

**Відомості про конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.



## СПИСОК 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. 2012. Вип. 1(30). С. 150–154. URL: [nbuv.gov.ua/UJRN/Vsna\\_vet\\_2012\\_1\\_44](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vsna_vet_2012_1_44)
2. Abd El Raouf M., Ezzeldein 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.
3. Incidence of fracture in dog: a retrospective study/R. Jain et al. *Veterinary Practitioner*. 2018. Vol. 19. no. 1. P. 63–65.
4. 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.
5. Еманов А. А., Марченкова Л. О. Рентгенологическая динамика формирования костного сращения при лечении переломов предплечья у собак методом чрескостного остеосинтеза. Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2010. № 4 (8). С. 17–25.
6. 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. DOI:10.1016/j.bonr.2020.100249
7. Outcome of nonunion fractures in dogs treated with fixation, compression resistant matrix, and recombinant human bone morphogenetic protein-2 / A. M. Massie et al. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*. 2017. Vol. 30. no. 2. P. 153–159. DOI:10.3415/VCOT-16-05-0082
8. Dülgeroglu T. C., Metineren H. Evaluation of the effect of platelet-rich fibrin on long bone healing: An experimental rat model. *Orthopedics*. 2017. Vol. 40. no. 3. P. 479–484. DOI:10.3928/01477447-20170308-02
9. Principles of Regenerative Medicine /Atala A. et al. 3-edn, Academic Press. 2019. DOI:10.1016/B978-0-12-809880-6.00043-6
10. The Effects of nano hydroxyapatite and nano hydroxyapatite doped by magnesium on fracture healing in dogs/S. M. Sallam et al. *Benha Veterinary Medical Journal*. 2020. Vol. 38. P. 47–51.
11. Тодосюк Т.П. Рентгено- та макроморфологічна оцінка репаративного остеогенезу за імплантації гідроксиапатитного композиту, легovanого германієм. *Наук. вісник вет. медицини: зб. наук. праць*. 2020. № 2. С. 183–194. DOI:10.33245/2310-4902-2020-160-2-183-194
12. Li Z., Müller R., Ruffoni D. Bone remodeling and mechanobiology around implants: Insights from small animal imaging. *Journal of Orthopaedic Research*. 2018. Vol. 36. no. 2. P. 584–593. DOI:10.1002/jor.23758
13. Wang W., Yeung K. W. K. Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review. *Bioactive Materials*. 2017. Vol. 2. no. 4. P. 224–247. DOI:10.1016/j.bioactmat.2017.05.007
14. Рубленко М.В., Чемеровський В.О., Власенко В.М., Ульянович Н.В. Оцінка остеointegraційних і остеоіндуктивних властивостей кераміки, легованої кремнієм, за модельних переломів стегнової кістки у кролів. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2018. № 2. С. 44–53. DOI:10.33245/2310-4902-2018-144-2-37-46
15. Шевченко С.М., Рубленко М.В., Ульянович Н.В., Клименко П. П. Гістоморфологічна характеристика остеозаміщення у кролів гідроксиапатитною керамікою та фібрином, збагаченим тромбоцитами. *Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького*. Серія: Ветеринарні науки. 2021. Т. 23. № 102. С. 43–52. DOI:10.32718/nvlvet10207
16. 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. DOI:10.2174/138920112800624472
17. Ribitsch I., Oreff G. L., Jenner F. Regenerative medicine for equine musculoskeletal diseases. *Animals*. 2021. Vol. 11. no. 1. P. 1–30. DOI:10.3390/ani11010234
18. Platelet-rich plasma to treat experimentally-induced skin wounds in animals: A systematic review and meta-analysis/A.M. Tambella et al. *PLoS ONE*. 2018. Vol. 13. no 1. P. 1–26. DOI:10.1371/journal.pone.0191093
19. Platelet-rich plasma: From basic science to clinical applications/T.E. Foster et al. *American Journal of Sports Medicine*. 2009. Vol. 37. no. 11. P. 2259–2272. DOI:10.1177/0363546509349921
20. Khalaf F. H., Salih S. I. Clinical and Histopathological Evaluation of Using Platelet-Rich Plasma and Platelet-Rich Fibrin Matrix in Treatment of Induced Chronic Open Wounds in Bucks. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018. Vol. 11. no. 5. DOI:10.22159/ajpcr.2018.v11i5.24105
21. Guidelines for the publication of articles related to platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma - PRP, or Platelet-Rich Fibrin - PRF): the international classification of the POSEIDO/D.M. Ehrenfest et al. *POSEIDO*. 2013. Vol. 1. no. 1. P. 17 – 27.
22. Impact of incubation method on the release of growth factors in non-Ca<sup>2+</sup>-activated PRP, Ca<sup>2+</sup>-activated PRP, PRF and A-PRF/ D. Steller et al. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2019. Vol. 47. no. 2. P. 365–372. DOI:10.1016/j.jcms.2018.10.017
23. The synergistic effect of leukocyte platelet-rich fibrin and micrometer/nanometer surface texturing on bone healing around immediately placed implants: An experimental study in dogs/R.F. Neiva et al. *BioMed Research International*. 2016. DOI:10.1155/2016/9507342
24. Kornuthisophon C., Pirarat N., Osathanon T., Kalpravidh C. Autologous platelet-rich fibrin stimulates canine periodontal regeneration. *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10. no. 1. P. 1–14. DOI:10.1038/s41598-020-58732-x
25. Thanoon M. G., Eesa M. J., Abed E. R. Effects of platelets rich fibrin and bone marrow on the



healing of distal radial fracture in local dogs: Comparative study. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 2019. Vol. 33. no. 2. P. 419–425. DOI:10.33899/ijvs.2019.163169

26. Salih S. I., Al-Falahi N. H., Saliem A. H., Abed-salih A. N. Effectiveness of platelet-rich fibrin matrix treated with silver nanoparticles in fracture healing in rabbit model. *Veterinary World*. 2018. 11 (7). P. 944–952. DOI:10.14202/vetworld.2018.944-952

27. Шевченко С. М. Динаміка гематологічних показників, макроморфологічна і рентгенологічна картини репаративного остеогенезу в кролів за використання тромбоцитарних концентратів та гідроксиапатитної кераміки. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2020. № 1. С. 153–164. DOI: 333245/2310-4902-2020-154-1-153-164

28. Шевченко С. М., Рубленко М. В. Гістологічна характеристика згустків фібрину, збагачених тромбоцитами і одержаних за різних режимів центрифугування крові. *Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*. 2020. Т. 22. № 99. С. 84–93 DOI:10.32718/nvlvet9914

29. Grand F., Guitton J., Goudable J. Optimization of the measurement of nitrite and nitrate in serum by the Griess reaction. *Ann. Biol. Clin. (Paris)*. 2001. Vol. 59. P. 559–565.

30. Голиков П. П. Оксид азота в клинике неотложных заболеваний. *Медпрактика*. 2004. 180 с.

31. Веремеенко К. Н., Голобородько О.П., Кизим О.И. Протеолиз в норме и при патологии. *Київ: Здоров'я*, 1988. 200 с.

32. Danylovyh G. V., Bohach T. V., Danylovyh Y. V. The biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. Nitric oxide formation features and its functional role in mitochondria. *Ukr. Biochem*. 2018. Vol. 90. no 1. P. 3–24. DOI:10.15407/ubj90.01.003

33. Hu C., Ashok D., Nisbet D. R., Gautam V. Bioinspired surface modification of orthopedic implants for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 2019. DOI:10.1016/j.biomaterials.2019.119366

34. Crisci A., De Crescenzo U., Crisci M. Platelet-rich concentrates (L-PRF, PRP) in tissue regeneration: Control of apoptosis and interactions with regenerative cells. *Journal of Clinical and Molecular Medicine*. 2018. Vol. 1. no. 3. P. 1–5.

35. 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

36. 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.

37. Шаганенко В.С. Клініко-патогенетична роль оксиду азоту та корекція його рівня за хірургічної патології запального генезу в тварин різних видів: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.05. Біла Церква, 2012. 23 с.

38. Kattimani V. S., Kondaka S., Lingamaneni K. P. Hydroxyapatite-Past, Present, and Future in Bone

Regeneration. *Bone and Tissue Regeneration Insights*. 2016. Vol. 7. DOI:10.4137/btri.s36138

39. Sadrzadeh S. M., Bozorgmehr J. Haptoglobin phenotypes in health and disorders. *Am J Clin Pathol*. 2004. 121 (1). P. 97–104. DOI:10.1309/8GLX5798Y5XHQ0VW.

## REFERENCES

1. Rublenko, S.V., Yeroshenko, O.V. (2012) *Monitorynh veterynarnoi dopomohy i struktura khirurhichnoi patolohii sered dribnykh domashnykh tvaryn v umovakh miskoi kliniky* [Monitoring of veterinary care and the structure of surgical pathology among small pets in the city clinic]. *Visnyk Sums'koho NAU* [Bulletin of the Sumy NAU]. no. 1(30), pp. 150–154. Available at: nbuv.gov.ua/UJRN/Vsna\_vet\_2012\_1\_44

2. Abd El Raouf, M., Ezzeldeen, S.A., Eisa, E.F.M. (2019). Bone fractures in dogs: A retrospective study of 129 dogs. *Journal of Veterinary Sciences*. Vol. 33, no. 2, pp. 401–405. DOI:10.33899/ijvs.2019.163086

3. Jain, R., Shukla, B.P., Nema, S., Shukla, S., Chabra, D., Karmore, S. K. (2018). Incidence of fracture in dog: a retrospective study. *Veterinary Practitioner*. Vol. 19, no. 1, pp. 63–65.

4. Tarunbir Singh, P., Mohindroo, J., Verma, P., Udheiya, R., Umeshwori, N. (2019). Evaluation of intramedullary pinning technique for management of tibia fractures in dogs. *The Pharma Innovation Journal*. Vol. 8(2), pp. 291–297.

5. Emanov, A.A., Marchenkova, L.O. (2010). *Renthenolohycheskaia dynamyka formirovaniya kostnoho srashcheniya pry lecheny perelomov predplechia u sobak metodom chreskostnoho osteosynteza* [X-ray Dynamics of Formation of Osteo-Fusion in the Treatment of Forearm Fractures in Dogs by Transosseous Osteosynthesis]. *Aktualnye voprosy veterynarnoi biology* [Topical issues of veterinary biology]. no. 4 (8), pp. 17–25.

6. Marongiu, G., Dolci, A., Verona, M., Capone, A. (2020). The biology and treatment of acute long-bones diaphyseal fractures: Overview of the current options for bone healing enhancement. *Bone Reports*. 100249. DOI:10.1016/j.bonr.2020.100249

7. Massie, A.M., Kapatkin, A.S., Fuller, M.C., Verstraete, F.J.M., Arzi, B. (2017). Outcome of nonunion fractures in dogs treated with fixation, compression resistant matrix, and recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*. Vol. 30, no. 2, pp. 153–159. DOI:10.3415/VCOT-16-05-0082

8. Dülgeroglu, T.C., Metineren, H. (2017). Evaluation of the effect of platelet-rich fibrin on long bone healing: An experimental rat model. *Orthopedics*. Vol. 40, no. 3, pp. 479–484. DOI:10.3928/01477447-20170308-02

9. *Principles of Regenerative Medicine* / A. Atala et al. 3-edn, Academic Press. 2019. DOI:10.1016/B978-0-12-809880-6.00043-6

10. Sallam, S.M., Ahmed, L.M., Amin, A., Alakraa, A.M., El-kasapy, A.H. (2020). The Effects of nano hydroxyapatite and nano hydroxyapatite doped by magnesium on fracture healing in dogs. *Benha Veterinary Medical Journal*. Vol. 38, pp. 47–51.
11. Todosjuk T.P. (2020). Rentgeno- ta makromorfologichna ocinka reparativnogo osteogenezu za implantacii gidroksiapatitnogo kompozitu, legovanogo germaniem [X-ray and macromorphological assessment of reparative osteogenesis by implantation of hydroxyapatite composite doped with germanium]. *Nauk. visnik vet. medicini: zb-k nauk. prac'* [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine: collection of scientific papers]. no. 2, pp. 183–194. DOI:10.33245/2310-4902-2020-160-2-183-194 (in Ukraine)
12. Li, Z., Müller, R., Ruffoni, D. (2018). Bone remodeling and mechanobiology around implants: Insights from small animal imaging. *Journal of Orthopaedic Research*. Vol. 36, no. 2, pp. 584–593. DOI:10.1002/jor.23758
13. Wang, W., Yeung, K. W. K. (2017). Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review. *Bioactive Materials*. Vol. 2, no. 4, pp. 224–247. DOI:10.1016/j.bioactmat.2017.05.007
14. Rublenko, M.V., Chemerovs'kij, V.O., Vlasenko, V.M., Ul'janchich, N.V. (2018). Ocinka osteointegracijnih i osteoinduktivnih vlastivostej keramiki, legovanoji kremnijem, za model'nih perelomiv stegnovoji kistki u kroliv [Evaluation of osteointegration and osteoinductive properties of silicon-doped ceramics in model femoral fractures in rabbits]. *Naukovij visnik veterinarnoї medicini* [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine]. no. 2, pp. 44–53. DOI:10.33245/2310-4902-2018-144-2-37-46
15. Shevchenko, S.M., Rublenko, M.V., Ulyanchich, N.V., Klymenko, P.P. (2021). Gistomorfologichna charakteristika osteozamishhennja u kroliv gidroksiapatitnoju keramikoju ta fibrinom, zbagachenim trombocitami [Histomorphological characteristics of bone replacement in rabbits with hydroxyapatite ceramics and Platelet-Rich Fibrin]. *Naukovij visnik LNUVMB imeni S.Z. Gzhic'kogo* [Scientific Bulletin of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology named after S.Z. Gzhytskoho]. Serija: Veterinarni nauki [Series: Veterinary sciences]. no. 23(102), pp. 43–52. DOI:10.32718/nvlvet10207
16. Simonpieri, A., Del Corso, M., Vervelle, A., Jimbo, R., Inchingolo, F., Sammartino, G., M. Dohan Ehrenfest, D. (2012). 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. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. Vol. 13, no. 7, pp. 1231–1256. DOI:10.2174/138920112800624472
17. Ribitsch, I., Oreff, G.L., Jenner, F. (2021). Regenerative medicine for equine musculoskeletal diseases. *Animals*. Vol. 11, no. 1, pp. 1–30. DOI:10.3390/ani11010234
18. Tambella, A.M., Attili, A.R., Dupré, G., Cantalamezza, A., Martin, S., Cuteri, V., Marcazzan, S., Fabbro, M. Del. (2018). Platelet-rich plasma to treat experimentally-induced skin wounds in animals: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*. Vol. 13, no. 1, pp. 1–26. DOI:10.1371/journal.pone.0191093
19. Foster, T.E., Puskas, B.L., Mandelbaum, B.R., Gerhardt, M.B., Rodeo, S.A. (2009). Platelet-rich plasma: From basic science to clinical applications. *American Journal of Sports Medicine*. Vol. 37, no. 11, pp. 2259–2272. DOI:10.1177/0363546509349921
20. Khalaf, F.H., Salih, S.I. (2018). Clinical and Histopathological Evaluation of Using Platelet-Rich Plasma and Platelet-Rich Fibrin Matrix in Treatment of Induced Chronic Open Wounds in Bucks. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. Vol. 11, no. 5. DOI:10.22159/ajpcr.2018.v11i5.24105
21. David, M. Dohan Ehrenfest, Gilberto, S., Jamil, A.S., Hom-Lay, W., De-Rong, Zou. (2013). Guidelines for the publication of articles related to platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma - PRP, or Platelet-Rich Fibrin - PRF): the international classification of the POSEIDO. *POSEIDO*. Vol. 1, no. 1, pp. 17–27.
22. Steller, D., Herbst, N., Pries, R., Juhl, D., Hakim, S.G. (2019). Impact of incubation method on the release of growth factors in non-Ca<sup>2+</sup>-activated PRP, Ca<sup>2+</sup>-activated PRP, PRF and A-PRF. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. Vol. 47, no. 2, pp. 365–372. DOI:10.1016/j.jcms.2018.10.017
23. Neiva, R.F., Gil, L.F., Tovar, N., Janal, M.N., Marao, H.F., Bonfante, E.A., Pinto, N., Coelho, P.G. (2016). The synergistic effect of leukocyte platelet-rich fibrin and micrometer/nanometer surface texturing on bone healing around immediately placed implants: An experimental study in dogs. *BioMed Research International*. DOI:10.1155/2016/9507342
24. Kornuthisopon, C., Pirarat, N., Osathanon T., Kalpravidh C. (2020). Autologous platelet-rich fibrin stimulates canine periodontal regeneration. *Scientific Reports*. Vol. 10, no. 1, pp. 1–14. DOI:10.1038/s41598-020-58732-x
25. Thanoon, M.G., Eesa, M.J., Abed, E. R. (2019). Effects of platelets rich fibrin and bone marrow on the healing of distal radial fracture in local dogs: Comparative study. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. Vol. 33, no. 2, pp. 419–425. DOI:10.33899/ijvs.2019.163169
26. Salih, S.I., Al-Falahi, N.H., Saliem, A.H., Abedsalih, A.N. (2018). Effectiveness of platelet-rich fibrin matrix treated with silver nanoparticles in fracture healing in rabbit model. *Veterinary World*. no. 11 (7), pp. 944–952. DOI:10.14202/vetworld.2018.944-952
27. Shevchenko, S.M. (2020). Dinamika gematologichnih pokaznikov, makromorfologichna i rentgenologichna kartini reparativnogo osteogenezu v kroliv za vikoristannja trombocitarnih koncentrativ ta gidroksiapatitnoї keramiki [Dynamics of hematological indications, macromorphological and radiological picture of reparative osteogenesis in rabbits for platelet concentrates and hydroxyapatite ceramics].

Naukovij visnik veterinarnoї medicini [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine]. no. 1, pp. 153–164. DOI:333245/2310-4902-2020-154-1-153-164

28. Shevchenko, S.M., Rublenko, M.V. (2020). Gistologichna charakteristika zgustkiv fibrinu, zbagachenih trombocitami i oderzhanih za riznih rezhimiv centrifuguvannya krovi [Histological characteristics of Platelet-Rich Fibrin clots obtained under various modes of blood centrifugation]. Naukovij visnik LNU-VMB imeni S.Z. Ġzhic'kogo [Scientific Bulletin of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology named after S.Z. Gzhytskoho]. Serija: Veterinarni nauki [Series: Veterinary sciences]. no. 22 (99), pp. 84–93. DOI:10.32718/nvvet9914.

29. Grand, F., Guitton, J., Goudable, J. (2001). Optimization of the measurement of nitrite and nitrate in serum by the Griess reaction. *Ann. Biol. Clin. (Paris)*. Vol. 59, pp. 559–565.

30. Holykov, P.P. (2004). Oksyd azota v klynyke neotlozhnykh zabolevaniy [Nitric oxide in an emergency clinic]. *Medpraktika*. 180 p.

31. Veremeenko, K.N., Goloborod'ko, O.P., Kizim, O.I. (1988). Proteoliz v norme i pri patologii [Proteolysis in normal and pathological conditions]. Kyiv: Health, 200 p.

32. Danylovyh, G.V., Bohach, T.V., Danylovyh, Y.V. (2018). The biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. Nitric oxide formation features and its functional role in mitochondria. *Ukr. Biochem. Vol.* 90, no. 1, pp. 3–24. DOI:10.15407/ubj90.01.003

33. Hu, C., Ashok, D., Nisbet, D. R., Gautam, V. (2019). Bioinspired surface modification of orthopedic implants for bone tissue engineering. *Biomaterials*. DOI:10.1016/j.biomaterials.2019.119366

34. Crisci, A., De Crescenzo, U., Crisci, M. (2018). Platelet-rich concentrates (L-PRF, PRP) in tissue regeneration: Control of apoptosis and interactions with regenerative cells. *Journal of Clinical and Molecular Medicine*. Vol. 1, no. 3, pp. 1–5.

35. Chemerovs'kij, V.O. (2020). Rentgenografichna, makromorfologichna i gematologichna ocinka gidroksiapatitnoi keramiki z riznimi fiziko-himichnimi vlastivostjami [Radiographic, macromorphological and hematological evaluation of hydroxyapatite ceramics with different physical and chemical authorities]. *Naukovij visnik veterinarnoї medicini [Scientific bulletin of veterinary medicine]*. no. 1, pp. 140–152. DOI:10.333245/2310-4902-2020-154-1-140-152

36. Rublenko, M.V., Andrijec', V. G., Semenjak, S. A. (2017). Molekuljarno-biologichni mehanizmy reparatyvnogo osteogenezu [Molecular and biological mechanisms of reparative osteogenesis]. *Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine]*. Vol. 2, no. 136, pp. 13–21.

37. Shaganenko, V.S. (2012). Kliniko-patogenetichna rol' oksidu azotu ta korekcija jogo rivnja za hirurghichnoi patologii zapal'nogo renezu v tvarin riznih vidiv: avtoref. dis. ... kand. vet. nauk: 16.00.05. [Clinical and pathogenetic role of nitric oxide and correc-

tion of the same for surgical pathology of the ignition genesis in different species: abstract of the dissertation of the candidate of veterinary sciences: 16.00.05.]. Bila Tserkva, 23 p.

38. Kattimani, V.S., Kondaka, S., Lingamaneni, K.P. (2016). Hydroxyapatite-Past, Present, and Future in Bone Regeneration. *Bone and Tissue Regeneration Insights*. Vol. 7. DOI:10.4137/btri.s36138

39. Sadrzadeh, S.M., Bozorgmehr, J. (2004). Haptoglobin phenotypes in health and disorders. *Am J Clin Pathol.* no. 121 (1), pp. 97–104. DOI:10.1309/8GLX5798Y5XHQ0VW.

#### **Dynamics of hematological parameters and acute phase reactions for osteosubstitution by autofibrin and hydroxyapatite ceramics with $\beta$ -tricalcium phosphate fragmentary bone fractures in dogs Shevchenko S., Rublenko M.**

Osteo-replacement materials are considered to be the most promising direction in solving the problem of restoring the regenerative potential of bone tissue, especially fragmentary fractures. However, the mechanism of their influence on the histomorphology of bone regenerates and the pathochemical phase of reparative osteogenesis require further and comprehensive justification.

The aim of the study was to establish the dynamics of hematological parameters and acute phase response to osteosubstitution by hydroxyapatite ceramics with  $\beta$ -tricalcium phosphate and platelet-enriched autofibrin in fragmentary bone fractures in dogs.

Control and research groups of animals were formed, each of which included dogs with fractures of both shoulder and forearm bones, which came in 2019-2021 to the clinic of small pets of the Faculty of Veterinary Medicine of Bila Tserkva NAU. After general and local anesthesia, extracortical osteosynthesis and replacement of bone defects were performed: in the first experimental group (n = 10) autofibrin enriched with platelets (PRF), and in the second (n = 10) - its combination with hydroxyapatite ceramics (PRF + HA/ $\beta$ -TCP-700); in the control group (n = 10) the defects were left to heal under the blood clot. Blood samples for hematological and biochemical studies were taken after injury no later than 24 hours and on the 3rd, 7th, 14th, 21st and 42nd day after osteosynthesis. In peripheral blood, the number of erythrocytes, platelets and leukocytes was determined by conventional methods, and hemoglobin - hemoglobin cyanide. The content of nitric oxide (NO) in the blood serum was determined by the method of Green in the modification of Golikov, haptoglobin - by reaction with rivanol kits PJSC "Reagent" (Ukraine) and  $\alpha$ 2-macroglobulin - by KM Veremeenko.

Statistical processing of the results was performed using the program Statistica 10 (StatSoft Inc, USA, 2011).

It was found that bone trauma in dogs is accompanied by a decrease in peripheral blood of erythrocytes

by 1.3 times ( $p < 0.001$ ) and an increase of 1.1 times ( $p < 0.05$ ) the number of leukocytes with a tendency to increase hemoglobin and platelets, compared with indicators of clinically healthy animals. After osteosynthesis in all groups leukocytosis developed. During osteosubstitution, the intensity and duration of the leukocyte reaction decreased significantly.

In the first experimental group, the peak of NO concentration occurred on the 21st day, and in the case of combined osteosubstitution, the phase of its changes was noted, which had two peaks: on the 7th in 1.5 and on the 21st in 1.8 ( $p < 0.001$ ) is several times higher than in the control group.

The concentration of haptoglobin after bone injury in dogs increased 1.1 times ( $p < 0.001$ ) compared with clinically healthy animals and reached its peak in all groups on the 3rd day ( $p < 0.001$ ). No changes in  $\alpha 2$ -macroglobulin concentration were observed in the groups during the entire study period.

Combined osteosubstitution by calcium-phosphate ceramics with platelet-enriched fibrin induces early osteogenic processes at a lower intensity of the acute phase reaction at the phase peaks of nitric oxide - an inducer of angiogenesis, which indicates the viability of animals.

**Key words:** nitric oxide, acute phase proteins, reparative potential, platelets.



Copyright: Шевченко С.М., Рубленко М.В. © This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



ORCID iD:

Шевченко С.М.

Рубленко М.В.

<https://orcid.org/0000-0002-9155-0619>

<https://orcid.org/0000-0001-9690-9531>