

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ТОДОСЮК ТЕТЯНА ПЕТРІВНА

УДК 636.7.616.71-001.5-089.2:546.289:546.41(043.3)

**КЛІНІКО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ
ОСТЕОЗАМІЩЕННЯ КАЛЬЦІЙ-ФОСФАТНОЮ КЕРАМІКОЮ,
ЛЕГОВАНОЮ ГЕРМАНІЄМ, ЗА СКЛАДНИХ ОСКОЛКОВИХ
ПЕРЕЛОМІВ КІСТОК У СОБАК**

Спеціальність: 211 – «Ветеринарна медицина»

Галузь знань: 21 – «Ветеринарна медицина»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело



Т.П. Тодосюк

Науковий керівник:

Рубленко Михайло Васильович

доктор ветеринарних наук,

професор, академік НААН України

Біла Церква – 2023

АНОТАЦІЯ

Тодосюк Т.П. Клініко-експериментальне обґрунтування остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за складних осколкових переломів кісток у собак. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 – Ветеринарна медицина (21 – Ветеринарна медицина). Білоцерківський національний аграрний університет. Біла Церква, 2023.

Клініко-експериментально обґрунтовано остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за складних осколкових переломів довгих трубчастих кісток у тварин.

Вперше доведено, що остеокондуктивний керамічний матеріал у фазовому складі 65 мас.% гідроксиапатиту і 35 мас.% β -трикальційфосфату завдяки вмісту в ньому 0,8 мас.% германію у формі гранул з нано-, мезо- та макропорами і адсорбційною активністю 120,3 мг/г набуває остеоіндуктивних та підвищених остеointegraційних властивостей, які зумовлюють ранні неоангіогенез та потужні остеобластичну і ендоостальну реакції з формуванням повноцінної кісткової тканини на поверхні та у порах остеозаміщувального матеріалу з поступовою його біодеградацією, відображенням чого є динамічні зміни у сироватці крові біохімічних маркерів кісткового метаболізму, посилення ендотеліальної функції та антикоагулянтного потенціалу крові, урівноважений перебіг гострофазної та остеоімунологічної реакцій.

При цьому рентгенологічно імплантація легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки у дефекти губчастої ділянки стегнової і компактної ділянки променевої кісток у кролів, порівняно з нелегованою, характеризується на 14-у добу помірною обмеженою періостальною реакцією з підвищеною рентгенщільністю чи явищами периостального остеосклерозу в разі губчастої кістки, динамічним зменшенням на 30-у добу

структурованості і щільності гранул імплантату та обмеженою остеосклеротичною реакцією ендоосту за відсутності компенсаторних змін у ліктьовій кістці, формуванням на 60-у добу рентгеноархітектоніки стегнової чи променевої кістки близької до норми. Заразом макроморфологічно встановлено значно менші розростання періосту, динамічне виповнення дефектів регенератом ідентичним материнській кістковій тканині і глибинним розташуванням керамічних гранул, що свідчить про виражені остеointegraційні властивості керамічних матеріалів та їх контрольовану біорезорбцію.

Доведено, що остеoіндуктивна дія легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки виражається в підвищеній міграції в зону кісткового дефекту остеогенних клітин, ранніх і потужних неоангіогенезі та остеобластичній реакції (14-а доба) на фоні помірного і обмеженого запально-резорбтивного процесу, в інтенсивному формуванні та ремоделюванні пластинчастої кісткової тканини (30-а доба) навколо і у порах остеозаміщувального матеріалу, а також з боку ендоосту з поступовою резорбцією його гранул (60-а доба), що також відображає посилені остеointegraційні процеси. При цьому виражена, з наростанням до 30-ої доби, ендостальна реакція у зоні кісткового дефекту є свідченням його консолідації близької до первинного натягу.

Остеозаміщення леговою германієм кальцій-фосфатною керамікою модельних кісткових дефектів у кролів супроводжується реактивними змінами морфологічних показників крові, помірною тромбоцитарною реакцією, більшими в 1,1–1,2 рази ($p < 0,001$) піками лейкоцитарних індексів. При чому рівень церулоплазміну в 1,1–1,2 ($p < 0,001$) рази менший, ніж за остеозаміщення нелеговою керамікою. Також менший у 1,6 рази ($p < 0,001$) рівень втрати антикоагуляційного потенціалу крові з динамічним відновленням активності протеїна С на 30-у добу дослідження. Піковий рівень у крові оксиду азоту на 14-у добу свідчить про посилення ендотеліальної функції, що власне забезпечує інтенсивний неоангіогенез.

Урівноважений перебіг osteoімунологічних реакцій засвідчує короткочасне, лише протягом 14–30-ої діб, підвищення в 1,2–1,3 рази ($p < 0,001$) рівня циркулюючих імунних комплексів.

За остеозаміщення кісткових дефектів трубчастих кісток у кролів легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою встановлено оптимізований і динамічний перебіг репаративного остеогенезу, про що засвідчують показники маркерів кісткового метаболізму, зокрема кісткового ізоферменту лужної фосфатази та тартрат-резистентної кислої фосфатази. При цьому, підвищення кальцій-фосфорного індекса з 7 до 30-ої діб відображає інтенсивний перерозподіл кальцію та фосфору в межах кісткової системи. Піки активності кісткового ізоферменту лужної фосфатази в період 14–30-ої діб свідчать про ранню остеобластичну реакцію та інтенсивний остеогенез, а тартрат-резистентної кислої фосфатази лише на 14-у добу – про обмежену і швидкоплинну запально-резорбтивну фазу репаративного остеогенезу.

За індукції вторинного остеопорозу в кролів дексаметазоном рентгенологічні ознаки з'являються вже на 14-у добу у вигляді великопетлистого рисунка губчастої речовини проксимальної епіфізарно-метафізарної ділянки стегнової кістки з посиленою рентгенщільністю контурів кортикального шару кістки. Розвиток остеопорозного процесу супроводжується гіпокальціємією і гіперфосфатемією, за яких на 14-у та 21-у доби вміст у сироватці крові загального кальцію зменшується в 1,4 та 2,1 рази ($p < 0,001$), а фосфору – збільшується в 1,5 та в 1,8 рази ($p < 0,001$), відповідно. Також кортикоїд-індукований остеопороз характеризується збільшенням активності кісткового ізофермента лужної фосфатази та остеорезорбтивної тартратрезистентної кислої фосфатази в 1,1 і в 1,2 рази ($p < 0,001$), відповідно, що свідчить про перевагу процесів остеорезорбції. Поряд з цим в 1,1 рази ($p < 0,001$) знижується рівень оксиду азоту в сироватці крові, що свідчить про зниження ендотеліальної функції. Заразом збільшення кількості еритроцитів і лейкоцитів в крові є проявом прискореного їх виходу із кістково-мозкового депо під дією кортикостероїдного гормону.

Вперше доведено, що встановлені остеозаміщувальні характеристики кальцій-фосфатної кераміки, легованої германієм, реалізуються і у разі дефектів трубчастих кісток у кролів з кортикостероїд-індукованим остеопорозом, у яких кістковий регенерат формується в 2,7 рази ($p < 0,001$) швидше, ніж за природнього під кров'яним згустком. Макро- і гістоморфологічна оцінки кісткових регенератів підтверджують реалізацію остеокондуктивних, остеointegraційних і остеoіндуктивних властивостей кальцій-фосфатної кераміки, легованої германієм, в умовах системного остеопорозу.

У кролів з остеопорозом остеозаміщення германієвмісною керамікою супроводжується помірним лейкоцитозом та усуненням посттравматичної олігохромемії на 14-у добу репаративного остеогенезу зі зменшенням рівня гіпокальціємії на 7-у добу і гіперфосфатемії на 30-у добу. При цьому активність кісткової лужної фосфатази з піком на 14-у добу більша в 1,1–1,3 рази ($p < 0,001$) за контрольні показники з піком на 30-у добу, а тартрат-резистентної кислої фосфатази в 1,2 рази ($p < 0,001$) на 14-у добу, що свідчить про ранню та інтенсивну остеогенну реакцію.

Вперше клініко-експериментально обґрунтовано, що остеозаміщення леговою германієм кальцій-фосфатною керамікою після накісткового остеосинтезу за складних осколкових переломів довгих трубчастих кісток у собак за клініко-рентгенологічними критеріями прискорює їх консолідацію в 1,5 рази ($p < 0,001$), порівняно з використанням нелегованої кальцій-фосфатної кераміки, та супроводжується динамічним усуненням еритроцитопенії, меншим рівнем лейкоцитарної реакції і церулоплазміну та вищим рівнем альбуміну, що свідчить про менший ступінь запально-деструктивних процесів.

Заразом встановлено, що патохімічна фаза репаративного остеогенезу в цьому разі супроводжується помірною і швидкоплинною реакцією гострої фази, вдвічі ($p < 0,001$) меншою втратою активності протеїна С з нормалізацією її рівня вже на 14-у добу, підвищенням на 14-у і 30-у в 1,5 рази

($p < 0,001$) вмісту оксиду азоту ендотеліального походження та меншим у 1,2–1,6 рази ($p < 0,001$) рівнем циркулюючих імунних комплексів, тобто помірною остеοімунологічною реакцією, формуванням піків активності загальної лужної фосфатази та її кісткового ізофермента і остеорезорбтивної тартратрезистентної кислої фосфатази на 14-у добу (за нелегованої кераміки на 30-у) з нормалізацією їх активності на 60-у добу за відсутності достовірних змін у динаміці Ca:P індекса, що забезпечує баланс між процесами остеорезорбції і ремоделювання регенерату кісткової тканини.

Отже, остеозаміщення легованою германієм керамікою осколкових переломів трубчастих кісток у собак, порівняно з використанням нелегованої кальцій-фосфатної кераміки, відновлює репаративний потенціал травмованої кісткової тканини та прискорює її консолідацію і супроводжується помірною і швидкоплинною реакцією гострої фази та імуноткомлексоутворення, посиленням ендотеліальної функції та антикоагулянтного потенціалу крові, збалансованою динамікою активності біохімічних маркерів кісткового метаболізму, що в цілому відображає оптимізований перебіг репаративного остеогенезу.

Обґрунтовано і запропоновано імплантацію кальцій-фосфатної кераміки, легованої германієм, за остеозаміщення кісткових дефектів для прискорення консолідації складних осколкових переломів довгих трубчастих кісток різного генезу в собак, що апробовано і підтверджено відповідними актами про впровадження в низці клінік дрібних домашніх тварин України. Водночас запропоновано поряд із біохімічними маркерами кісткового метаболізму (тартрат-резистентної кислої фосфатази, кісткового ізофермента лужної фосфатази та їх співвідношення), визначення стану ендотеліальної функції за рівнем оксиду азоту, антикоагулянтного стану за активністю протеїну С та остеοімунологічної реакції за вмістом у сироватці крові циркулюючих імунних комплексів, Ca:P співвідношення в оцінюванні перебігу репаративного остеогенезу як за високоенергетичних переломів довгих трубчастих кісток у собак, так і в умовах системного остеопорозу.

Матеріали дисертаційної роботи висвітлені у науково-практичній монографії Рубленко М.В., Тодосюк Т.П., Чемеровський В.О., Ульянович Н.В., Фірстов С.О., Коломієць В.В. 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. (затверджено та рекомендовано до друку Вченою радою Білоцерківського НАУ (протокол № 3 від 23.03.2023 р.) і використовуються у викладанні дисциплін «Загальна і спеціальна хірургія великих тварин», «Травматологія і ортопедія дрібних домашніх тварин», «Ветеринарна хірургія», «Хвороби собак і котів», «Хвороби дрібних тварин», «Хірургічні хвороби тварин з анестезіологією» «Хвороби екзотичних тварин та дикої фауни» та у наукових дослідженнях 5-ти факультетів ветеринарної медицини і 2-х науково-дослідних інститутів України, що підтверджено відповідними актами.

Ключові слова: остеозаміщення, біоактивна кераміка, регенерація, переломи кісток, кісткова тканина, германій, вторинний остеопороз, собаки, імунні комплекси.

SUMMARY

Todosyuk T.P. Clinical-experimental substantiation of bone replacement with germanium-doped calcium-phosphate ceramics for complex bone fragment fractures in dogs. – Qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for obtaining the Doctor of Philosophy scientific degree in specialty 211 – Veterinary Medicine (21 – Veterinary Medicine). Bela Tserkva National Agrarian University. Bila Tserkva, 2023.

Osteoreplacement with germanium-doped calcium-phosphate ceramics for complex fragment fractures of long tubular bones in animals is clinically and experimentally substantiated.

For the first time, it was proved that the osteoconductive ceramic material in the phase composition of 65 wt.% hydroxyapatite and 35 wt.% β -tricalcium phosphate due to its content of 0.8 wt.% germanium in the form of granules with nano-, meso- and macropores and an adsorption activity of 120,3 mg/g acquires osteoinductive and increased osteointegration properties, which lead to early neoangiogenesis and powerful osteoblastic and endosteal reactions with the formation of full-fledged bone tissue on the surface and in the pores of the bone substitute material with its gradual biodegradation, which is reflected by dynamic changes in the blood serum of bone metabolism's biochemical markers, strengthening of endothelial function and anticoagulant potential of blood, balanced course of acute phase and osteoimmunological reactions.

At the same time, X-ray implantation of germanium-doped calcium-phosphate ceramics into defects of the cancellous area of the femur and compact radii in rabbits, compared to the unalloyed one, is characterized on the 14th day by a moderate limited periosteal reaction with increased X-ray density or phenomena of periosteal osteosclerosis in the case of cancellous bone, a dynamic decrease on the 30th day of the structure and density of the implant granules and the limited osteosclerotic reaction of the endosteum in the absence of compensatory changes in the ulna, the formation on the 60th day of X-ray architectonics of the femur or radius close to normal. Macromorphologically, much smaller periosteum growths, dynamic filling of defects with regenerate identical to the parent bone tissue, and deep location of ceramic granules have been established, which indicates pronounced osseointegration properties of ceramic materials and their controlled bioresorption.

It has been proven that the osteoinductive effect of germanium-doped calcium-phosphate ceramics is expressed in the increased migration of osteogenic cells to the bone defect zone, early and powerful neoangiogenesis and osteoblastic reaction (14th day) against the background of a moderate and limited inflammatory-resorptive process, in intensive formation and remodeling lamellar bone tissue (30th day) around and in the pores of the bone substitute material, as

well as from the endosteum with gradual resorption of its granules (60th day), which also reflects enhanced osseointegration processes. At the same time, the pronounced endosteal reaction in the area of the bone defect, increasing up to the 30th day, is evidence of its consolidation close to the initial tension.

Osteoreplacement with germanium-doped calcium-phosphate ceramics of model bone defects in rabbits is accompanied by reactive changes in blood morphological indicators, a moderate platelet reaction, 1.1–1.2 times greater ($p<0.001$) peaks of leukocyte indices. At the same time, the level of ceruloplasmin is 1.1–1.2 ($p<0.001$) times lower than in osteoreplacement with unalloyed ceramics. Also, the level of anticoagulation potential's loss of blood with a dynamic recovery of protein C activity on the 30th day of the study is also 1.6 times lower ($p<0.001$). The peak level of nitric oxide in the blood on the 14th day indicates an increase in endothelial function, which subsequently ensures intensive neoangiogenesis. A balanced course of osteoimmunological reactions is evidenced by a short-term increase in the level of circulating immune complexes by 1.2–1.3 times ($p<0.001$) only within 14–30 days.

An optimized and dynamic course of reparative osteogenesis was established for bone defects of tubular bones in rabbits with germanium-doped calcium-phosphate ceramics, as evidenced by the indicators of markers of bone metabolism, in particular, the bone isoenzyme of alkaline phosphatase and tartrate-resistant acid phosphatase. At the same time, an increase in the calcium-phosphorus index from the 7th to the 30th day reflects the intensive redistribution of calcium and phosphorus within the bone system. Peak activity of the bone isoenzyme of alkaline phosphatase in the period of 14–30 days indicates an early osteoblastic reaction and intensive osteogenesis, and tartrate-resistant acid phosphatase activity on the 14th day indicates a limited and rapid inflammatory-resorptive phase of reparative osteogenesis.

With the induction of secondary osteoporosis in rabbits with dexamethasone, X-ray signs appear already on the 14th day in the form of a large loop pattern of the spongy substance of the proximal epiphyseal-metaphyseal area of the femur

with increased X-ray density of the contours of the cortical bone layer. The development of the osteoporotic process is accompanied by hypocalcemia and hyperphosphatemia, during which, on the 14th and 21st days, the content of total calcium in blood serum decreases by 1.4 and 2.1 times ($p < 0.001$), and phosphorus increases by 1.5 and 1.8 times ($p < 0.001$), respectively. Also, corticoid-induced osteoporosis is characterized by an increase in the activity of bone isoenzyme alkaline phosphatase and osteoresorptive tartrate-resistant acid phosphatase by 1.1 and 1.2 times ($p < 0.001$), respectively, which indicates the superiority of osteoresorption processes. Along with this, the level of nitric oxide in blood serum decreases by 1.1 times ($p < 0.001$), which indicates a decrease in endothelial function. An infectious increase in the number of erythrocytes and leukocytes in the blood is a manifestation of their accelerated release from the bone marrow depot under the influence of corticosteroid hormones.

It was proved for the first time that the established osteoreplacement characteristics of calcium-phosphate ceramics doped with germanium are also realized in the case of defects of tubular bones in rabbits with corticosteroid-induced osteoporosis, in which bone regenerate is formed 2.7 times ($p < 0.001$) faster than in natural under a blood clot. Macro- and histomorphological evaluations of bone regenerates confirm the realization of osteoconductive, osteointegrative and osteoinductive properties of calcium-phosphate ceramics doped with germanium in conditions of systemic osteoporosis.

In rabbits with osteoporosis, osteoreplacement with germanium-containing ceramics is accompanied by moderate leukocytosis and elimination of post-traumatic oligochromemia on the 14th day of reparative osteogenesis with a decrease in the level of hypocalcemia on the 7th day and hyperphosphatemia on the 30th day. At the same time, the activity of bone alkaline phosphatase with a peak on the 14th day higher by 1.1–1.3 times ($p < 0.001$) than the control indicators with a peak on the 30th day, and tartrate-resistant acid phosphatase by 1.2 times ($p < 0.001$) on the 14th, which indicates an early and intensive osteogenic reaction.

For the first time, it was clinically and experimentally substantiated that osteosubstitution with germanium-doped calcium-phosphate ceramics after periosteal osteosynthesis for complex fragment fractures of long tubular bones in dogs according to clinical and radiological criteria accelerates their consolidation by 1.5 times ($p < 0.001$), compared to the use of unalloyed calcium-phosphate ceramics and is accompanied by a dynamic elimination of erythrocytopenia, a lower level of leukocyte reaction and ceruloplasmin and a higher level of albumin, which indicates a lower degree and a limited level of inflammatory and destructive processes.

It has now been established that the pathochemical phase of reparative osteogenesis in this case is accompanied by a moderate and rapid reaction of the acute phase, twice ($p < 0.001$) less loss of protein C activity with normalization of its level already on the 14th day, an increase on the 14th and 30th 1.5 times ($p < 0.001$) the nitric oxide content of endothelial origin and 1.2–1.6 times lower ($p < 0.001$) the level of circulating immune complexes, that is, a moderate osteoimmunological reaction, the peaks' formation in the activity of total alkaline phosphatase and its bone isozyme and osteoresorptive tartrate-resistant acid phosphatase on the 14th day (for unalloyed ceramics on the 30th) with normalization of their activity on the 60th day in the absence of reliable changes in the dynamics of the Ca:P index, which ensures a balance between the processes of osteoresorption and remodeling of bone regeneration fabrics.

Therefore, compared to the use of unalloyed calcium-phosphate ceramics, osteoreplacement with germanium-doped ceramics for fragment fractures of tubular bones in dogs restores the reparative potential of the injured bone tissue and accelerates its consolidation, and is accompanied by a moderate and rapid reaction of the acute phase, immune complex formation, strengthening of endothelial function and anticoagulant potential of blood, balanced dynamics of the activity of bone metabolism's biochemical markers, reflecting the optimized course of reparative osteogenesis.

The implantation of germanium-doped calcium-phosphate ceramics for osteoreplacement of bone defects to accelerate the consolidation of complex fragmentary fractures of long tubular bones of various genesis in dogs has been justified and proposed, which has been approved and confirmed by relevant acts on implementation in a number of small pet clinics of Ukraine. At the same time, along with biochemical markers of bone metabolism (tartrate-resistant acid phosphatase, bone isoenzyme of alkaline phosphatase and their ratio), determination of endothelial function by the level of nitric oxide, anticoagulant status by protein C activity, and osteoimmunological reaction by the content of circulating immune complexes in the blood serum, Ca:P ratio are proposed in assessing the course of reparative osteogenesis both in high-energy fractures of long tubular bones in dogs and in conditions of systemic osteoporosis.

The materials of the dissertation work are covered in the scientific and practical monograph M.V. Rublenko, T.P. Todosyuk, V.O. Chemerovskyi, N.V. Ulyanchych, S.O. Firstov, V.V. Kolomiets. Osteoreplacement with calcium-phosphate ceramics doped with silicon and germanium for bone fractures in animals: a scientific and practical monograph. M.V. Rublenko and others. Bila Tserkva: BNAU, 2023. 83 p. (approved and recommended for publication by the Scientific Council of Bila Tserkva National University of Science and Technology (protocol № 3 dated 23.03.2023)) and are used in the teaching of the disciplines "General and special surgery of large animals", "Traumatology and orthopedics of small domestic animals", "Veterinary surgery", "Diseases of dogs and cats", "Diseases of small animals", "Surgical diseases of animals with anesthesiology", "Diseases of exotic animals and wild fauna" and in scientific studies of 5 faculties of veterinary medicine and 2 research institutes of Ukraine, which is confirmed by relevant acts.

Key words: osteoreplacement, bioactive ceramics, regeneration, bone fractures, bone tissue, germanium, secondary osteoporosis, dogs, immune complexes.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України:

1. **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: <https://doi.org/10.33245/2310-4902-2020-160-2-183-194> (здобувач організувала проведення дослідів, виконала макроморфологічні та рентгенологічні дослідження, 1 д.а).

2. **Тодосюк Т.П.,** Рубленко М.В., Власенко В.М. Динаміка гематологічних показників у кролів за остеозаміщення гідроксиапатитною керамікою, легованою германієм, та в комплексі з активатором згортання крові. *Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького*. Серія: Ветеринарні науки. 2021. Т. 23. № 102. С. 78–86. DOI: <https://doi.org/10.32718/nvlvet10212> (здобувач організувала проведення дослідів, виконала гематологічні дослідження, 0,9 д.а).

3. **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: <https://doi.org/10.33245/2310-4902-2022-1-1-170-178> (здобувач організувала проведення дослідів, виконала макроморфологічні, рентгенологічні, гематологічні та біохімічні дослідження, 1 д.а).

4. **Тодосюк Т.П.,** Рубленко М.В., Власенко В.М., Ульянович Н.В. Рентгено-макрморфологічна і біохімічна оцінка консолідації переломів довгих трубчастих кісток в умовах остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за остеопорозу в кролів. *Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького*. Серія: Ветеринарні науки. 2022. Т. 24. № 106. С. 149–157. DOI: <https://doi.org/10.32718/nvlvet10623> (здобувач організувала проведення дослідів, виконала макроморфологічні, рентгенологічні, гематологічні та біохімічні дослідження, 1 д.а)

5. **Тодосюк Т.П., Рубленко М.В.** Клініко-рентгенологічна, гематологічна і біохімічна оцінка остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за осколкових переломів трубчастих кісток у собак. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2023. № 1. С. 162–173. DOI: <https://doi.org/10.33245/2310-4902-2023-180-1-162-173> (здобувач організувала проведення дослідів, виконала екстракортикальний остеосинтез, провела рентгенологічні, гематологічні та біохімічні дослідження, 1,1 д.а).

6. **Todosiuk, T. P., & Rublenko, M. V.** Dynamics of acute-phase and endothelial reactions and immune complex formation during bone replacement with germanium-doped calcium-phosphate ceramics of bone fragment fractures in dogs. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*. 2023. Vol. 6. № 2. P. 30–36. DOI: <https://doi.org/10.32718/ujvas6-2.06> (здобувач організувала проведення дослідів, виконала екстракортикальний остеосинтез, провела рентгенологічні, гематологічні та біохімічні дослідження, 1 д.а).

Науково-практична монографія

1. Рубленко М.В., Тодосюк Т.П., Чемеровський В.О., Ульянович Н.В., Фірстов С.О., Коломієць В.В. Остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою кремнієм і германієм, за переломів кісток у тварин: науково-практична монографія. За ред. М.В. Рубленко. Біла Церква: БНАУ, 2023. 83 с. (3,5 д.а.)

Матеріали науково-практичних конференцій:

1) **Тодосюк Т.П., Рубленко М.В.** Стан гематологічних показників у кролів за імплантації гідроксиапатитної кераміки, легованої германієм, для заміщення кісткових дефектів. *Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин: матеріали щоріч. наук.-практ. конф. молодих вчених* (9 липня 2020 р., ІВМ НААН, м. Київ). Київ: ЦП «Компринт», 2020. С. 35 (здобувач організувала проведення дослідів, виконала гематологічні та рентгенологічні дослідження, 0,04 д.а.)

2) **Тодосюк Т.П., Рубленко М.В., Ульянович Н.В.** Динаміка гематологічних індексів у кролів за використання різних імплантів.

II конференція сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині присвячена 140-річчю відкриття навчального закладу "Цісарсько-королівська ветеринарна школа та школа підковування коней разом із клінікою-стаціонаром для тварин у Львові: (18–19 листопада 2021 р м. Львів) ЛНУВМБ ім. С.З. Гжицького, 2021. С. 130–131 (здобувач організувала проведення дослідів, виконала гематологічні дослідження, 0,08 д.а).

3) **Тодосюк Т.П.,** Рубленко М.В., Ульянович Н.В., Корольова Д.С. Гідроксиапатина кераміка, легована германієм, для остеозаміщення у тварин. *Державна Фармакопея України – Європейська якість вітчизняних лікарських засобів: матеріали наук.-практ. конф. (25–26 листопада 2021 р., м. Харків). С. 121–123 (здобувач організувала проведення дослідів, виконала рентгенологічні, біохімічні дослідження, 0,13 д.а).*

4) **Тодосюк Т.П.,** Рубленко М.В. Рентгенологічна та макроморфологічна оцінка репаративного остеогенезу з використанням кальцій-фосфатної кераміки за остеопорозу в кролів. *Зміна парадигми сучасної науки після військового вторгнення РФ на територію незалежної України: матеріали міжнар. наук.-практ. конф. (22–23 червня 2022 р. Румунія, Словаччина, Братислава). С. 131–134 (здобувач організувала проведення дослідів, виконала рентгенологічні гематологічні дослідження, 0,17 д.а).*

5) **Тодосюк Т.П.,** Рубленко М.В., Власенко В.М. Динаміка показників кальцію та фосфору у кролів з вторинним остеопорозом за імплантації кальцій-фосфатної кераміки, легованої германієм. *ЄДИНЕ ЗДОРОВ'Я-2022: матеріали конференції, (22–24 вересня 2022 р., м Київ). С. 115–117 (здобувач організувала проведення дослідів, виконала біохімічні дослідження, 0,1 д.а).*

6) **Тодосюк Т.П.,** Рубленко М.В., Власенко В.М. Рентгенологічна характеристика індукції остеопорозу в кролів. *Сучасний розвиток ветеринарної медицини: матеріали міжнар. наук.-практ., БНАУ, (20 жовтня 2022 р., м. Біла Церква). С. 9–11 (здобувач організувала проведення дослідів, виконала рентгенологічні дослідження, 0,12 д.а).*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ.....	18
ВСТУП.....	19
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	33
1.1. Молекулярно-біологічні механізми та участь у них мінерального компонента кісткової тканини за репаративного остеогенезу.....	33
1.2. Роль остеозаміщення у репаративному остеогенезі.....	49
1.2.1. Принципи і засоби остеозаміщення.....	49
1.2.2. Переваги кальцій-фосфатної кераміки для остеозаміщення.....	53
1.2.3. Використання біоматеріалів для потреб остеозаміщення.....	56
1.2.4. Біоінженерія мінеральних сполук у репаративному остеогенезі.....	59
1.2.5. Леговані мікроелементами керамічні матеріали для остеозаміщення.....	63
1.3. Застосування остеозаміщення у ветеринарній ортопедії.....	66
1.4. Висновок з огляду літератури.....	68
РОЗДІЛ 2. ВИБІР НАПРЯМІВ ДОСЛІДЖЕНЬ, МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ВИКОНАННЯ РОБОТИ.....	71
2.1. Характеристика кальцій-фосфатної кераміки, легованої германієм.....	76
2.2. Матеріали та методи клініко-експериментальних досліджень.....	80
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВПЛИВУ ІМПЛАНТАТІВ КАЛЬЦІЙ-ФОСФАТНОЇ КЕРАМІКИ, ЛЕГОВАНОЇ ГЕРМАНІЄМ, НА РЕПАРАТИВНИЙ ОСТЕОГЕНЕЗ У КРОЛІВ.....	92
3.1. Клініко-рентгенологічна і макроморфологічна оцінка репаративного остеогенезу.....	92
3.2. Динаміка гістоморфологічної картини кісткових регенератів.....	105
3.3. Динаміка гематологічних показників.....	117
3.4. Динаміка лейкоцитарних індексів.....	120

	17
3.5. Динаміка біохімічних показників крові.....	124
3.5.1. Макроелементи і білковий статус.....	124
3.5.2. Показники ендотеліального, антикоагулянтного, антиоксидантного та імунологічного статусу.....	131
3.5.3. Біохімічні маркери кісткового метаболізму.....	137
РОЗДІЛ 4. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ	
ОСТЕОЗАМІЩЕННЯ ЛЕГОВАНОЮ ГЕРМАНІЄМ КАЛЬЦІЙ-	
ФОСФАТНОЮ КЕРАМІКОЮ ЗА МОДЕЛЬОВАНИХ	
ПЕРЕЛОМІВ КІСТОК У КРОЛІВ З ОСТЕОПОРОЗОМ.....	144
4.1. Індукція глюкокортикоїдного остеопорозу в кролів.....	145
4.1.1. Динаміка рентгенологічної картини скелету кролів.....	145
4.1.2. Динаміка гематологічних і біохімічних показників.....	151
4.2. Остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою за кісткових дефектів у кролів з остеопорозом.....	156
4.2.1. Клініко-рентгенологічна та макроморфологічна оцінка.....	157
4.2.2. Динаміка гістологічної картини кісткових регенератів.....	168
4.2.3. Динаміка гематологічних та біохімічних показників.....	176
5.2. КЛІНІКО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ	
ОСТЕОЗАМІЩЕННЯ КАЛЬЦІЙ-ФОСФАТНОЮ КЕРАМІКОЮ,	
ЛЕГОВАНОЮ ГЕРМАНІЄМ, ЗА ОСКОЛКОВИХ ПЕРЕЛОМІВ	
ТРУБЧАСТИХ КІСТОК У СОБАК.....	199
5.1. Клініко-рентгенологічна характеристика консолідації переломів.....	199
5.2. Динаміка гематологічних показників.....	206
5.3. Динаміка біохімічних показників.....	210
5.4. Динаміка біохімічних маркерів кісткового метаболізму.....	220
РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	
ДОСЛІДЖЕНЬ.....	224
ВИСНОВКИ.....	244
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ.....	251
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	252
ДОДАТКИ.....	291

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ

КФК – кальцій-фосфатна кераміка

α -ТКФ – α -трикальційфосфат

β -ТКФ – β -трикальційфосфат

ЗЛФ – загальна лужна фосфатаза

КіЛФ – кістковий ізофермент лужної фосфатази

ТрКФ – тартрат-резистентна кисла фосфатаза

Ca – кальцій

P – фосфор

Si – кремній

Ge – германій

Mg – магній

Zn – цинк

NO – оксид азоту

A:Г – альбумін/глобулінове співвідношення

PDGF – фактор росту тромбоцитів

VEGF – ендотеліальний фактор росту судин

TGF- β – трансформуючий фактор росту

TNF- α – фактор некрозу пухлин- α

M-CSF – колонієстимулюючий фактор

NF- κ B (RANKL) – активатор рецептора ліганда

TNF- α – фактор некрозу пухлин

IL-1, -4, -6, -10 – інтерлейкін-1, -4, -6, -10

ПТГ – паратиреоїдний гормон

ГАП – гідроксиапатит

PRF – фібрин, збагачений тромбоцитами

PRP – плазма, збагачена тромбоцитами

ГТлGeГ-700 – легована германієм кальцій-фосфатна кераміка

ГТГ-700 – нелегована кальцій-фосфатна кераміка

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. 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 рахунок комп'ютерної томографії, рентгенівської денситометрії, артроскопії і магнітно-резонансної томографії, обґрунтуванню новітніх інструментально-імплантаційних матеріалів для фіксації переломів і створення оптимальних умов для їх консолидації суттєво підвищилася ефективність травматологічної та ортопедичної допомоги у тварин різних видів, у тому числі тварин-компаньйонів (собаки, коти, коні) [1–5].

Однак патологія опорно-рухового апарату, зокрема і переломи кісток, не тільки досить поширена і здебільшого носить ургентний характер з ризиком втрати тваринами їх функціональних можливостей і якості життя, але й складна у патогенетичному, діагностичному і лікувальному аспектах, оскільки фізіологічний та репаративний остеогенез мультимодальні і залежать від збалансованої і реципрочної взаємодії багатьох факторів. Зокрема, нутрієтивних, скільки хімічний склад кісток, у тому числі макро- та мікроелементів, перманентно змінюється залежно від віку, функціональних навантажень, типу харчування та інших факторів) [6–8]. При цьому близько 27 % губчастої кістки і 3 % кортикальної кістки піддаються щорічному оновленню – фізіологічній регенерації, яка знаходиться під контролем низки системних і локальних факторів, що отримало своє фундаментальне і клінічне обґрунтування [6, 9–12].

Серед системних факторів ключову роль у фізіологічному і репаративному остеогенезі відіграють 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 GPG/RANKL/RANK [13–19].

Локальну регуляцію остеогенезу здійснюють низка прозапальних і антифлогогенних цитокінів, простагландини і система морфогенетичних білків та різноманітних факторів росту, що реципрокно ініціюють процеси остеорезорбції та неоангіогенезу, міграції та диференціювання остеопротогеніторних клітин і проліферації, мінералізації та ремоделювання кісткової тканини [20–28], які реалізуються через рецепторний апарат ендотеліальних клітин, остеобластів і остеокластів та імунологічні механізми поляризації макрофагів різних типів. Тобто патогенетична роль системних і локальних факторів остеогенезу за патології кісток і консолідації переломів реалізується тріадою – запалення→неоангіогенез→остеогенез.

Разом з тим, у будь-якому разі, клініко-патогенетичні критерії системних і локальних факторів регуляції репаративного остеогенезу за різних нозологічних форм кісткової патології та, зокрема, переломів залишаються маловідомими з причини по-одиноких досліджень [2, 4, 10], що ускладнює об'єктивну оцінку ефективності засобів і матеріалів для остеосинтезу і остеозаміщення, фармакотерапії та регенеративної біоінженерії.

Хоча безпосереднім зовнішнім чинником переломів кісток є механічна травма, проте нерідко вони виникають за впливу сукупності факторів ризику, таких як генетично зумовлені чи нутрієтивні порушення кісткового метаболізму [29–32], пов'язані з видом чи породою тварин, коморбідність і метаболічні хвороби [33], гормональні та системні порушення мікроциркуляції у кістковій тканині [34], неоплазійні чи дегенеративно-дистрофічні процеси опорно-рухового апарату [35–39].

Так, 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 [1, 2, 40–44]. За даними ретроспективних аналізів [42, 45], частота переломів довгих трубчастих кісток серед собак складає – 82–85 %, серед яких 16–25 % становлять осколкові переломи, що є найбільш складними і потребують остеозаміщення та комбінованих способів остеосинтезу чи додаткової остеоіндукції внаслідок втрати регенеративного потенціалу кісткової тканини. При цьому 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, 5, 46–48].

Однак моніторинги частоти переломів та їх анатомо-топографічної локалізації здебільшого не враховують взаємозв'язок певних нозологічних форм фрактур із факторами 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 % не залежно від способу фіксації. При чому близько у 20 % випадків ускладненого перебігу консолидації перелому є остеосаркома [49–52]. Заразом це зумовлено дисрегенерацією внаслідок дисбалансу між системними і локальними факторами регуляції остеогенеза та його osteoimmunological механізмів.

Найчастіше ускладнення репаративного остеогенезу у собак виникають за осколкових переломів. Здебільшого осколки 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. При чому під час остеосинтезу, особливо осколкових переломів,

здебільшого видаляється первинна гематома, яка є природньою 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 [2, 9, 11, 53–55]. До того ж осколкові переломи супроводжуються більш тривалою фазою запального процесу, що призводить до гальмування неоангіогенезу.

Поряд з цим, у патогенетичній основі остеопорозу, кісткових неоплазій, гематогенних інфекцій кісток, уроджених вад розвитку скелету та кістково-суглобових дисплазій, остеоартритів у зв'язку із розривом зв'язкового апарату суглобів лежать порушення кісткового метаболізму, процеси дисрегенерації та остеοімунологічних механізмів, що ускладнює безпосередньо технічне виконання остеосинтезу та використання при цьому різного роду імплантів [56, 57].

У свою чергу метаболічні, гормональні і генетичні порушення та наявні патологічні процеси кісткової тканини зумовлюють зменшення міцності та порушення біомеханічних властивостей кісток, а, відповідно, і збільшення ризиків їх переломів, що також може бути пов'язане й з атрофічними змінами кісткової тканини внаслідок порушення нервової трофіки (парези, паралічі нервів тощо) [38, 56–61].

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

Хоча найбільш ідеальним остеозаміщувальним матеріалом може бути аутокістка, однак у цьому разі є низка застережень і бар'єрів до його широкого використання [62, 63]. Це обмеження об'єму імплантата, додаткова

кісткова травма, ризики інфікування, больовий синдром, а у випадку алогенної кістки – нерідко імунологічна несумісність [2, 64–68].

У зв'язку з цим запропоновано [2, 5, 8, 69–75] групи матеріалів, що різняться за своїми фізико-хімічними і біологічними властивостями: полімери природні (колаген, желатин, фібрин, гіалуронова кислота, альгінат, хітозан) та синтетичні (полігліколева і полімолочна кислоти, поліметакрилат, лантаноїди); біоскло (силікатне, боратне); кераміка (оксид алюмінія, гідроксиапатит, α - чи β -трикальційфосфат); метали та їх сплави (титан, магній, тантал чи їх сплави); композити – матеріал, що формується із представників різних груп.

За впливом на репаративний остеогенез матеріали для остеозаміщення поділяють на: остеокондуктивні, що відіграють роль пасивного матриксу для адгезії та міграції ендотеліальних і остеогенних клітин; остеоіндуктивні, що ініціюють перетворення малодиференційованих остеопротогеніторних клітин в остеобласти та каскад продукції різноманітних факторів росту, включаючи морфогенетичні білки; остеоінтеграційні, що забезпечують структурно-функціональний зв'язок між материнською кісткою та імплантатом; остеогенні, що містять клітинні джерела остеогенезу та забезпечують взаємодію всіх учасників формування кісткового регенерату; остеонейтральні – абсолютно інертні нерезорбтивні матеріали, які використовуються для заповнення афункціональних просторів [2, 72, 73, 75–80].

Поряд з цим надзвичайно важливими критеріями для остеозаміщувальних імплантатів вважаються [72, 73, 76, 78, 81]: імунологічна толерантність; ступінь пористості та величина пор; ступінь адгезивності матеріалу; механічна пружність і пластичність; контрольована біорезорбція; стабільність розмірів і адаптивність до розмірів кісткового дефекту; можливість піддаватися знезараженню чи антибактеріальні властивості. Нині великий перелік остеозаміщувальних матеріалів проходить клініко-

експериментальне обґрунтування з визначенням ступеня остеотропних властивостей та у відповідності до вище зазначених критеріїв.

Поряд з цим остеоіндуктивними властивостями володіє низка макро- (магній) і мікроелементів (цинк, кремній, селен, стронцій), іонами яких легують кальцій-фосфатну кераміку, однак механізми їх остеоіндуктивного ефекту потребують додаткового обґрунтування, оскільки не завжди вони ідентичні до вже відомих біологічних властивостей, тим більше у складі імплантатів [79, 80, 82]. Проте роботи щодо результатів остеозаміщення у ветеринарній медицині поодинокі або знаходяться лише на рівні експериментальних досліджень на моделях лабораторних тварин.

Водночас, за результатами експериментальних досліджень [2, 11, 73–78] серед перспективних матеріалів для остеозаміщення найближче до широкого клінічного впровадження знаходиться кальцій-фосфатна кераміка (карбонапатит, гідроксиапатит, трикальційфосфат), яка за своїм хімічним складом і механічними властивостями максимально ідентична до мінерального компоненту кісткової тканини і має з нею високу біосумісність. Цей матеріал пропонується як для заповнення кісткових дефектів, так і в якості покриття металевих фіксаційних імплантатів для остеосинтезу чи ендопротезування. Такі керамічні імплантати не викликають імунологічних і алергічних реакцій, токсичної дії на організм, не володіють канцерогенними та мутагенними властивостями, мають достатній ступінь остеointegraції та контрольовану здатність до резорбції, легко піддаються стерилізації за високих температур. Поряд з цим кальцій-фосфатна кераміка завдяки регульованим об'єму і формі, пористості та адгезивності володіють адекватною для формування кісткового регенерата остеоіндуктивністю, але не має остеоіндуктивних властивостей [2, 74, 76]. При цьому такі недоліки як крихкість матеріалу, низька стійкість за розтягу чи ударного навантаження можуть компенсуватися за рахунок його використання у складі композитів [11, 69, 72, 83].

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 [2, 84–94]. Однак у цьому разі залишаються не вирішеними питання досягнення імунологічної толерантності таких композитів, їх індивідуального дозування та форми застосування, одержання, зберігання і транспортування та імунотипуювання стовбурових клітин, а також побічних явищ гетеротопічної мінералізації.

В свою чергу германій має широкий спектр біологічних властивостей, а саме підвищує імунний статус організму, забезпечує гемопоез, перенесення кисню в тканинах, проявляє протипухлинну, протизапальну, антиоксидантну, імуномодуючу, фунгіцидну, противірусну та антимікробну дію, володіє знеболювальним ефектом. Заразом синтезовано значну кількість германійорганічних з'єднань та комплексів, що володіють низькою токсичністю, високою біологічною активністю та позитивно впливають на організм тварини в цілому. При чому це підвищує електрофоретичну активність поверхні гідроксиапатиту, що може істотно покращувати його остеointegraційні характеристики. Тобто легована германієм кальцій-фосфатна кераміка створює можливості щодо її використання для остеозаміщення за різних типів переломів у тварин [95–98].

Отже, у зв'язку з вище зазначеним, вивчення впливу не легової та легової германієм кальцій-фосфатної кераміки з різними фізико-хімічними характеристиками на репаративний остеогенез на підставі клініко-рентгенологічного, гістоморфологічного і біохімічного обґрунтування є актуальним, оскільки дозволить відновити регенеративний потенціал кісткової тканини та оптимізувати перебіг репаративного остеогенезу за складних осколкових переломів кісток, зменшити частоту їх ускладнень у тварин, а отже

може бути перспективною для потреб остеозаміщення у ветеринарній ортопедії.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконувалась у відповідності до робочої програми доктора філософії та науково-технічної державної теми «Дослідження і розробки з проблем підвищення обороноздатності і безпеки держави» та розпорядження Президії НАН України від 16.04.2019 р. №255. Про виконання науково-дослідної роботи «Розробка та доведення до впровадження в клінічну практику кісткових імплантатів 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.

Мета роботи – клініко-експериментальне обґрунтування остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою за складних осколкових переломів трубчастих кісток у собак.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі **завдання:**

1) дослідити вплив імплантів кальцій-фосфатної кераміки, легової германієм, на репаративний остеогенез у кролів із модельними кістковими дефектами за клініко-рентгенологічними, макроморфологічними та гістоморфологічними критеріями;

2) вивчити динаміку гематологічних показників, інтегральних лейкоцитарних індексів і біохімічних показників гострофазної, ендотеліальної, антитромботичної та імунологічної реакцій, маркерів кісткового метаболізму за остеозаміщення модельних кісткових дефектів трубчастих кісток у кролів нелеговою та леговою германієм кальцій-фосфатною керамікою;

3) визначити клініко-рентгенологічні та патохімічні критерії глюкокортикоїд-індукованого остеопорозу в кролів;

4) дослідити остеокондуктивні, остеointegraційні та остеоіндуктивні властивості нелегової та легової германієм кальцій-фосфатної кераміки

за модельних кісткових дефектів трубчастих кісток у кролів з вторинним остеопорозом на підставі клініко-рентгенологічної, макроморфологічної і гістологічної оцінки, гематологічних та біохімічних показників;

5) дослідити за клініко-рентгенологічними критеріями динаміку консолидації складних осколкових переломів кісток у собак за умов остеозаміщення їх дефектів легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою;

6) вивчити динаміку гематологічних та біохімічних показників за остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою осколкових переломів довгих трубчастих кісток у собак;

7) дослідити динаміку біохімічних маркерів кісткового метаболізму за консолидації осколкових переломів у собак після остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою;

8) вивчити динаміку показників ендотеліальної функції, імунотоксикогенезу, антикоагулянтного і антиоксидантного стану за консолидації осколкових переломів у собак після остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою.

Об'єкт дослідження – модельні переломи кісток у кролів та складні осколкові переломи довгих трубчастих кісток у собак.

Предмет дослідження – вплив остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою на репаративний остеогенез у кролів і собак з травматичними та остеопоротичними переломами, його клініко-рентгенологічна, гістоморфологічна, гематологічна і патохімічна оцінка.

Методи дослідження – клінічні, рентгенологічні, макроморфологічні, гістологічні (фарбування гематоксилін і еозин), гематологічні (еритроцити, лейкоцити, тромбоцити, гемоглобін), біохімічні (загальний білок, альбумін, глобуліни, кальцій, фосфор, активність лужної фосфатази та її кісткового ізоферменту, тартрат-резистентної кислої фосфатази, оксиду азоту, дрібно- та великомолекулярних циркулюючих імунних комплексів), гемостазіологічні (протеїн С) та проведення статистичного аналізу.

Наукова новизна одержаних результатів полягає у пріоритетному клініко-патогенетичному обґрунтуванні остеозаміщення кісткових дефектів легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою за складних осколкових переломів довгих трубчастих кісток у собак для відновлення репаративного потенціалу кісткової тканини і прискорення їх консолідації.

Встановлено, що за клініко-рентгенологічними, макро- і гістоморфологічними та біохімічними критеріями кальцій-фосфатна кераміка за її легування іонами германію в умовах остеозаміщення модельних дефектів, як губчастої, так і компактної кісткової тканини у кролів, поряд з остеокондуктивними проявляє виражені остеоіндуктивні та підвищені остеointegraційні властивості.

Доведено, що остеоіндуктивна дія легової германієм кальцій-фосфатної кераміки виражається в підвищеній міграції в зону кісткового дефекту остеогенних клітин, ранніх і потужних неоангіогенезі та остеобластичній реакції (14-а доба) на фоні помірного і обмеженого запально-резорбтивного процесу, в інтенсивному формуванні та ремоделюванні пластинчастої кісткової тканини (30-а доба) навколо і у порах остеозаміщувального матеріалу, а також з боку ендосту з поступовою резорбцією його гранул (60-а доба), що також відображає посилені остеointegraційні процеси. При цьому виражена, з наростанням до 30-ої доби, ендостальна реакція у зоні кісткового дефекту є свідченням його консолідації близької до первинного натягу.

Заразом доведено, що патохімічним відображенням остеоіндуктивних і остеointegraційних властивостей легової германієм кальцій-фосфатної кераміки є, узгоджені із гістоморфологічною оцінкою кісткових регенератів, піки активності кісткового ізоферменту лужної фосфатази на 14-у і 30-у добу та тартрат-резистентної кислої фосфатази тільки на 14-у добу (за контрольної протягом 14–60-ої), раннє (до 30-ої доби) відновлення активності природного антикоагулянта протейна С, достовірно вищий у період 14–30-ої доби рівень у крові оксиду азоту і помірний гострофазного церулоплазмину та

імунокомплексоутворення, що засвідчує менший рівень посттравматичних катаболічних процесів і обмеження запально-резорбтивної фази, ранні неангіогенез і остеогенез та урівноважений перебіг osteoімунологічних реакцій.

Вперше доведено, що, встановлені остеозаміщувальні характеристики кальцій-фосфатної кераміки, легованої германієм, реалізуються і у разі дефектів трубчастих кісток у кролів з кортикостероїд-індукованим остеопорозом, у яких кістковий регенерат формується в 2,7 рази ($p < 0,001$) швидше, ніж за природнього під кров'яним згустком. При цьому зменшуються рівні гіпокальціємії та гіперфосфатемії, менший в 1,3–1,7 рази ($p < 0,001$) рівень імунокомплексоутворення, більший в 1,3 рази ($p < 0,001$) уміст у сироватці крові оксиду азоту, відновлюється на 14-у добу активність протеїну С, а динаміка активності фосфатаз відображає ранню та інтенсивну остеогенну реакцію.

Вперше клініко-експериментально обґрунтовано, що остеозаміщення леговою германієм кальцій-фосфатною керамікою після накісткового остеосинтезу за складних осколкових переломів довгих трубчастих кісток у собак за клініко-рентгенологічними критеріями прискорює їх консолідацію в 1,5 рази ($p < 0,001$), порівняно з використанням нелегованої кальцій-фосфатної кераміки та супроводжується динамічним усуненням еритроцитопенії, меншим рівнем лейкоцитарної реакції і церулоплазміну та вищим рівнем альбуміну, що свідчить про менший ступінь запально-деструктивних процесів.

Заразом встановлено, що патохімічна фаза репаративного остеогенезу в цьому разі супроводжується помірною і швидкоплинною реакцією гострої фази, динамічним усуненням гіперкоагуляційного стану, інтенсивним посиленням ендотеліальної функції та меншим рівнем імунокомплексоутворення, сбалансованою динамікою активності біохімічних маркерів кісткового метаболізму, що свідчить про оптимізований перебіг репаративного остеогенезу.

Практичне значення одержаних результатів полягає у застосуванні поряд з остеосинтезом остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою за складних осколкових переломів різного походження у собак, яке отримало комплексне клініко-рентгенологічне, макро- і гістоморфологічне, гематологічне та патохімічне обґрунтування, для відновлення репаративного потенціалу травмованої ділянки кісткової тканини та оптимізації і прискорення їх консолідації, що апробовано і підтверджено в низці клінік ветеринарної медицини України (додаток В9–В13).

Заразом розроблена напівкількісна рентгенографічна оцінка консолідації переломів трубчастих кісток в умовах остеопорозу може використовуватися в клінічній практиці та подальших клініко-експериментальних дослідженнях як об'єктивний рентгенологічний критерій репаративного остеогенезу за вторинних переломів.

Запропоновано поряд із біохімічними маркерами кісткового метаболізму (тартрат-резистентної кислоти фосфатази, кісткового ізофермента лужної фосфатази та їх співвідношення), визначення стану ендотеліальної функції за рівнем оксиду азоту, антикоагулянтного стану за активністю протейну С та остеοімунологічної реакції за вмістом у сироватці крові циркулюючих імунних комплексів, Са:Р співвідношення для контролю та оцінки перебігу репаративного остеогенезу як за травматичних переломів довгих трубчастих кісток у собак, так і в умовах вторинних остеопоротичних.

Підготовлена і затверджена науково-практична монографія Рубленко М.В., Тодосюк Т.П., Чемеровський В.О., Ульянович Н.В., Фірстов С.О., Коломієць В.В. Остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою кремнієм і германієм, за переломів кісток у тварин: науково-практична монографія. За ред. М.В. Рубленко. Біла Церква: БНАУ, 2023. 83 с.

Матеріали дисертаційної роботи використовуються у навчальному процесі під час вивчення дисциплін «Загальна і спеціальна хірургія великих тварин», «Травматологія і ортопедія дрібних тварин», «Хірургічні хвороби

тварин з анестезіологією», «Ветеринарна хірургія», «Хвороби собак і котів», «Хвороби дрібних тварин» та у наукових дослідженнях (Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, Державний біотехнологічний університет, Сумський національний аграрний університет, Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Білоцерківський національний аграрний університет, Інститут біохімії імені О.В. Палладіна НАН, Національний університет біоресурсів і природокористування України, Інститут проблем матеріалознавства ім. І.М. Францевича НАН Україна) (додаток В2–В8).

Особистий внесок здобувача. Дисертантом самостійно виконано весь обсяг клініко-експериментальних досліджень, проведено статистичне оброблення одержаних результатів, їх аналіз та узагальнення. Клінічні, рентгенологічні, макро- і гістоморфологічні, гематологічні, гемостазологічні та біохімічні дослідження виконані в лабораторії кафедри хірургії та хвороб дрібних домашніх тварин Білоцерківського національного аграрного університету.

Апробація матеріалів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи доповідалися й обговорювалися на міжнародних і державних науково-практичних конференціях: «Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту. Сучасний розвиток ветеринарної медицини та технології тваринництва» (м. Біла Церква, 31 жовтня 2019 р.); «Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин» (м. Київ, 9 липня 2020 р.); IX міжнародна науково-практична конференція «Ветеринарні препарати: розробка, контроль якості та застосування» (19–22 вересня, 2021 р.); «Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту. Сучасний розвиток ветеринарної медицини» (м. Біла Церква, 21 жовтня 2021 р.); «II конференція сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині присвячена 140-річчю відкриття навчального закладу Цісарсько-королівська ветеринарна школа та школа підковування коней разом із клінікою-стаціонаром для тварин у Львові

(м. Львів, 18–19 листопада 2021 р.); «Державна Фармакопея України – Європейська якість вітчизняних лікарських засобів» (м. Харків, 25–26 листопада 2021 р.); «ЄДИНЕ ЗДОРОВ'Я-2022» (м. Київ, 22–24 вересня 2022 р.); «Зміна парадигми сучасної науки після військового вторгнення РФ на територію незалежної України» (Румунія, Словаччина, 22–23 червня 2022 р.).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 13 наукових праць, зокрема 6 у виданнях, що належать до переліку наукових видань України: Науковому віснику ветеринарної медицини Білоцерківського національного аграрного університету (3) та у Віснику Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького (3), а також у матеріалах і тезах конференцій (6), науково-практичній монографії: «Остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою кремнієм і германієм, за переломів кісток у тварин» (1).

Структура та обсяг дисертації. Робота складається зі вступу, огляду літератури, розділу «Вибір напрямів досліджень, матеріал та методи виконання роботи», 3 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків та пропозицій виробництву, списку використаних джерел і 25 додатків. Основний текст дисертації викладено на 165 сторінках комп'ютерного тексту, ілюстровано 21 таблицею та 87 рисунками. Список використаних джерел містить 327 найменувань, у тому числі 281 – латиницею.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Молекулярно-біологічні механізми та участь у них мінерального компонента кісткової тканини за репаративного остеогенезу

Кістковій тканині притаманна складна багаторівнева організація та генетично зумовлена особливість до повної регенерації (реституції), що є оптимальним для забезпечення метаболічної, захисної та опорно-рухової функції осьового скелету та кісток вільних кінцівок у тварин. На додаток до цих структурних функцій, кісткова тканина також функціонує як ендокринний орган, відіграючи важливу роль у глобальному мінеральному обміні (особливо іонів Ca та P) і гомеостазі поживних речовин [99–109]. За певних порушень загального стану організму (імунологічної реактивності, неспецифічних механізмів захисту, ендокринної системи) та місцевих механізмів (мікроциркуляції, трофічних розладів, інфекційних процесів) спостерігається її порушення (дисрегенерація), що зумовлює відхилення як фізіологічного відновлення структурної організації кісткової тканини, так і її біомеханічних властивостей після травм [29, 31–33, 110–112].

Кісткові дефекти великого розміру можуть бути спричинені такими чинниками як травма, деформації розвитку, резекція пухлини та інфекція, які є поширеними клінічними проблемами [37, 38, 110, 113, 114]. Нерідко сприяючими чинниками є метаболічні, гормональні і генетичні порушення та патологічні процеси кісткової тканини (остеопороз, остеомієліт, карієс, неоплазії кісток) [2, 31, 33, 49, 115–117]. 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) [118].

Загоєння переломів кісток – динамічний, складний і чітко регульований процес відновлення кісткової тканини після травми, що включає взаємодію

багатьох клітин і молекулярних медіаторів, у тому числі факторів росту, цитокінів, компонентів позаклітинного матриксу. За відновлення кісткової тканини основними складовими є запальні імунні клітини, ендотеліальні клітини, хондроцити, остеобласти та остеокласти.

Відразу після кісткової травми пошкоджені тканини сприяють виникненню запальної та гемостатичних реакцій, що проявляються взаємопов'язаними молекулярними каскадами, звуженням кровоносних судин, згортанням крові та утворенням гематоми (згустку крові, багатого фібрином) безпосередньо у ділянці ушкодження. [119–122] В свою чергу гематома характеризується гіпоксією та низьким рівнем рН і служить тимчасовим каркасом у місці травми, а також є джерелом цитокінів [15, 44, 123–127].

Репаративний остеогенез, як правило, починається з вродженої відповіді імунної системи, а саме розвитку запальної реакції (запальна стадія), яка за відновлення кісток після травми будь-якої складності має істотний вплив на формування мозоля, тобто фіброваскулярної тканини, що забезпечує більш стабільну опору/матрикс для подальшого розвитку кровоносних судин, а в подальшому на координацію наступних фаз репаративного остеогенезу, таких як ангіогенез, утворення кісткового мозоля та ремоделювання. Вона виникає внаслідок секреції травмованими тканинами хемокінів з наступною міграцією до місця травми нейтрофілів, моноцитів та макрофагів. Дані імунні клітини в подальшому секретують багаточисельні медіатори (прозапальні цитокіни) для стимуляції і подальшої міграції імунних клітин до місця перелому, що має важливу роль у розвитку запальної реакції та подальшого створення прорегенеративної ніші [128–131].

На ранній стадії запалення тромбоцити в гематомі дегранулюють і вивільняють фактор росту тромбоцитів (PDGF) і трансформуючий фактор росту (TGF- β 1). PDGF сприяє проліферації та диференціації мезенхімальних стовбурових клітин, фібробластів, остеобластів і ендотеліальних клітин-попередників [132, 133], а TGF- β 1 стимулює мезенхімальні стовбурові клітини [134–136]. Внаслідок поляризації формується популяція макрофагів

типу M1. Це відбувається під впливом ішемічного і гіпоксичного середовища гематоми, а також макрофагального колонієстимулюючого фактору (M-CSF) і активатора рецептора ліганда NF- κ B (RANKL), який відіграє важливу роль в метаболізмі кісткової тканини, активуючи остеобласти і проліферацію лінією клітин остеобластів [135]. Макрофаги типу M1 секретують різноманітні прозапальні цитокіни, включаючи TNF- α , IL-1, IL-6 тощо, залучаючи клітини імунної відповіді та клітини остеобластичного ряду (наприклад, фібробласти, мезенхімальні стовбурові клітини та остеогенні клітини). Також вони вивільняють ангіогенні фактори, які в подальшому сприяють ангіогенезу [131, 136–138].

В той же час новоутворені кровоносні судини починають проникати в область кісткового дефекту. Згодом фібриновий матрикс трансформується в грануляційну тканину. Завдяки реваскуляризації та проліферації клітин гіпоксія в ділянці травми зменшується, рівень рН позаклітинного середовища наближається до норми. Макрофаги починають трансформуватися шляхом поляризації з M1-типу поляризації в M2 тип [139], які секретують протизапальні цитокіни, включаючи IL-4, IL-10 і TGF- β . Поступово запальна реакція слабшає, катаболізм переходить в анаболічний метаболізм, і консолидація перелому переходить у наступний етап [136, 140–142].

Отже, макрофаги є одними з головних цитокін-продукуючих клітин організму, а основними цитокінами, що приймають участь у створенні регенеративної ніші за консолидації перелому є фактор некрозу пухлин α (TNF- α), інтерлейкін-1 (IL-1), -6 (IL-6), -4 (IL-4), -10 (IL-10), TGF- β , VEGF, які мають суттєвий вплив на ранній стадії запального процесу та стадії ремоделювання кісткового мозоля. Ці цитокіни опосередковують проліферацію, міграцію та диференціацію остеобластів, ендотеліальних клітин та інших структурних елементів кісткової тканини, стимулюють ангіогенез і регулюють ремоделювання тканинного матриксу. Вони також можуть безпосередньо керувати остеогенною диференціацією та подальшим дозріванням клітин-попередників кісткової тканини [143–145].

Одним з ключових регуляторів імунної та запальної відповіді є інтерлейкін-1 (IL-1). Відомо, що він сприяє розвитку запальної реакції завдяки хемотаксису нейтрофілів і моноцитів та підсилює виділення гістаміну базофілами, дегрануляцію еозинофілів і продукування простагландинів. Впливаючи на ендотелій, IL-1 збільшує його проникність, стимулює виділення фактора активації тромбоцитів, а також підсилює адгезію лімфоцитів і нейтрофілів до ендотеліоцитів. Відомі два типи цього цитокіну – IL-1 β та IL-1 α . IL-1 α , як правило, знаходиться переважно в клітині, а IL-1 β в основному секретується клітиною назовні [146].

IL-1 секретується макрофагами, моноцитами, мезенхімальними стовбуровими клітинами, кератиноцитами, хондроцитами, Т- і В-лімфоцитами. Мішенями для нього є клітини практично всіх органів і тканин, у тому числі і клітини кісткової тканини. IL-1 β одним з перших включається до відповідної захисної реакції за дії патогенних факторів. Цей цитокін індукує продукцію IL-2, IL-3, IL-6, інтерферону- γ та фактору некрозу пухлин (TNF). IL-1 є головним медіатором розвитку як місцевої запальної реакції, так і загальної відповіді організму у формі гострої фази запалення. Дія IL-1 спрямована на стимуляцію комплексу захисних реакцій, що сприяє відновленню цілісності ушкоджених тканин. Прозапальний цитокін IL-1 координує специфічні процеси на різних стадіях репаративного остеогенезу, включаючи диференціацію остеобластів та мезенхімальних стовбурових клітин, стимуляцію ангіогенезу, опосередкування внутрішньомембранного окостеніння та реконструкції кісткового мозоля [147–149].

Збільшення концентрації в травмованих тканинах фактору некрозу пухлин- α (TNF- α), що входить до групи прозапальних цитокінів, відбувається за рахунок активації макрофагів, нейтрофілів, еозинофілів і ендотеліальних клітин. Він зумовлює резорбцію кісткової і хрящової тканин та впливає на синтез інших прозапальних цитокінів, стимулює проліферацію і диференціювання нейтрофілів, фібробластів, гемопоетичних, ендотеліальних клітин (ініціює ангіогенез), Т- і В-лімфоцитів, підсилює надходження

нейтрофілів із кісткового мозку в кров. Проте TNF- α бере участь не тільки в захисних реакціях, а і в процесах деструкції і репарації, супутніх запаленню, служить одним із медіаторів деструкції тканин, що має місце за хронічних запальних процесів [150, 151].

Інтерлейкін-4 (IL-4) – є цитокіном, який функціонує як потужний регулятор імунітету, а також протизапальний агент, здатний знижувати продукцію прозапальних цитокінів, таких як TNF. Він відіграє важливу роль у відновленні тканин і гомеостазі через «альтернативну» активацію макрофагів [152]. Більшість типів клітин здатні реагувати на IL-4 і наразі встановлено, що макрофаги поляризуються до "протизапального" фенотипу M2 у відповідь на IL-4. Окрім своєї ролі у вродженому імунітеті, IL-4 також потужно інгібує диференціацію та активацію остеокластів [2, 152–159] та проявляє стимулюючий вплив на синтез колагену фібробластами.

Своєю чергою інтерлейкін-6 (IL-6) – прозапальний цитокін, забезпечує міжклітинні зв'язки в імунній відповіді організму. Він синтезується не лише клітинами імунної системи (активовані моноцити/макрофаги, Т- і В-лімфоцити, ендотеліальні клітини, клітини мікроглії), а й іншими клітинами (остеобласти, остецити, хондроцити, фібробласти, клітини стромы кісткового мозку, синовіальні клітини, клітини гладенької мускулатури кровоносних судин тощо), що не належать до імунної системи [17, 154–160]. Його дія спрямована на посилення продукування білків гострої фази. У кістковій тканині за участі IL-6 відбуваються диференціація і підвищення активності остеокластів, за допомогою чого посилюється резорбція кісткової тканини. Заразом відомі й протизапальні функції IL-6 [152].

Підвищення рівня IL-6 у крові спостерігається за травм, тяжких запальних процесів, оперативних втручань, коли відбувається порушення секреції вазопресину [154, 160–162], та супроводжується лейкоцитозом, тромбоцитозом, підвищенням у крові рівня білків гострої фази запалення і зниженням рівня альбуміну. Відсутність або низький рівень IL-6 викликає

порушення кальцифікації кісткового мозоля і тим самим сповільнює загоєння переломів.

Після досягнення піку прозапальних цитокінів, настає дія інтерлейкіну-10 (IL-10) – цитокіну із потужними протизапальними властивостями, який відіграє важливу роль в обмеженні імунної відповіді, викликає зменшення запальної реакції та сприяє морфологічній зміні типу поляризації макрофагів з прозапальних M1 (або «класично активовані») на протизапальні M2 (або «альтернативно активовані»). Обидва типи макрофагів у рівній мірі важливі для регенерації кісткової тканини [163, 164].

Разом з тим протизапальні макрофаги M2 безпосередньо приймають участь у загоєнні переломів, оскільки секретують цитокіни, які сприяють відновленню кісткової тканини, а саме IL-10 та TGF- β та VEGF, що забезпечує диференціацію мезенхімальних стовбурових клітин, енхондральну осифікацію та ангіогенез [165, 166]. Через реципрокну передачу сигналів судинна система та кістка розвиваються пліч-о-пліч. Гіпертрофічні хондроцити та клітини остеобластної лінії сприяють секреції васкулярного ендотеліального фактора росту (VEGF) [167], проангіогенного фактора, який у синергії з декількома кістковими морфогенними білками (BMP) посилює проліферацію мезенхімальних стовбурових клітин і сприяє їх диференціації в бік остеобластів [168, 169]. Отже, поляризація макрофагів від прозапального фенотипу M1 до протизапального фенотипу M2 відбувається за переходу до анаболічної енхондральної стадії, яка супроводжується проліферацією судинних каналів та остеобластичних клітин для формування новоутвореної кісткової тканини. Рівень IL-10 обернено корелює із тяжкістю перебігу захворювання, зокрема і запальної реакції за травми кісток.

TGF- β (Transforming growth factor beta, TGF- β) – представник цитокінів системної дії, який прямо або опосередковано приймає участь у регуляції процесів диференціації, проліферації, міграції і апоптозу клітин, а також у підтриманні їх життєздатності та низці метаболічних реакцій у клітинах-мішенях. Він продукується клітинами усіх тканин і органів ссавців. Приймає

участь у хондрогенезі та енхондральній осифікації. Інформація про регуляторний вплив TGF - β на гомеостаз і функціональну активність клітин кровоносних судин свідчить про його здатність забезпечувати утворення нових капілярів (ангіогенез) [141, 143, 165, 167].

Ендотеліальний фактор росту судин (Vascular endothelial growth factor, VEGF) – являє собою гомодимерний глікопротеїн і є регулятором регенерації судин, сприяє васкулярогенезу, тобто агрегації та проліферації ендотеліальних мезенхімальних стовбурових клітин у судинне сплетіння та ангіогенезу [170, 171]. Отже, VEGF відіграє вирішальну роль в індукції неоангіогенезу та реваскуляризації в місці перелому, що забезпечує високий рівень парціального тиску O_2 і відповідно процес синтезу кісткового колагену I типу.

Отже, як у репаративній регенерації кістки, так і у фізіологічному відновленні кісткової тканини, ключову та динамічну роль відіграють макрофаги. Під час загоєння переломів макрофаги не лише керують першою фазою запалення, але й виділяють проангіогенні та мітогенні фактори, які сприяють прогресу наступних трьох фаз репаративного остеогенезу – утворенню фіброзно-хрящової тканини (первинна анаболічна), щільного мозоля (пізня анаболічна) і ремоделюванню кісткового регенерата.

В обох випадках макрофаги відповідають за фагоцитоз зруйнованих клітин і диференціюються в остеокласти для резорбції кістки. В цілому в процесі регенерації кісткової тканини функціонування макрофагів відбувається в трьох напрямках: 1) функція очищення через фагоцитоз чи шляхом їх диференціації в остеокласти – резорбція надлишкового матриксу (кісткового мозоля); 2) опосередкована дія через паракринну продукцію цитокінів, що забезпечують взаємодію у стромальному мікросередовищі як ключовий ланцюг в остеогенезі (мітогенез клітин, мінералізації матриці, васкуляризації тощо); 3) цитокін-індукована диференціація та дозрівання остеобластів.

Таким чином, макрофаги як фагоцитуючі клітини та секретовані ними проангіогенні та мітогенні фактори синергетично визначають якість і

структуру кісткової тканини як у фізіологічному, так і репаративному остеогенезі.

Сучасна медично-біологічна література містить численну інформацію щодо особливостей структурної перебудови кісткової тканини та динаміки її мінерального складу у процесі регенерації після травм, а також під впливом різних екзо- та ендогенних чинників [2, 8, 10, 172]. Відомо [173], що обидва аспекти відновлення кісток – структурний і біохімічний – перебувають у тісному морфофункціональному зв'язку. У цьому випадку механічні властивості кістки перебувають у прямій залежності від ступеня її мінералізації. Встановлено [174–177], що стан кісткової тканини істотною мірою залежить від кількісного складу ряду макро- та мікроелементів (МаЕ та МЕ).

Загалом, організм тварин та людини містить велику кількість хімічних елементів періодичної системи Д.І. Менделєєва. Залежно від їх кількості в організмі мінеральні речовини поділяють на: макроелементи та мікроелементи, які містяться в організмі відповідно у макро- та мікродозах. Макроелементи, частіше у формі солей засвоюються в живих організмах у великих кількостях. Їх уміст перевищує 0,001 % від маси тіла тварини. Це такі елементи як кальцій (Ca), калій (K), магній (Mg), натрій (Na), фосфор (P) та хлор (Cl). До мікроелементів відносять хімічні елементи, що містяться у невеликих кількостях (від 0,000001 % до 0,001 %) – залізо (Fe), бор (B), стронцій (Sr), мідь (Cu), бром (Br), йод (J), цинк (Zn), молібден (Mo), ванадій (V), кремній (Si), сірка (S), флуор (F), манган (Mn) та ін. Ультрамикроелементи, уміст яких не перевищує 0,000001 % – уран (U), барій (Ba), хром (Cr), нікель (Ni), літій (Li), радій (Ra), кобальт (Co), селен (Se), германій (Ge), золото (Au), аргентум (Ag), меркурій (Hg), плумбум (Pb), цезій (Cs) тощо.

За значенням для життєдіяльності організму мікроелементи поділяють [178, 179] абсолютно чи життєво необхідні (Co, Fe, Cu, Zn, Mn, J, F, Br, S) і ймовірно необхідні (Al, Sr, Mo, Se, Ni, Si, V), а біологічна роль вісмуту, срібла, кадмію, урану, миш'яку, золота та деяких інших мікроелементів, що закономірно виявляються в тканинах залишається нез'ясованою. Водночас

низка мікроелементів, наприклад, свинець і ртуть є токсичними для організму тварин.

Зокрема, у кістковій тканині виявлено понад 30 мікроелементів (купрум, стронцій, цинк, барій, магній та ін.), що відіграють найважливішу роль у метаболічних процесах в організмі [180, 181]. Виявлено численні біологічні чинники, які впливають одночасно як на м'язову, так і на кісткову тканину, серед яких значна роль відводиться вітаміну D та есенційним елементам кальцію (Ca), фосфору (P), алюмінію (Al), бору (B), магнію (Mg), які входять до складу ферментативних систем відповідальних за формування кісткової тканини. Саме ці елементи беруть активну участь у формуванні кістково-м'язової системи.

Отже, мінеральний склад кістки представлений солями кальцію, фосфору, магнію, а також такими мікроелементами як залізо, цинк, мідь, алюміній, марганець, стронцій, молібден, кремній, свинець, фтор, та ультрамікроелементами – барій, аурум, уран, кобальт, які, в першу чергу, модулюють ріст і метаболізм кісток. Багато мікроелементів впливають на здоров'я кісток шляхом включення в кістковий матрикс, а також регуляції резорбтивних і регенеративних процесів на клітинному рівні, включаючи взаємодію з ключовими ферментами. Дефіцит або збільшення кількості цих сполук відіграє важливу роль у процесах відновлення кристалічної решітки мінералів кісткової тканини, визначає її просторову структуру від якої залежить низка характеристик міцності кісткової тканини.

Неорганічний компонент кісткової тканини в значній кількості містить переважно два хімічні елементи – кальцій і фосфор, що становлять 35 і 50 %, відповідно. Саме ці мінеральні компоненти надають кістці твердості та міцності. Кісткова тканина також служить резервуаром основних мінералів, зокрема кальцію (98%), фосфору (85%), магнію (50%) і натрію (45%). Решта 15% неорганічного компоненту кісткової тканини припадають на бікарбонати, цитрати, фториди, різні солі і мікроелементи. При цьому в

кістці мікроелементи знаходяться у формі солей зі співвідношенням: 60% $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 5,9% – CaCO_3 і 1,4% – $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ [182, 183].

У кортикальному шарі кістки визначається тільки один тип гідроксиapatиту в складі CaO – 37,66%, P_2O_5 – 28,58%, MgO – 0,72%, Na_2O – 0,99%, K_2O – 0,07%, SrO – 0,04%, CO_2 – 3,48%, F – 0,07%, Cl – 0,08 % або всього 71,54 %. Решту кістки становить зв'язана вода і органічний матрикс, який містить в основному колаген I типу і значно менше V типу. Колагенові волокна можуть мати різновекторне розташування у ретикулофіброзній кістковій тканині або ж чітко орієнтоване у пластинчастій. Крім колагенового білка, в основній речовині кісткової тканини виявляють неколагенові білки (остеокальцин, сіалопротейн, остеонектин, різні фосфопротейни, протеоліпіди, що беруть участь у процесах остеогенезу і мінералізації), а також глікозаміноглікани [2, 180, 182, 183].

Кальцій (Ca), як основний мінерал кісток, забезпечує механічну міцність скелета, але в той же час є резервуаром для підтримки рівня кальцію в плазмі крові у фізіологічних межах. Кальцій і вітамін D відіграють ключову роль у мінералізації кісткового мозоля, формування якого є невід'ємною частиною процесу консолідації кістки [184–186]. Близько 99 % Ca в організмі знаходиться у формі гідроксиapatиту, який є структурним компонентом кісткової тканини, емалі та дентину зубів. Достатній рівень Ca^{2+} і HPO_4^{2-} (основою якого є іони P) у сироватці крові забезпечують нормальну мінералізацію кісткової тканини й тісно пов'язані з активними метаболітами вітаміну D – 25-гідроксихолекальциферолом і 1,25-дигідроксихолекальциферолом. В остеобластах 1,25(OH) $_2$ D індукує експресію трансмембранного ліганду рецептора активатора ядерного фактора kB (receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand – RANKL), який у свою чергу сприяє дозріванню остеокластів, що беруть участь у резорбції гідроксиapatиту з кісткової тканини, завдяки чому підтримується фізіологічний рівень Ca і P в сироватці крові. Іонізовані форми Ca і Mg найбільш активно впливають на метаболізм кісткової тканини [182, 187–188]. Недостатнє надходження кальцію в

організм може мати негативний вплив на мінералізацію кісток і, як наслідок, підвищення ризику виникнення остеопорозу з подальшим ризиком остеопоротичних переломів.

Протеїн-зв'язані форми фосфатних іонів гідроксиапатиту включаються до регуляторних механізмів активації цілої низки ензимів, в тому числі кісткового сигнального каскаду. Також Р взаємодіє з вітаміном D, калієм, магнієм тощо. При цьому обов'язковим має бути співвідношення кальцію до фосфору 2:1, у разі ж порушення цього балансу кістки втрачають міцність і стають крихкими [177, 178, 188].

Незважаючи на те, що нестача фосфору зустрічається в поодиноких випадках, його дефіцит може спричинити порушення кісткової регенерації, рахіт, остеомаліцію [189]. І, навпаки, його надлишок призводить до демінералізації, посилення резорбції кісткової тканини та погіршення біомеханічних властивостей кістки. У ряді досліджень [190, 191] було доведено, що метаболізм фосфору та кальцію тісно пов'язані між собою, тому зміни їх рівня в крові, тканинах чи біологічних рідинах завжди розглядають разом та із урахуванням їх співвідношення.

Магній (Mg) – дуже легкий і біосумісний метал, сприяє остеointegraції через залучення стромальних стовбурових клітин кісткового мозку [192]. Він впливає на процеси кісткового ремоделювання, стимулюючи активність остеобластів, завдяки чому оптимізується остеогенез. Також сприяє підвищенню чутливості рецепторів клітин кісткової тканини до дії паратиреоїдного гормону (ПТГ), внаслідок чого, ймовірно, знижується його секреція [193]. Хоча магній в організмі міститься у досить значній кількості, а близько 50–60% знаходиться в кістках [194], проте навіть незначний його дефіцит спричиняє порушення росту кісток, остеопенію, крихкість кісток скелета та остеопороз, що призводить до зміни структури кристалів неорганічного компонента кісткової тканини. При цьому зменшується секреція і активність ПТГ та виникають перші незначні ознаки запалення. За хронічного дефіциту Mg порушується найважливіший аспект мінерального

балансу кісткової тканини – співвідношення Mg/Ca. Також дефіцит Mg уповільнює обмінні процеси в кістковій тканині та спричиняє депонування в ній токсичних металів (насамперед кадмію і плюмбуму) [187, 195]. Дерегуляція гомеостазу магнію спричиняє хронічний хондрокальциноз за осифікуючого міозиту та позаскелетні осифікації і кальцифікації. Наслідки дефіциту магнію можуть бути передбачуваними, оскільки він індукує активність низки різнопланових ферментів – лужної фосфатази, АТФ-ази, фосфокінази.

Низький рівень позаклітинного Mg призводить до гальмування проліферації остеобластів на тлі посиленої продукції оксиду азоту (NO) через активізацію індукованої NO-синтази [2, 154]. Це спричиняє збільшення популяції остеокластів з паралельним уповільненням синтезу кісткових протеогліканів, глікозаміногліканів, колагену та еластину. При чому експериментально доведено, що і недостатній, і надмірний рівень Mg негативно впливають на кісткову тканину.

Вважають [188], що висока концентрація магнію призводить до вад мінералізації за рахунок заміщення кальцію на Mg у структурі кристалів гідроксіапатиту, пригнічує утворення позаклітинного матриксу та підтримує проліферацію навпаки хондроцитів. При цьому гальмується не тільки осадження на мінералізовану матрицю мезенхімальних стовбурових клітин та остеобластів, але й надлишкова мінералізація, зумовлена дією кальцію у прехондрогенних клітинах.

Участь заліза (феруму, Fe) у широкому діапазоні метаболічних процесів, зумовлює його непересічну роль у запаленні та реакціях імунної відповіді. Зокрема, дефіцит заліза впливає на гомеостаз кісток, внаслідок чого порушується як формування, так і резорбція кісткової тканини, що призводить до зниження міцності, маси та мінеральної щільності кістки, зміни її мікроархітекtonіки [196, 197]. У разі надлишку феруму змінюється метаболізм як в остеобластах, так і в остеокластах, спричиняючи порушення диференціації клітин [190, 196, 198, 199]. Ряд досліджень засвідчує [200,

201], що продукція активних форм кисню за надлишку заліза призводить до окислювального стресу в остеобластах та супроводжується високим вмістом у сироватці крові TNF-, IL-6, TGF-1 та остеопонтину, які стимулюють остеокласти та відповідно резорбцію кісткової тканини через RANKL [201].

Безпосередньо активує остеосинтез цинк (Zn) через вплив на остеобласти і остеокласти сприяючи при цьому диференціюванню остеобластів і хондроцитів та одночасно гальмуючи метаболізм у остеокластах [203, 204]. Заразом лужна фосфатаза, колагеназа та аміноацил-тРНК-синтетаза будучи цинк-залежними ферментами активують кістковий метаболізм [205]. Іони цинку, ймовірно, стимулюють диференціювання остеобластів шляхом модуляції експресії гена транскрипційного фактора Π [206], а в остеокластах вони блокують шляхи диференціювання RANKL і TNF [207].

У результаті дефіциту цинку уповільнюється ріст кісток, виникають різні аномалії скелета та остеопенії. Ці біологічні ефекти реалізуються і препаратами цинку, які модулюють обмін кісткової тканини, стимулюючи утворення остеобластів, одночасно пригнічуючи диференціацію остеобластів, що в результаті посилює міцність кісток [208]. Вони також послаблюють токсичний вплив інших металів, зокрема кадмію, що використовується у профілактиці та лікуванні деяких типів патологічної втрати кісткової маси [209–210].

В свою чергу мідь (купрум, Cu) входить до складу ферментів, які сприяють утворенню міжмолекулярних ковалентних зв'язків між фібріллами колагену. Сила міжмолекулярних зв'язків впливає на міцність колагенових фібрил. Водночас купрум вважається незамінним мікроелементом [211]. Про дефіцит міді вкрай недостатньо інформації, проте достеменно відомо, що наслідками його нестачі є порушення синтезу колагену, які супроводжуються зниженням мінералізації та осифікації центрів росту і неповноцінністю суглобового хряща. В подальшому це

призводить до гіпоплазії, деформацій і крихкості кісток та частих переломів [187, 188, 211].

Також з дефіцитом міді низького чи помірного рівня пов'язаний розвиток остеопоротичних змін. Основним механізмом цього є зниження активності лізілоксидази, що перешкоджає «зшиванню» колагену з еластином, унаслідок чого знижується міцність кісткової матриці. Заразом зменшення активності супероксиддисмутази гальмує функціональну активність остеобластів, оскільки в цьому разі зростає концентрація вільних радикалів, що продукуються остеокластами. І навпаки, надлишок міді може генерувати вільні радикали, які індукують оксидне (перекисне) окиснення ліпідів, що зумовлює порушення метаболізму кісток та проявляється генералізованою втратою їх щільності, рахітом та аномальними остеофітами [211].

Разом з тим відомі антибактеріальна активність і проангіогенний потенціал міді зумовлюють зменшення частоти інфекцій, пов'язаних з використанням імплантатів, але й неоангеогенез з формуванням більшої мінеральної щільності кісткового регенерату, особливо навколо імпланту. Також доведено [188, 211, 212], що оптимальний рівень міді знижує швидкість резорбції кісткової тканини.

Алюміній (Al) – мікроелемент, що бере участь у розвитку хондроцитів та остеоцитів, впливає на регенерацію кісткової, сполучної та епітеліальної тканин. У свою чергу його надлишок за результатами експериментальних і клінічних досліджень гальмує засвоєння Ca, Mg, P, заміщуючи їх [213–215]. При цьому шкідливий вплив алюмінію посилюється за дефіциту кальцію та магнію, що негативно впливає на синтез колагену, пригнічує кісткоутворення та порушує ремоделювання кісток, а це у подальшому призводить до різноманітних видів остеодистрофії та остеомалії [216, 217]. Незважаючи на низьку біодоступність 60% алюмінію, що зберігається в організмі, знаходиться в кістках, а це збільшує його період напіврозпаду та робить токсичність кумулятивною [218]. Незважаючи на переважне накопичення в кістках рівень

алюмінію не корелює з появою або ступенем остеопорозу та, швидше за все, не відіграє суттєвої ролі в його розвитку [213, 219, 220].

Негативний вплив алюмінію на кістковий метаболізм реалізується через клітинні компоненти кісткової тканини і процеси її мінералізації. Немає сумніву, що відкладення алюмінію в кістковій тканині на фоні її мінералізації викликає фізико-хімічні зміни, які гальмують накопичення кальцію та посилюють його вивільнення. Кілька досліджень показали [220], що токсичність алюмінію щодо остеобластів і остеокластів спричинена пригніченням процесів їх проліферації та клітинної диференціації.

Стронцій (Sr), що відноситься до групи важких металів, володіє водночас унікальною здатністю стимулювати диференціацію остеобластів і сприяти утворенню нової кісткової тканини. В зв'язку з цим він використовується, як ранелат стронцію, у лікуванні пацієнтів з остеопорозом [221]. При чому перевага стронцію ранелату перед іншими антиостеопоротичними препаратами зумовлена його здатністю роз'єднувати молекулярно-біохімічні процеси надмірного (неконтрольованого) ремоделювання кістки, сприяючи остеогенезу та одночасно пригнічуючи резорбцію кісткової тканини [222–224].

Кремній (Si) бере участь у метаболізмі кісток як через анаболічні, так і катаболічні процеси, він сприяє гомеостазу кісток, регенерації та збільшує їх мінеральну щільність [225, 226]. Одним із відомих остеогенних механізмів кремнію є індукція через трансформуючий фактор росту- β проліферації остеобластів і синтезу ними колагену I типу, а також залучення клітин-попередників через імуномодуляцію моноцитів [79, 227–230].

Важливу роль у метаболізмі кісткової тканини відіграє бор (B), який регулює обмін паратиреоїдного гормону, впливає на обмін Mg, Ca, P, вітаміну D і в комплексі з цими мінеральними речовинами попереджує розвиток остеопорозу. Проте бор не відноситься до незамінних мікроелементів, оскільки достеменно невідомо яка із біохімічних реакцій кісткового метаболізму безпосередньо з ним пов'язана. Проте відомо [231],

що він впливає на активність багатьох ферментів, що забезпечують остеогенні процеси із сприятливим на міцність, механічні властивості та мікроархітектоніку трабекулярної кістки. Водночас низький рівень бору в організмі призводить до зниження щільності хондроцитів у зонах проліферації в пластинах росту кісток, посилення симптомів дефіциту вітаміну D і магнію, до дисбалансу в концентраціях остеотропних макро- і мікроелементів, що особливо стосується магнію, міді та цинку. Заразом взаємодія бору із стероїдними гормонами, зокрема з 17-естрадіолом, зумовлює підвищення їх концентрації та остеогенного ефекту зі збільшенням об'єму трабекулярної кістки, щільності ростової пластинки та посилення експресії трабекулярного фактора каппа-В-ліганду в остеобластах [231, 232, 234].

Германій (Ge) хоча і подібним до кремнію за впливом на кістковий метаболізм, проте його вплив на процеси остеогенезу мало відомий. Мінеральні солі германію можуть протидіяти деяким ефектам виснаження кремнію, хоча концентрації, які викликають позитивні та шкідливі ефекти, дуже близькі. Неорганічна сполука германію (полі-транс-(2-карбоксиетил) германій-сесквіоксид або (Ge-132) є менш токсичною і була випробувана як засіб від остеопорозу. При цьому встановлено [96, 235–242] покращення мінеральної щільності та вмісту мінеральних речовин у кістковій тканині з посиленням міцності кісток.

Такий мікроелемент, як кадмій (Cd) може знижувати життєздатність остеобластів, здатність до мінералізації та активність лужної фосфатази [243].

Отже, біологія та біохімія кісткового скелета надзвичайно складні й ефективно функціонують в умовах рівноваги між клітинами, органічними молекулами та неорганічними компонентами. Водночас інкорпорований у кістковий органічний матрикс гідроксиапатитний компонент зумовлює не тільки міцність, а й біомеханічні властивості кістки. Водночас низка мікроелементів беруть участь як у формуванні структурного каркасу кісткового неорганічного компонента, так і у його хімічних зв'язках з

колагеном I типу через молекулярно-біологічні механізми фізіологічного і репаративного остеогенезу клітинно-опосередкованого, гормонального, цитокінового чи ферментативного типу. У зв'язку з цим їх дефіцит чи надлишок може бути лімітуючим чи тригерним чинником порушень кісткового метаболізму та відповідно спричиняти ризики кісткової дисрегенерації і патологічних переломів або не створювати умови для оптимального перебігу репаративного остеогенезу.

При цьому клініко-патогенетичні аспекти впливу різних форм мікроелементів для оптимального розвитку та метаболічного функціонування кісткової тканини, взаємодії її клітинних елементів і остеοімунологічних реакцій за репаративного остеогенезу залишаються недостатньо вивченими.

1.2. Роль остеозаміщення у репаративному остеогенезі

1.2.1. Принципи і засоби остеозаміщення. Кісткова тканина, на відміну від інших, володіє унікальними регенеративними властивостями, завдяки яким за стабільної фіксації досить великі за об'ємом пошкодження кісток скелету можуть успішно відновлюватися. З клінічних позицій зрощення перелому – досить тривалий у часі багатостадійний процес, на який впливає безліч чинників: інтенсивність та морфо-функціональні особливості ділянки травми, характер та ступінь пошкодження кістки і м'яких тканин, наявність посттравматичних розладів периферичного кровопостачання, способи і методи остеосинтезу, післяопераційні інфекційно-запальні ускладнення, наявність уроджених вад кістки або супутньої патології, пов'язаної з порушенням структурно-функціонального стану кісткової тканини (остеопороз, неоплазії, ендокринна патологія тощо). В ідеалі консолідація перелому призводить до реституції (повної регенерації), що характеризується заміщенням кісткового дефекту тканиною, повністю ідентичною зруйнованій без будь-яких гістоморфологічних відмінностей [6, 10, 13, 86, 31–34, 110].

Найскладнішими серед травм опорно-рухового апарату як у людини, так і у домашніх тварин, є травматичного походження осколкові та патологічні переломи на підґрунті рахіту, остеопорозу чи кісткових неоплазій переломи довгих трубчастих кісток, за яких застосування лише методів остеосинтезу не завжди забезпечує оптимальний перебіг репаративної регенерації кісткової тканини, оскільки за наявності багатоплощинної лінії злому та кісткових дефектів втрачається її регенеративний потенціал, в першу чергу, з причин втрати остеокондуктивності та порушень локальної гемодинаміки і мікроциркуляції [2, 9, 21, 48, 55, 56]. Кісткові дефекти, які виникають за осколкових чи патологічних переломів, зумовлюють збільшення кількості післяопераційних ускладнень, а у подальшому можливі розлади статико-динамічної функції травмованої кінцівки і навіть зміни загального стану організму тварини в цілому.

В 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 [5, 8, 244, 245]. При цьому відновлення репаративного потенціалу кісткової тканини може бути досягнута шляхами остеобластного (трансплантація детермінованих остеогенних продромальних клітин), остеоіндуктивного (індукція BMP фенотипового перетворення поліпотентних стовбурових клітин сполучнотканинного ряду в остеобласти), стимульованого (застосування факторів росту) чи остеокондуктивного (пасивна стимуляція остеогенних клітин аллогенними кістковими трансплантами, синтетичними чи напівсинтетичними імплантатами) остеогенезу [246–250].

З цією метою, запропоновано досить значну кількість біологічних і синтетичних остеозаміщувальних матеріалів для відновлення кісткової тканини, кожен із яких має певні механічні, біологічні, фізико-хімічні властивості та особливості взаємодії з кістковою тканиною [2, 8, 67, 251–254].

Нині запропоновано досить велику кількість остеозаміщувальних матеріалів, але жоден з них не є ідеальним. Хоча «золотим стандартом» у цьому разі вважається аутокістка, проте і вона має низку недоліків: унеможливлення заміщення великих за об'ємом дефектів, наявність додаткової хірургічної травми в ділянці відбору аутотрансплантата та ризики інфікування, втрата нормальної структури та функції «органа-донора», збільшення часу операції, відсутність повноцінної аутокістки при системному остеопорозі, етичні та фінансові проблеми [3, 63]. Тому недоліки аутоостеозаміщення є ще більш вагомими у ветеринарних пацієнтів, ніж у гуманній медицині.

До засобів для остеозаміщення також належать алогенні (гетерологічні) трансплантати – пересадка кістки від іншої особини в межах біологічного виду та ксенотрансплантати – міжвидові (отримані від тварин іншого виду). Використання таких матеріалів біологічного походження також має певні недоліки: передача інфекції від тварини-донора, складнощі при консервації зразків, вирішення проблеми тканинної несумісності і, як наслідок, занадто повільна перебудова або відторгнення трансплантату, неконтрольований ступінь резорбції. Такі імплантати нажалі частково втрачають остеокондуктивні й остеоіндуктивні властивості в процесі виготовлення, стерилізації та зберігання, а внаслідок імунологічного конфлікту вони можуть піддаватися неконтрольованій резорбції [255–257].

Таким чином, ускладнення, що виникають за остеозаміщення ауто- чи алогенними кістковими матеріалами обмежують їх використання у широкій клінічній практиці. Натомість пропонуються інші різноманітні матеріали біогенного походження.

До матеріалів біогенного походження належать похідні біологічних субстратів – плазма чи фібрин, збагачені тромбоцитами, колаген, колагеновий гель, де мінералізований чи децелюлярний кістковий матрикс, хітозан тощо, які можуть використовуватися як моноімплантат, так і в поєднанні з іншими, у тому числі керамічними матеріалами [89, 91, 93, 94,

248, 258–262]. Однак такі матеріали не володіють остеокондуктивністю, а здебільшого в якості матриці для адгезії остеогенних клітин чи джерела різноманітних факторів росту.

До синтетичних (алопластичних) остеозаміщувальних матеріалів належать: *синтетичні полімери* – нерозсмоктувані (поліметилметакрилат) та розсмоктувані (полігліколід, полідіаксанон); *керамічні матеріали* – біоінертна кераміка (оксиди алюмінію та цирконію) та біоактивна кераміка (кальцій-фосфатна); *біоскло* – нерезорбне (охолоджені розплави SiO_2 , MgO , P_2O_5 , Al_2O_3 та ін.), резорбне (охолоджені розплави Na_2O , K_2O , CaO); *біоситали* – нерезорбні (кристалізоване нерозчинне скло), резорбні (кристалізоване розчинне скло); *склокераміка* – нерезорбна, резорбна (комбінація керамічних порошків із біосклом) [2, 8, 69–72].

На сьогодні розроблено і впроваджено у практику ряд остеозаміщувальних матеріалів із колагену зарубіжного виробництва з комерційною назвою Коллост, Остеодент; колаген у поєднанні з кальцій-фосфатною керамікою Гапкол, Колапол-КПЗ, Коллапан, Біоматрикс. Серед фірмових найменувань препаратів із демінералізованого кісткового матриксу великої рогатої худоби – OsteoGraf, BioOss, Endobon, Остеоматрикс [2, 263–270].

Заразом на ринку представлено низку композитних матеріалів вітчизняного і зарубіжного виробництва на основі гідроксиапатиту, α - чи β -трикальційфосфату [2, 8, 69, 71, 244, 271–273], а саме Гідроксиапол, Біомін (на основі фосфатів кальцію), Біомін Г (лише на основі гідроксиапатиту), Біомін Т (з β -трикальційфосфатом), Біомін ГТ (суміш ГТ і β -ТКФ).

В цілому передбачається, що матеріали для заміщення кісткових дефектів повинні володіти наступними характеристиками: біологічною сумісністю, здатністю до поступової резорбції та заміщення кістковою тканиною, безпосередньою остеоінтеграцією та остеоіндукцією, механічною стабільністю та достатньою пористістю (не менше 60–85%), можливістю моделювання безпосередньо під час оперативного втручання та стерилізації

без втрати властивостей, високу регенеративну активність, оптимальні показники в'язкості і пластичності, піддаватися контрольованій біодеградації чи біорезорбції [2, 76, 272–273].

Ключовим фактором за остеозаміщення є остеоіндуктивність імплантів. Оскільки більшість синтетичних засобів для остеозаміщення володіють лише остеокондуктивними властивостями, їх досить часто поєднують з речовинами здатними до індукції та регуляції молекулярно-біологічних механізмів остеогенезу. Це можуть бути як фармакологічні засоби, так і аутологічні біоактивні речовини. До них належать стовбурові клітини, кісткові морфогенетичні білки і фактори росту, що на різних етапах консолідації переломів здатні стимулювати остеогенез, як правило, за рахунок індукції диференціювання мезенхімальних стовбурових клітин та міграції остеобластів, утворених із клітин-попередників, в ушкоджену ділянку [2, 26, 28, 125, 159, 274]. Заразом, для надання остеоіндуктивних властивостей керамічним матеріалам їх легують іонами мікроелементів (натрію, калію, цинку, алюмінію, кремнію, германію, срібла, міді, магнію, стронцію) або насичують лікарськими речовинами [275–277].

Проте, зазначені матеріали здебільшого знаходяться на стадії експериментальних досліджень. При цьому застосування композитних остеотропних матеріалів у ветеринарній травматології та ортопедії ще не одержали достатнього обґрунтування, а наявні результати клініко-експериментальних досліджень щодо остеозаміщення у тварин нерідко носять дискусійний характер.

1.2.2. Переваги кальцій-фосфатної кераміки для остеозаміщення.

Всі остеозаміщувальні матеріали суттєво різняться за остеоіндуктивними, остеointegraційними, остеокондуктивними і остеогенними властивостями, а також за ступенем біодеградації. Серед них найбільш динамічно від стадії експерименту до доклінічного випробування і клінічної апробації просувається кальцій-фосфатна кераміка, яка складається з біосумісних фаз –

гідроксиapatиту ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, ГАП) та β -трикальційфосфату (β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, β -ТКФ) [5, 69, 77, 271–273, 278, 279].

Гідроксиapatит завдяки подібності до елементного і фазового складу з мінеральним компонентом кісткової тканини є природною мінеральною формою апатиту кальцію. Використання β -ТКФ зумовлене тим, що за взаємодії із внутрішнім середовищем організму він швидше піддається резорбції і перетворюється на біологічний гідроксиapatит, його розчинність вища за ГАП, а кристалічна структура відрізняється від структури мінерального компонента, що, ймовірно, прискорює резорбцію, а тим самим і вивільнення іонів кальцію та фосфору [2, 5, 90, 267, 277, 278].

Як щільна, так і пориста кераміка, залежно від технології виготовлення, володіє різними властивостями та застосовується у вигляді наступних лікарських форм – порошок, різні за розміром і формою гранули та блоки, що розширює їх використання у певних ділянках скелета за наявності дефектів неправильної конфігурації. Розміри гранул гідроксиapatиту можуть варіювати від одного до декількох сотень нанометрів. Останніми роками в літературі з'явився новий термін «нанокераміка біосумісна», що означає наноструктурований керамічний матеріал, що застосовується для остеозаміщення [2, 8, 71, 279–281].

Тобто, синтетична кальцій-фосфатна кераміка – це аналог мінеральної речовини живої кістки, споріднена з нею за своїм складом, а тому має абсолютну біосумісність і здатна брати участь у процесі репаративного остеогенезу, інтегруватися з кістковою тканиною, слугувати каркасним матеріалом (матрицею) та входити до складу кісткової тканини, яка заміщує імплантат. Така кераміка містить лише фізіологічні іони, які не можуть викликати імунні реакції організму, її участь в утворенні кістки реалізується за рахунок включення іонів кальцію й фосфору в процес остеогенезу. Крім того, іони кальцію та фосфору, що вивільняються у процесі резорбції КФК, взаємодіють між собою з утворенням нових кристалів, які в подальшому стають готовим мінеральним компонентом новоутвореного кісткового

регенерату в процесі остеозаміщення. Наявність у кальцій-фосфатної кераміки пор надає її властивостей матриці для адгезії, проліферації прогеніторних і ендотеліальних клітин, що зумовлює певний ступінь остеоіндуктивності цього матеріалу [2, 8, 71, 73, 77, 267, 271].

Біологічні властивості КФК залежать від багатьох чинників його синтезу, формування виробів, умов термообробки, що у кінцевому підсумку впливає на якість кераміки, зокрема терміни її резорбції й на формування умов для оптимізації регенеративних механізмів у кістковій тканині. Важливою перевагою кераміки, що відрізняє її від низки імплантантів, є можливість регулювання її властивостей у широких межах. Зокрема, через зміну пористості, співвідношення Са:Р, фазового та хімічного складу, морфології частинок, мікроструктури, стану поверхні і у такий спосіб створювати різні параметри остеокондуктивності та остеointegraції кальцій-фосфатних остеозаміщувальних матеріалів і швидкості біодеградації в кістковій тканині [69, 78, 271–273, 279, 281–285].

У хірургічній практиці і стоматології гуманної медицини досить часто використовують кальцій-фосфатну кераміку за оперативного втручання на кістковій тканині, зокрема, для заповнення дефектів, що виникли у разі видалення пухлин або у випадках значних за розмірами діастазів між кістковими уламками, які виникають у результаті травм, а у стоматології для відновлення зубної емалі, пломбування каналу кореня зуба тощо [23, 24, 89, 286, 287].

В цілому, переваги синтетичної кальцій-фосфатної кераміки для остеозаміщення включають високу біологічну сумісність, відсутність імунних реакцій організму (апірогенність), достатній рівень інтеграції імплантату з кістковою тканиною без утворення фіброзного прошарку, контрольовану біодеградацію та поступове заміщення матеріалу повноцінною кістковою тканиною, простоту зберігання і можливість багаторазової стерилізації, відсутність ризиків передачі інфекції, можливість створення різних лікарських форм і регулювання їх властивостей,

неоангіогенез безпосередньо у пори імплантату, відсутність етичних проблем та обмежень щодо релігійних упереджень [2, 69].

При цьому заміщення кісткової тканини КФК відбувається за типом участі мінерального компоненту в ремоделюванні кісткової тканини, а в її біодеградації беруть участь ті ж самі механізми, що й у резорбції кісткової тканини. Зважаючи на високу спорідненість синтетичного ГАП з біологічним, біоактивна кераміка на основі гідроксиапатиту вважається найперспективнішою, проте, пошук можливостей підвищити біоактивність матеріалу продовжується і, перш за все, базується на результатах дослідження процесів біомінералізації в організмі, оскільки розроблені біоматеріали повинні включатися в природні процеси відновлення кісткової тканини не порушуючи, а сприяючи їх нормальному перебігу.

1.2.3. Використання біоматеріалів для потреб остеозаміщення. Існує безліч біоматеріалів призначених для регенерації кісток: демінералізований кістковий матрикс, децелюляризовані кісткові каркаси, колаген, плазма та фібрин, збагачені тромбоцитами. Незважаючи на велику кількість розроблених біоматеріалів, частка тих, які використовуються клінічно у ветеринарній медицині досить обмежена та одноманітна.

Особливістю взаємодії біоактивних матеріалів з кістковою тканиною є відсутність формування сполучнотканинної реакції, яка зазвичай формується за потрапляння в організм будь-якого стороннього тіла. Вони навіть можуть бути донорами іонів, що впливають на кальцієвий обмін в ділянці травми. Це зумовлює інтегрований біохімічний зв'язок між імплантатом і кісткою, тобто забезпечує певний ступінь остеointегративності. Основними вимогами щодо біосумісності цих матеріалів є відсутність надмірної місцевої запальної реакції, токсичної, алергічної та канцерогенної дії на тканини і організм у цілому, збереження функціональних властивостей протягом передбаченого терміну дії.

Залежно від виду біоматеріалу і методів їх виготовлення вони певною мірою впливають на кістковий метаболізм. Хоча вже згаданий золотий стандарт остеозаміщення, аутологічна кістка, має низку безперечних переваг, проте цей аутологічний матеріал не завжди може мати високий потенціал для регенерації кістки з огляду на вік донора та наявність супутніх захворювань [3, 91, 92]. У такому разі, наприклад, збагачені тромбоцитами плазма (PRP) крові чи фібрин (PRF) здатні компенсувати дефіцит остеоіндуктивності та остеointегративності.

Застосування збагаченої тромбоцитами плазми (PRP) для регенерації кісткової тканини створює можливості використати потужність каскаду факторів росту, що містяться в тромбоцитах і вивільняються внаслідок їх агрегації та дегрануляції у нативній гематомі перелому. PRP отримують шляхом виділення та концентрування тромбоцитів із периферичної крові за допомогою спеціалізованих комерційних пристроїв чи лабораторних центрифуг. Це фракція плазми аутологічної крові, що містить концентрацію тромбоцитів вищу за рівень фізіологічної норми [86, 246]. Вона містить різні ключові мітогенні та хемотаксичні фактори росту, включаючи тромбоцитарний фактор росту (PDGF), інсуліноподібний фактор росту (IGF), фактори росту фібробластів (FGF), трансформуючий фактор росту-бета (TGF- β) і VEGF [93, 290–295]. Розрізняють наступні форми плазми, збагаченої тромбоцитами: рідку (неактивовану) та гель (активовану). Водночас за досліджень впливу PRP на консолідацію переломів клінічні результати досить суперечливі [90].

В свою чергу, фібрин, збагачений тромбоцитами, містить у своєму складі аутологічну матрицю фібрину, збагачену лейкоцитами, тромбоцитами, цитокінами. Його тетрамолекулярна структура виконує функцію біологічної матриці, що здатна до резорбції. Вона індукує розвиток судинної сітки та спрямовану міграцію клітин. До переваг PRF над іншими категоріями тромбоцитарних мас відносять простоту приготування, відсутність антикоагулянтів та активаторів, однорідність і стабільність [90, 263]. Цей

аутологічний продукт не містить сторонніх речовин, які можуть негативно позначитися на процесах регенерації та є абсолютно фізіологічним [8]. Використовується фібрин, збагачений тромбоцитами, у вигляді щільного згустку (PRF) або ж у ін'єкційній (рідкій, гелевій) формі (i-PRF).

Плазму та фібрин, збагачені тромбоцитами, застосовують як за простих, так і за складних осколкових переломів, проте у випадках об'ємних дефектів їх комбінують із матеріалами, які володіють вираженими остеокондуктивними властивостями, оскільки ця група матеріалів володіє лише остеointegraційними і остеoіндуктивними властивостями [93, 259, 289, 292–294].

Також запропоновано матеріали для остеозаміщення, які складаються з чистого колагену або ж поєднані з іншими різновидами матеріалів, зокрема гідроксиапатитом. При цьому колаген виконує роль матриці для диференціювання і міграції остеобластів, сприяє ангиогенезу та мінералізації. Однак результати щодо його впливу на репаративний остеогенез не завжди узгоджуються. Незважаючи на те, що колаген є природним тканинним міжклітинним білком, якому притаманний ряд властивостей, таких як біосумісність, біодеградація та здатність активувати міжклітинну взаємодію, проте він є чужерідним і може викликати імунозалежні реакції організму і в подальшому призводити до подовження фаз репаративного остеогенезу, а в результаті до неякісної консолідації переломів кісток [2, 8, 295–296].

Демінералізовий кістковий матрикс – це різновид кісткового алотрансплантата, у якому щонайменше 40% мінерального вмісту кісткового матриксу видаляється слабкою кислотою, а колагени, неколагенові білки та фактори росту залишаються. Його остеокондуктивність забезпечується каркасом для заселення клітин і для створення нової кістки після демінералізації, а остеoіндуктивні властивості визначаються факторами росту, які прямо корелюють з методами отримання цього матрикса. В приготуванні більшості комерційно доступних де мінералізованих кісткових матриксів зазвичай використовують 0,5–0,6 М соляну кислоту як

демінералізатор. Їх остеогенні механізми подібні до аутогенного трансплантата з факторами росту та зумовлені ендохондральним каскадом осифікації з утворенням кістки *de novo* на місці імплантації [297–301].

Доволі новою стратегією у використанні біоматеріалів є технології вивільнення ліків, завантажених на імплантований матеріал, у визначений період часу з метою терапевтичного ефекту або інтеграція мікроелементів у біоматеріали для покращення регенерації кісткової тканини [302, 303], що також може бути перспективним у травматології та ортопедії тварин-компаньйонів як за травматичних, так і за низькоенергетичних переломів кісток.

1.2.4. Біоінженерія мінеральних сполук у репаративному остеогенезі. Біокераміка – це клас неорганічних матеріалів, які традиційно відіграють важливу роль в інженерії кісткової тканини. Ці матеріали широко класифікуються як кристалічна кераміка або ж частково як кристалічна склокераміка. Більш зрозумілою виявилася здатність цих матеріалів зумовлювати біологічні ефекти, передбачувані (запрограмовані) такі, наприклад, як остео- та ангіогенез, шляхом вивільнення біологічно активних іонів, що дало поштовх до розробки біокерамічних матеріалів з метою оптимізації регенерації кісткової тканини, які можуть включати досить широкий спектр біоактивних іонів, зокрема Mg^{2+} , Si^{4+} , Cu^{2+} , Sr^{2+} , Li^{+} , Ag^{+} . В цьому разі сульфат кальцію, фосфат кальцію, кальцій-фосфатні цементи, біоактивне скло або їх комбінації є найбільш поширеними синтетичними замінниками кістки, доступними на даний час [304–307].

Так, сульфат кальцію (паризький гіпс) є різновидом остеокондуктивної та біорезорбтивної кераміки, яку готують шляхом нагрівання гіпсу із певною кристалічною структурою та виготовляють у різних формах (гранули, в'язкі рідини для ін'єкцій, які затвердівають) тощо. Незважаючи на відсутність макропористої структури, сульфат кальцію має швидку резорбцію, але слабку міцність, тому його можна використовувати лише для заповнення

невеликих кісткових дефектів із жорсткою внутрішньою фіксацією. При цьому формування судинної сітки та нової кістки відбувається паралельно із резорбцією матеріалу. Однак легкість приготування та відносно низька вартість зумовили те, що сульфат кальцію використовують досить часто як самостійний матеріал, так і у поєднанні з іншими синтетичними замінниками кістки чи факторами росту. Також перспективною вважається імобілізація на ньому антибіотиків [308–310].

Гідроксиапатит (ГАП) є природною мінеральною формою апатиту кальцію і становить близько 50% ваги кістки, що пояснює його остеокондуктивні та остеоінтеграційні властивості. Між тим, ГАП крихкий і слабкий під час розтягу та зламу, але стійкий до механічного тиску, а після імплантації резорбуватися на 30–40 % від початкового об'єму протягом кількох місяців. Макропористість (діаметр пор >100 мкм) і взаємозв'язок пор забезпечують адгезію, проліферацію та диференціювання клітин-попередників остеогенезу, а також реваскуляризацію та подальшу інтеграцію у кісткову тканину за імплантації. Однак відносно високе співвідношення Ca/P і кристалічність уповільнюють швидкість резорбції. Було продемонстровано, що за імплантації циліндрів з пористого гідроксиапатиту в губчасту кістку кролів, через шість місяців спостерігалось зменшення об'єму лише на 5,4 %, тоді як для трикальційфосфатної кераміки цей показник становив 85,4 % за тих же умов. Гідроксиапатитні імплантати, що резорбуються тривалий час, можуть зменшувати внутрішню міцність кістки у ділянці кісткового мозоля через зниження механічних властивостей. У зв'язку з цим чистий ГАП частіше наноситься як покриття на металеві або у ділянки з низьким механічним навантаженням [2, 90, 226, 253, 311, 312].

Трикальційфосфат (ТСР, ТКФ), особливо ромбоєдрична β -форма (β -трикальційфосфат, β -ТСР), має нижче співвідношення Ca/P, ніж у гідроксиапатиту, що прискорює його резорбцію. Як і ГАП, ТКФ має навіть більше взаємопов'язаних пористих структур, які безпосередньо сприяють утворенню ретикуло-фіброзної тканини, судинної сітки та новоутвореної

кісткової тканини, але в той же час послаблюють механічні властивості [2, 90]. Через термодинамічно нестабільний фізіологічний рН частина ТСР після імплантації неминуче перетворюється на гідроксиапатит, що частково перешкоджає деградації ТСР, а більшість його деградує шляхом фагоцитозу протягом 6–24 місяців. Це робить ТСР ефективним для заповнення кісткових дефектів, спричинених травмою та доброякісними пухлинами, але з недостатньою остеокондуктивністю через непередбачувану динаміку біодеградації [313].

Особливістю α -ТКФ є більш висока розчинність в порівнянні з β -ТКФ, що вкрай важливо при застосуванні його і матеріалів на його основі в тканинній інженерії. Структура α -ТКФ є більш високоорганізованою і утворюється при більш високій температурі або більш жорстких гідротермальних умовах, але домішки можуть змінювати ці умови [2].

Двофазний фосфат кальцію (ВСР) – ще одна широко використовувана комерційна кераміка, отримана шляхом змішування гідроксиапатиту та трикальційфосфату в різних концентраціях з метою поєднання переваг обох солей кальцію. Шляхом корегування рецептури можна контролювати швидкість розчинення та механічні властивості в межах певних діапазонів, а потім вносити у кістковий дефект або як покриття для імплантатів [314] .

Біоактивне скло, також відоме як біоскло, відноситься до групи синтетичних силікатних керамічних виробів і спочатку складалося з діоксиду кремнію (SiO_2), оксиду натрію (Na_2O), оксиду кальцію (CaO) і пентаоксиду фосфору (P_2O_5). Пізніше воно було модифіковано до більш стабільного складу шляхом додавання оксиду калію (K_2O), оксиду магнію (MgO) і оксиду бору (B_2O) за ключового компонента силікату – 45–52 % маси. Цей оптимізований склад зумовлює міцні фізичні зв'язки між біосклом і кістковою тканиною. Вважається [290, 292], що ця властивість інтеграції спричинена вимиванням і накопиченням іонів кремнію під час контакту з рідинами організму після імплантації та подальшим утворенням гідроксиапатитного покриття на поверхні біоскла. Тонке гідроксиапатитне

покриття поглинає білки та сприяє адгезії остеогенних клітин. Крім того, цей біологічний апатитовий шар частково замінюється кісткою за довготривалої імплантації. Пористість і відносно швидка резорбція в перші два тижні імплантації зумовлюють появу неоваскуляризованої тканини і новоутвореної кісткової тканини. Одне дослідження продемонструвало, що каркаси з біоскловолосна можуть повністю розсмоктуватися за шість місяців за незначної запальної реакції. Щодо механічних властивостей, то біоскло, як правило, крихке, тому його застосовують для реконструкції дефектів кісток, які не виконують опорної функції [8, 315].

Кістковий цемент з поліметилметакрилату (РММА) – один із найміцніших матеріалів в ортопедичній хірургії. Він не піддається біологічному розкладанню та не розсмоктується, тому його не можна вважати матеріалом-замінником кістки, навіть незважаючи на те, що він є найбільш часто використовуваним синтетичним матеріалом у ортопедичній практиці [67, 291]. Завдяки своїм високим механічним властивостям і зручності у використанні, двокомпонентний самополімеризуючий кістковий цемент широко застосовується в повній заміні суглобів для фіксації імплантата та за вертебропластики. Однак його полімеризація є екзотермічною реакцією, може потенційним ризиком пошкодження сусідніх тканин [2, 316–318].

Кальцій-фосфатна кераміка – складається із синтетичних гідроксиапатитів кальцію, що зазвичай виготовляються шляхом спікання за високих температур без водяної фази, а потім формуються шляхом ущільнення під високим тиском у вигляді пористих чи непористих щільних імплантатів та гранульованих частинок з порами [83]. Ці форми кальцій-фосфатної кераміки є комерційно доступними. Швидкість їх резорбції та механічні властивості тісно пов'язані зі співвідношенням Са/Р.

З поліфазної біосумісної КФК поки що відома тільки трифазна КФК (α -ТКФ, β -ТКФ і ГАП), яка володіє остеоіндуктивними властивостями за рахунок різної розчинності трьох фаз [2, 5, 8, 69, 72–74, 77, 78, 90, 226].

Таким чином, кальцій-фосфатна кераміка є досить перспективною для остеозаміщення як високоенергетичних, так і патологічних переломів за остеопорозу, стероїдно-асоційованого остеонекрозу, остеосаркоми, за інфікованих дефектів кісток і ампутаційних ран.

1.2.5. Леговані мікроелементами керамічні матеріали для остеозаміщення. Незважаючи на те, що біокерамічні матеріали демонструють зразкову хімічну та механічну стабільність, їх біоінертна природа не сприяє встановленню міцного фізіологічного зв'язку між імплантатом і кістковою тканиною, що вимагає подальшої обробки поверхні імплантатів [2, 69, 77, 319]. Принципово надання КФК остеointegraційних властивостей ґрунтується на її легуванні іонами металів, що стимулюють остеогенну диференціацію з утворенням нової кісткової тканини.

Так, остеокондуктивні властивості кераміки забезпечуються безпосередньо гідроксиапатитом та β -трикальційфосфатом, а їх легування різноманітними елементами з метою надання нових функцій, які не притаманні нелегованим керамікам, дає можливість отримати кістково-пластичний матеріал, який за своїми властивостями наближається до «золотого стандарту» остеозаміщення – аутоостеопластики. Зокрема, до композитних матеріалів додають іони натрію, калію, цинку, алюмінію, кремнію, германію, срібла, міді, магнію, стронцію, що зумовлюють їх остеoіндуктивні властивості шляхом впливу на структурно-функціональний зв'язок між материнською кісткою та імплантом.

До гомеостазу цинку чутливі багато білків, ферментів, зокрема і маркери кісткового метаболізму (лужна фосфатаза, колагеназа). Безпосередньо цинк активує ферменти окиснення та володіє подвійною дією – підтримує остеобластогенез і пригнічує остеокластогенез, а посилення остеогенезу відбувається через стимулювання синтезу колагену та підвищення активності кісткового ізофермента лужної фосфатази [203–206]. Також Zn зменшує токсичний вплив інших металів, зокрема кадмію.

Наявність у біоактивних матеріалах іонів кремнію забезпечує утворення досить тісного хімічного зв'язку з кісткою (зв'язковий остеогенез). Кремній пришвидшує процеси остеогенезу за рахунок індукування ангіогенезу, стимуляції продукування колагену 1 типу та диференціювання остеобластів, а під час ранньої кальцифікації осаджує гідроксиапатит в органічну матрицю, запобігає надмірній резорбції кісткової тканини [225, 228, 230]. Тим самим, завдяки своїй хімічній структурі, матеріали з умістом Si покращують утворення кісткової тканини, мобілізуючи з поверхні матеріалу (імплантату) певні іони та індукуючи утворення безперервного зв'язку між кістковою тканиною та поверхнею імплантату.

Германій володіє різноманітними властивостями, зокрема, протипухлинною, анальгезуючою, протизапальною, антиоксидантною, імуномодулюючою, фунгіцидною, противірусною та антимікробною дією. У випадку остеогенезу впливає на остеобласти, їх проліферацію та активізацію і пригнічує активність остеокластів [95, 96, 235–238]. Мінеральні солі Ge можуть протидіяти деяким з ефектів кремнієвого виснаження. Хоча слід зазначити, що концентрації, які мають позитивні та шкідливі впливи, дуже подібні.

У фтору є два основні механізми впливу. Він має значну схожість до іонів кальцію, а отже і до кісткового матриксу. Фтор впливає на активність остеобластів. Його помірні дози змінюють їх клітинну структуру і сприяють проліферації, збільшуючи потенціал мінералізації та моделювання апоптотичних процесів. Підвищення регуляції виробництва IGF-1 – це ще один механізм впливу фтору на остеобласти, однак прямої дії на остеокластогенез він не проявляє [230, 317].

Кобальт переважно впливає на диференціацію, дозрівання, стимуляцію та активність остеокластів, тим самим регулюючи процеси резорбції кісткової тканини. Проте основний його вплив на остеогенез реалізується через стимулювання ангіогенезу в новоутвореній кістковій тканині. Деякі дослідження [212] свідчать про антагоністичний вплив Co, такий як індукція

апоптозу в остеокластах та зниження секреції деяких запальних факторів, зокрема інтерлейкіну-6.

Стронцій сприяє остеогенній диференціації, стимулює проліферацію остеобластів, регулюючи експресію остеобластами остеопонтину (OPN), кісткового сіалопротейну (BSP) та колагену 1 типу. Він підвищує активність кісткового ізофермента лужної фосфатази, матричної мінералізації та регулює експресію ендогенного BMP-2 [223], тим самим сприяючи мінералізації кісткової тканини. Включення стронцію в неорганічні біоматеріали, мотивоване його інгібуючою дією на остеокластогенез і здатністю стимулювати остеогенне диференціювання як у здоровій, так і в остеопорозній кістці [221–223].

Водночас основний механізм, що лежить в основі дії стронцію, є хімічна схожість з кальцієм, яка визначається шляхом розподілу стронцію в кістці. Кальцій-чутливий рецептор, який дозволяє кістковим клітинам реагувати на невеликі позаклітинні зміни Ca^{2+} , виявляється чутливим до Sr^{2+} . Цей рецептор викликає каскадні реакції (наприклад, регуляція OPG та RANKL) для нормалізації гомеостазу кальцію. Використання іонів Sr для легування кісткових імплантатів забезпечує більш міцне з'єднання між кісткою та імплантом [222, 224].

Магній впливає на активність остеобластів і остеокластів, а саме зменшує проліферацію остеокластів і покращує здатність до проліферації та адгезії остеобластів, змінюючи баланс ремоделювання кісткової тканини в бік остеогенезу. Також Mg впливає на концентрацію паратиреоїдного гормону та активну форму вітаміну D, які є основними регуляторами гомеостазу кісток. Встановлено, що магній посилює мінералізацію позаклітинного матриксу за рахунок збільшення продукції колагену і фактора росту ендотелію судин (VEGF) [96, 189, 191].

Включення іонів магнію до імплантів створює остеοімунне середовище, що сприяє ангіогенезу та остеогенезу за рахунок зниження секреції прозапальних молекул TNF-а та IL-6 і посилення секреції TGF,

пов'язаного з відновленням кістки імунними клітинами. Крім того, повідомлялося, що включення іона магнію інгібує остеокластогенез та резорбцію кістки [193–194].

Ряд досліджень [96, 189, 195] засвідчують ангіогенний потенціал магнію, що формується через посилену експресію ангіогенних факторів. Завдяки своїй біорозкладній природі та механічним властивостям, подібним до кістки, Mg є перспективним металевим біоматеріалом для резорбційних каркасів, призначених для регенерації кістки.

Іони міді відомі своєю антибактеріальною активністю та ангіогенним потенціалом. Вони не тільки зменшують частоту інфекційно-запальних процесів, пов'язаних з імплантатом, але й покращують якість кістки навколо нього, збільшуючи мінеральну щільність і сприяючи формуванню нової судинної сітки. Заразом срібло проявляє антимікробні властивості в культурах клітин кісткової тканини [108, 211].

Бор, утворюючи сполуки з безліччю інших елементів і біологічно активними молекулами, включаючи вітамін D, кальцій, цинк, магній і мідь, впливає на активність низки кісткових ферментів [231, 233].

Отже, низка мікроелементів мають різноманітний позитивний вплив на кістковий метаболізм, який реалізується і через молекулярно-біологічні механізми фізіологічного та репаративного остеогенезу, що є підґрунтям до перспективи легування ними остеозаміщувальних матеріалів та металевих імплантів для фіксації кісткових уламків. Однак клініко-патогенетичне обґрунтування використання таких комбінацій чи композитів залишається все ще недостатнім як у гуманній, так і ветеринарній ортопедії.

1.3. Застосування остеозаміщення у ветеринарній ортопедії

Показання для остеозаміщення біоактивними матеріалами в першу чергу включають вирішення проблем оптимізації репаративного остеогенезу та зниження рівня ускладнень консолідації переломів із кістковими дефектами травматологічної етіології, особливо у випадках

високоенергетичних переломів, за патологічних переломів на підґрунті остеопорозу чи кісткових неоплазій, кісткової пластики за патології суглобів чи вад розвитку зокрема довгих трубчастих кісток. Частка таких показань особливо суттєва у тварин-компаньйонів і коней.

Біоскло з комерційною назвою Bonelike®, яке містить систему P_2O_5 -CaO в матриці гідроксиапатит було використано [318] в 14 клінічних випадках для заміщення дефектів кісток вільних кінцівок та кісток щелепи у собак. Консолідація переломів кісток вільного скелету з дефектами значного розміру в середньому відбувалася за 8–12 тижнів, а кісток верхньої та нижньої щелепи – 3–4 тижні, що оцінено як прискорення репаративного остеогенезу та як зменшення ризику переломів після зняття фіксуючих металевих конструкцій.

Водночас серед матеріалів для остеозаміщення за результатами доклінічних і клініко-експериментальних досліджень найближче до широкого клінічного впровадження знаходиться кальцій-фосфатна кераміка, яка пропонується як для заповнення кісткових дефектів, так і для покриття металевих фіксаційних імплантів для остеосинтезу чи ендопротезування.

Останнім часом, шляхом комплексного гістоморфологічного і клініко-рентгенологічного моніторингу, обґрунтовано застосування різноманітних матеріалів для заміщення кісткових дефектів у собак, зокрема гідроксиапатитної кераміки у складі гідроксиапатиту та β -трикальційфосфату, синтезованої в Інституті проблем матеріалознавства ім. І.Н. Францевича (м. Київ). При цьому рентгенологічно і гістологічно були доведені виражені остеокондуктивні та остеоінтеграційні властивості «Біоміну-ГТ» [2, 11].

Встановлено, що кремній у складі КФК зумовлює остеоіндуктивність за рахунок ранньої активності ендотеліальних клітин і міграції мезенхімальних клітин, які стимулюють інтенсивну остеобластичну реакцію. Зокрема, клініко-експериментально було доведено [66, 79, 277, 320], що гідроксиапатит, легований кремнієм, за осколкових переломів стегнової

кістки у собак прискорює репаративний остеогенез за рахунок скорочення запально-резорбтивної стадії та прискорення проліферативної, головним чином, з боку ендоосту з ранньою мінералізацією кісткового регенерату.

Також встановлено [246, 247], що комбіноване остеозаміщення осколкових переломів передпліччя та плечової кістки у собак кальцій-фосфатною керамікою із фібрином, збагаченим тромбоцитами, у собак забезпечує індукцію ранніх остеогенних процесів за меншої інтенсивності реакції гострої фази, супроводжується менш інтенсивним проявом запально-резорбтивної фази та забезпечує ранній неоангіогенез.

1.4. Висновок з огляду літератури

Переломи кісток і патологія суглобів, як засвідчує зарубіжний [9, 13, 15, 18, 31, 60] і вітчизняний [2, 40–42] ретроспективний і побіжний клінічний аналіз частоти хірургічної патології залишаються найбільш проблемними нозологічними групами, незважаючи на розширення можливостей візуальної діагностики та удосконалення технічних способів і засобів ортопедичного лікування. Проте головним клінічним об'єктом є тварини-компаньйони з травмами довгих трубчастих кісток. При цьому, хоча в зарубіжній практиці широко використовується міжнародна класифікація переломів кісток, що базується на анатомо-топографічному принципі, проте як і у вітчизняній практиці відсутні достовірні критерії якості та термінів консолідації переломів, частоти її ускладнень, особливо у випадках патологічних переломів чи наявності кісткових дефектів нерівнозначних за об'ємом, а також прогностичні критерії щодо ступеня втрати регенеративного потенціалу кісткової тканини. При чому використання біоінженерних принципів за лікування складних у патогенетичному, біомеханічному, оперативно технічному і видовому аспектах травматичних і патологічних переломів, а також за корегуючої остеопластики знаходиться тільки на початковому етапі.

Молекулярно-біологічним механізмом репаративного остеогенезу, який складний, відносно тривалий у часі, але унікальний серед решти регенеративних процесів в останні десятиріччя приділяється надзвичайна увага, а отримана наукова інформація вийшла за межі простого гістоморфологічного розуміння явища консолідації переломів. У низці випадків, зокрема за складних осколкових переломів втрачається регенеративний потенціал кісткової тканини і виникає необхідність застосування остеозаміщувальних матеріалів, а за остеопорузу кісткових неоплазій тощо поряд з цим формується дисрегенеративний профіль у метаболізмі кісткової тканини, що потребує також використання біоінженерних рішень.

Виходячи із молекулярно-біологічних закономірностей кісткового метаболізму, ключовою фазою в реалізації всіх стадій репаративного остеогенезу є запально-резорбтивна, яка залежить від багатьох факторів: тип перелому, вид кісткової тканини, спосіб фіксації уламків, наявність інфекційних агентів. Ці фактори в сукупності зумовлюють характер, ступінь, інтенсивність цитокінової реакції, які ще не мають достатньої клініко-нозологічної аргументації.

Серед клітин за гострої фази запалення особливу роль виконують макрофаги, які зазнають явища поляризації до про- (M1) або протизапального (M2) фенотипу. При чому, обидва типи макрофагів сприяють регенерації кісткової тканини за рахунок вивільнення прозапальних (TNF- α , IL-1, IL-6) та протизапальних (IL-4, IL-10 і TGF- β) цитокінів, а дотримання їх балансу потребує обґрунтування біомеханічних властивостей імплантів для фіксації уламків, остеокондуктивних, остеointegraційних, остеoіндуктивних і остеогенних властивостей остеозаміщувальних матеріалів та фармакологічних засобів корекції репаративного остеогенезу.

В свою чергу проблема остеозаміщення виявилася ключовою, оскільки її всебічне обґрунтування дозволяє максимально оптимізувати не тільки посттравматичний репаративний остеогенез, а й корегувати процеси

дисрегенерації. Тобто розробка біоматеріалів для використання в реконструктивно-відновних операціях на скелеті залишається актуальним питанням сучасної травматології та ортопедії. Серед них кальцій-фосфатна кераміка володіє низкою позитивних характеристик: біосумісність, спорідненість з кістковою тканиною, здатність до біодеградації, високі остеокондуктивні й остеоінтеграційні властивості. При цьому є необхідність у її удосконаленні через надання їй остеоіндуктивних властивостей та передбачуваної швидкості біодеградації з утворенням повноцінної кісткової тканини *de novo* за будь-яких типів переломів.

Навіть незначна модифікація кальцій-фосфатних матеріалів може суттєво змінити їх властивості. Зокрема, легування цих матеріалів іонами натрію, калію, цинку, алюмінію, кремнію, германію, срібла, міді, магнію, стронцію надає їм остеоіндуктивні властивості різного ступеня. Водночас спектр впливу зазначених іонів на кістковий метаболізм, а відповідно і репаративний остеогенез, надзвичайно різноманітний, тому використання композитної кераміки, легованої іонами мікроелементів, потребує проведення комплексних експериментальних досліджень з наступною широкою клінічною апробацією.

Зокрема, легування КФК германієм може надати нові властивості біоактивній кераміці, змінити характер біологічної взаємодії з кістковою тканиною та надати керамічним імплантам остеоіндуктивних, антибактеріальних, імуномодельючих і протипухлинних властивостей. Слід зазначити, що незважаючи на велику кількість робіт, присвячених біологічним ефектам германію та його сполук, майже відсутня інформація про остеозаміщення леговою германієм кальцій-фосфатною керамікою, що є одним із актуальних завдань забезпечення оптимального перебігу репаративного остеогенезу в тварин з посттравматичними і патологічними переломами кісток.

РОЗДІЛ 2

ВИБІР НАПРЯМІВ ДОСЛІДЖЕНЬ, МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ВИКОНАННЯ РОБОТИ

Дисертаційна робота виконана впродовж 2019–2023 років на кафедрі хірургії та хвороб дрібних домашніх тварин Білоцерківського національного аграрного університету. Матеріалом для дослідження були кролі, яких утримували у віварії університету, та собаки з переломами кісток, які надходили в навчально-науково-виробничу міжкафедральну клініку коней, жуйних, свиней, дрібних та екзотичних тварин факультету ветеринарної медицини Білоцерківського НАУ. Етапи проведених досліджень відображено на рис. 2.1, а їх об'єм – у табл. 2.1.

Дослідження проводили в межах програми підготовки доктора філософії (2019–2023 рр.) та науково-дослідного проекту «Доклінічні дослідження виробів з розроблених біоматеріалів» (договір № 48/1 від 27.08.2019 р.) у межах завдань науково-технічної державної теми «Розробка та доведення до впровадження в клінічну практику кісткових імплантатів різного призначення з новітніх біоматеріалів для відновлення кісткової тканини та функції кісток після поранень в бойових діях» № 0119U102083 НАН України, в якій автор виконувала підрозділ «Обґрунтування використання кальцій-фосфатної кераміки, легованої германієм».

Найбільш частими і складними наслідками скелетних травм вважаються переломи кісток, основною причиною яких є різноманітні травмуючі чинники [2, 42]. Їх лікування, залежно від анатомо-функціональних особливостей травмованої ділянки опорно-рухового апарату, типу перелому та його біомеханічних характеристик, стану кісткового метаболізму, представляє досить складну в різних аспектах проблему. У дрібних домашніх тварин найчастіше – це травматичні переломи, нанесені автомобільним транспортом, рідше – травми випадкового характеру чи навіть спонтанні переломи ідіопатичного походження [31, 60].

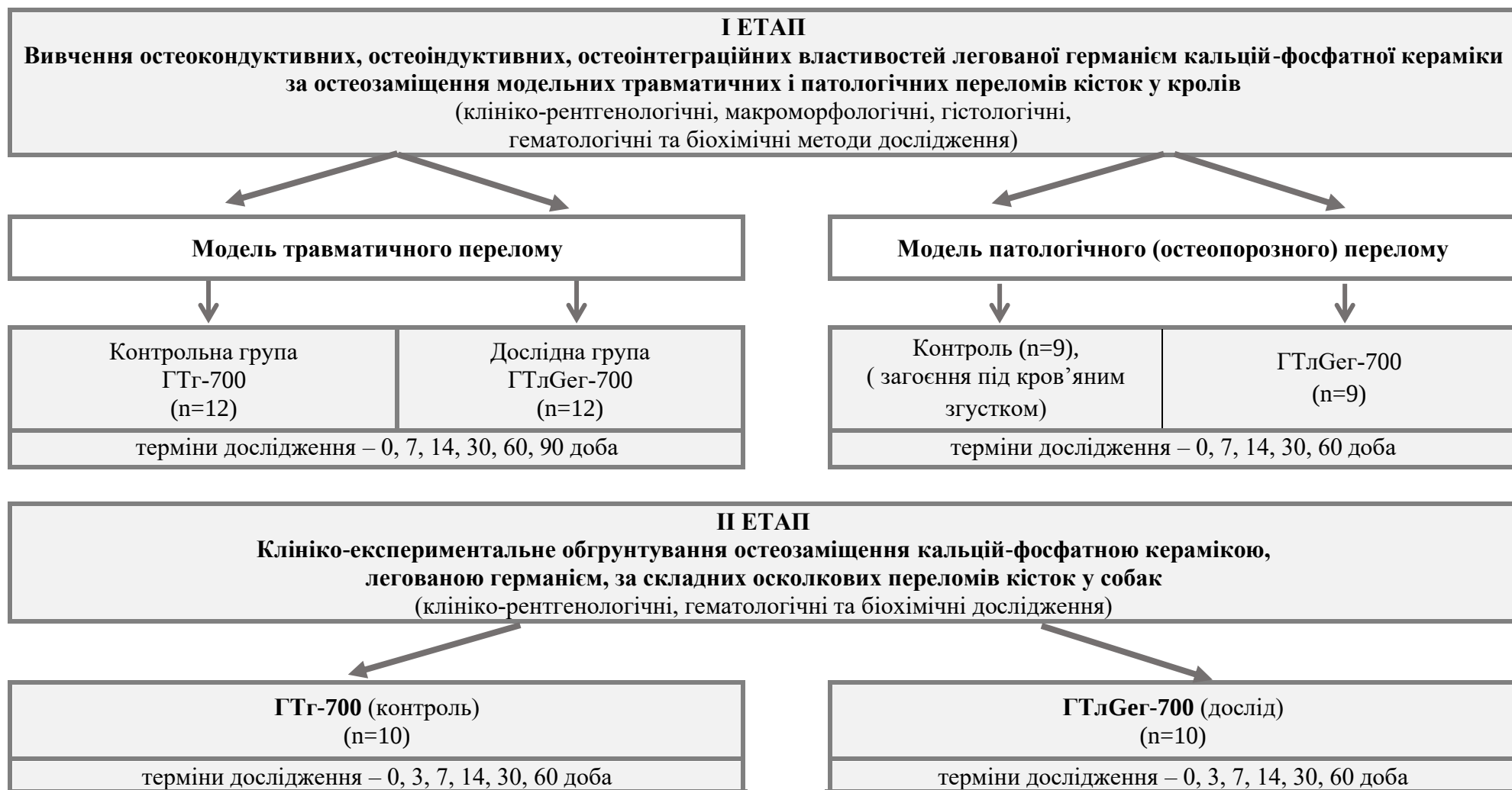


Рис. 2.1. Етапи проведених досліджень

Таблиця 2.1

Об'єм виконаних досліджень

№ п/п	Дослідження	Кількість голів/ зразків
1.	Вивчення впливу легованої германієм (ГТлGeг-700) та нелегованої (ГТг-700) кальцій-фосфатної кераміки на репаративний остеогенез у кролів за модельних переломів у компактній і губчастій кістковій тканині: – клініко-рентгенологічне дослідження; – макроморфологічне дослідження кісткових регенератів; – гістологічне дослідження кісткових регенератів; – гематологічні дослідження (морфологічні та біохімічні показники, маркери кісткового метаболізму) у клінічно здорових кролів та за остеозаміщення.	72/150 72/150 72/300
2.	Індукція остеопорозу в кролів дексаметазоном (клініко-рентгенологічні дослідження; гематологічні дослідження – морфологічні та біохімічні показники, маркери кісткового метаболізму).	27/120
3.	Вивчення впливу легованої германієм (ГТлGeг-700) на репаративний остеогенез у кролів з остеопорозом за модельних дірчатих переломів променевої та стегнової кісток (компактна і губчаста кісткова тканина): клініко-рентгенологічні дослідження; макроморфологічне дослідження; гістологічне дослідження; гематологічні дослідження (морфологічні, біохімічні показники та маркери кісткового метаболізму).	18/388
4.	Клініко-експериментальне обґрунтування дослідження перебігу репаративного остеогенезу за остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою складних осколкових переломів у собак. Гематологічні дослідження (морфологічні та біохімічні показники, кісткові біомаркери) за остеозаміщення складних осколкових переломів кісток у собак із застосуванням легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки у порівнянні із контрольною групою (ГТг-700)	35/170

Останнім сприяють метаболічні, гормональні і генетичні порушення та патологічні процеси у кістковій тканині (остеомієліти, карієс, неоплазії) [37, 43].

Внаслідок осколкових переломів утворюються відламки та осколки кісток. При цьому вільні відламки повністю позбавлені зв'язку із тканинами, а відокремлені від кісток мають певні зв'язки із м'язами через окістя чи тільки з окістям [2, 13].

Осколки здебільшого втрачають зв'язок з м'якими тканинами, внаслідок чого порушується їх кровопостачання і здатність до регенерації. За наявності багатоплощинної лінії злому та кісткових дефектів регенеративний потенціал кісткової тканини певною мірою зменшується, в першу чергу, з причин втрати остеокондуктивності та порушень локальної гемодинаміки і мікроциркуляції. Наявність різних за розміром кісткових дефектів призводить до ускладнень у вигляді незрощень, псевдосуглобів і остеомієлітів [2, 110, 116, 320]. У зв'язку з цим вони потребують не тільки використання складних способів остеосинтезу, а й остеозаміщення різноманітними імплантатами для оптимізації репаративного остеогенезу.

У разі наявності кісткових дефектів і, відповідно, значного діастазу між кістковими уламками ні один із способів остеосинтезу не може відновити регенеративний потенціал кісткової тканини. При цьому активація остеогенезу може бути досягнута шляхами остеобластного, остеоіндуктивного, стимульованого чи остеокондуктивного остеосинтезу. З цією метою у першу чергу використовують остеозаміщувальні матеріали, кожен із яких має певні механічні, біологічні та фізико-хімічні характеристики і особливості взаємодії з кістковою тканиною [2, 70, 72, 76].

Нині використовується досить велика кількість остеозаміщувальних матеріалів [2, 8, 70, 72, 76, 91], але жоден з них не є ідеальним, тому пошук нових матеріалів для кісткової пластики є актуальним. Одним із таких матеріалів із вираженими остеокондуктивними властивостями є кальцій-фосфатна кераміка, синтезована в Інституті проблем матеріалознавства ім. І.М. Францевича НАН України. При цьому, зокрема, попередніми роботами

[66, 79, 227, 320] було доведено, що легування кальцій-фосфатної кераміки іонами кремнію надає їй виражених остеоіндуктивних властивостей.

Хоча за фізичними та хімічними властивостями германій, що був використаний для легування кальцій-фосфатної кераміки подібний до кремнію (обидва є членами IV групи системи хімічних елементів), однак він має ряд відмінних біологічних властивостей. Так, виявлено життєву необхідність ультрамікродоз германію для нормального функціонування імунної системи. Германій є одним із мікроелементів, який бере участь в обмінних процесах в організмі людини (рекомендована добова доза германію 0,4–1,5 мг) і тварин. Він присутній практично у всіх органах і тканинах (м'язова тканина, кров, мозок, легені, селезінка, шлунок, печінка, підшлункова залоза, щитовидна залоза, нирки тощо). За результатами доклінічних досліджень недостатня кількість германію в раціоні супроводжується пошкодженням кісткового матриксу [95, 237].

Вважається, що дія германію на організм істотною мірою залежить від природи сполук, до яких він входить. Найбільш досліджена лікувальна дія германій-органічних сполук. Перші водорозчинні органічні сполуки германію – сесквіоксиди. Зокрема, найбільш вивченим є біс (2-карбоксіетилгерманія) сесквіоксид, відомий також як Ge-132. Доведена здатність германій-органічних сполук посилювати проліферативно-репаративну функцію сполучної тканини, а також виявлено, що вони володіють протипухлинними властивостями [235].

Певним спектром біологічних ефектів володіє і неорганічний германій. Проте дію його неорганічних сполук вивчено недостатньо, а наявна інформація досить суперечлива. З одного боку, повідомляється [238–241] про бактерицидний ефект металевого германію, а з іншого – виявлено численні випадки поглинання та накопичення гідратованого діоксиду германію мікроорганізмами. Заразом прослідковується здатність іонів германію стимулювати проліферацію фібробластів.

Незважаючи на певну кількість робіт, присвячених біологічним ефектам германію та його сполук, майже відсутня інформація про отримання біоматеріалів на основі фосфатів кальцію, легованих германієм, та про дослідження їх впливу на кісткову тканину. Лише в поодиноких повідомленнях висвітлені дослідження щодо композиційних покриттів з фосфату кальцію з додаванням неметалевого германію у концентрації 1% та 5%, нанесених на поверхню імплантатів методом мікродугового оксидування, що підвищувало їх остеointegraційні характеристики [96, 240].

Отже, легування КФК германієм може надати нові властивості біоактивній кераміці, зокрема підвищити її остеointegraційні властивості.

2.1. Характеристика легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки

В дисертаційній роботі були використані кальцій-фосфатні матеріали, розроблені у відділі фізики міцності і пластичності матеріалів Інституту проблем матеріалознавства ім. І.М. Францевича НАН України, м. Київ (зав. Відділу, академік НАН України Фірстов С.О.), які відрізняються за певними фізико-хімічними властивостями. До основних показників фізико-хімічних характеристик кальцій-фосфатної кераміки відносять ступінь розчинності, залежну від рН, фазово-хімічний склад, адсорбційну активність і мікроструктуру поверхні.

Для досліджень використовували гранули нелегованої двофазної кераміки (ГТг-700) розміром 700 мкм, що склалися з 65 мас.% фази гідроксиапатиту (ГАП) і 35 мас.% β -трикальційфосфату (β -ТКФ). Матеріал був отриманий розкладанням нестехіометричного ГАП при температурі 800 °С.

Синтез нестехіометричного гідроксиапатиту $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ ($0 < x < 1$) був проведений 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 просіяний для отримання необхідної фракції.

Легування кальцій-фосфатної кераміки германієм (ГТлGeг-700) досягалося шляхом введення в свіжоосаджений гель стехіометричного гідроксиapatиту 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 фосфорно-кислого двозаміщеного ($(\text{NH})_2\text{HPO}_4$) з розрахунковим співвідношенням Ca/P 1,67.

На рисунку 2.2 представлена дифрактограма нелегованого відпаленого стехіометричного ГАП, яка свідчить про наявність 100 % фази ГАП. Після легування, додавання пороутворювачів, сушки та відпалу при 800 °С в матеріалі відбулись фазові зміни за рахунок додавання фосфат іонів з метафосфату германію. Дифрактограма відпалених гранул легованого стехіометричного ГАП 1,0 мас.% германію представлена на рис. 2.3, яка свідчить про фазовий склад готових гранул 65% ГАП та 35% β -ТКФ.

Для імплантації використовували гранули розміром 700 мкм. Після відпалу концентрація германію в матеріалі становила 0,8 мас. %. Фізико-хімічні властивості матеріалів представлені в таблиці 2.2.

Таблиця 2.2

**Фізико-хімічні властивості різних типів
кальцій-фосфатних матеріалів**

Матеріал	Розчинність, мг/л	Адсорбційна активність, мг/г
ГАП стехіометричний	29	45,6
ГТг-700	36	73,0
ГТлGeг-700	94,7	120,3

За результатами досліджень мікроструктури зразків двофазної кераміки нелегованої (рис. 2.4) та легованої германієм (рис. 2.5) видно, що структура ГТлGeг-700 більш тонка та однорідна з наявністю нано-, мезо- та макропор, які забезпечують підвищену розчинність та адсорбційну активність гранул.

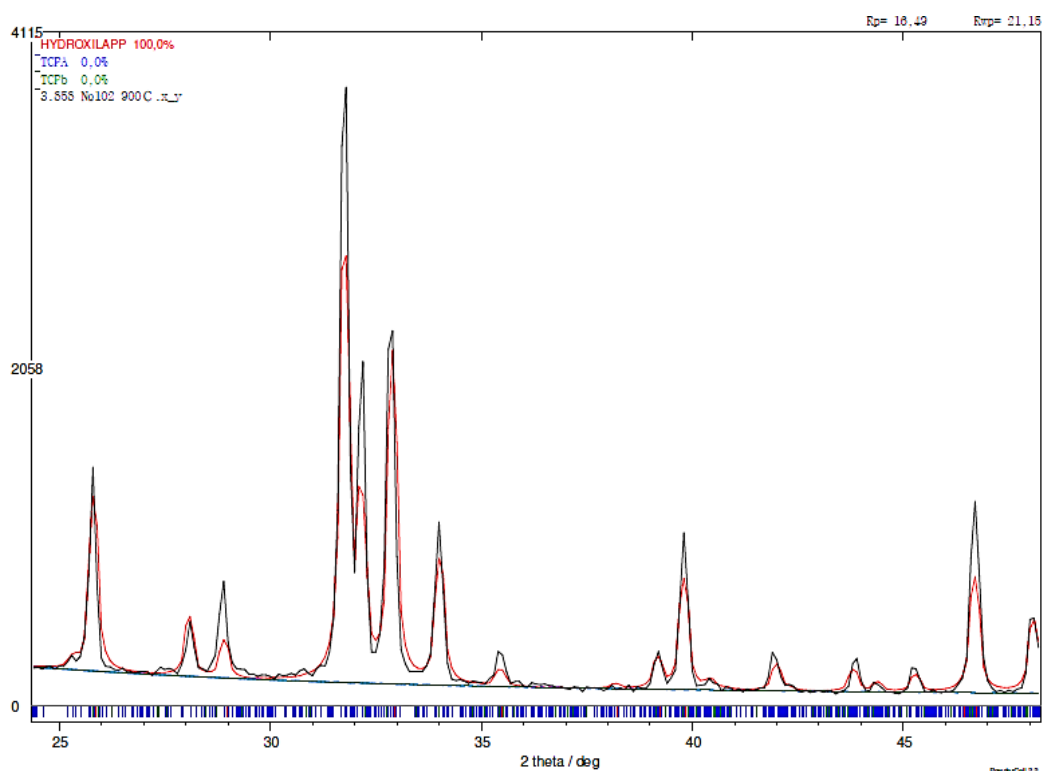


Рис. 2.2. Дифрактограма нелегованого стехіометричного ГАП після відпалу

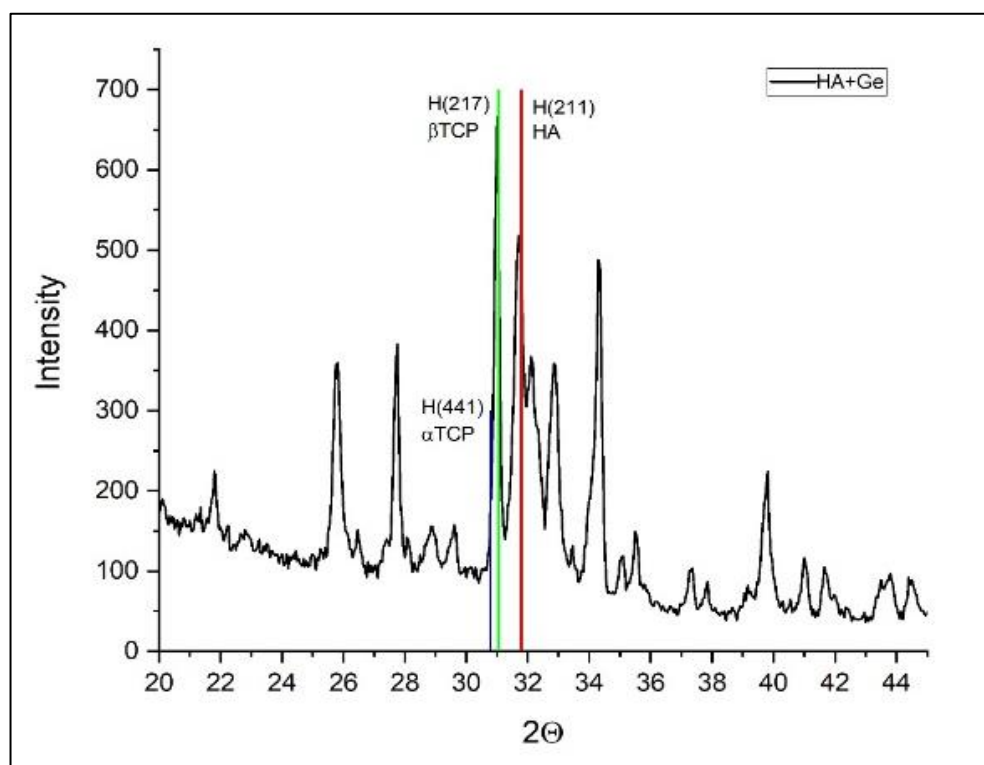
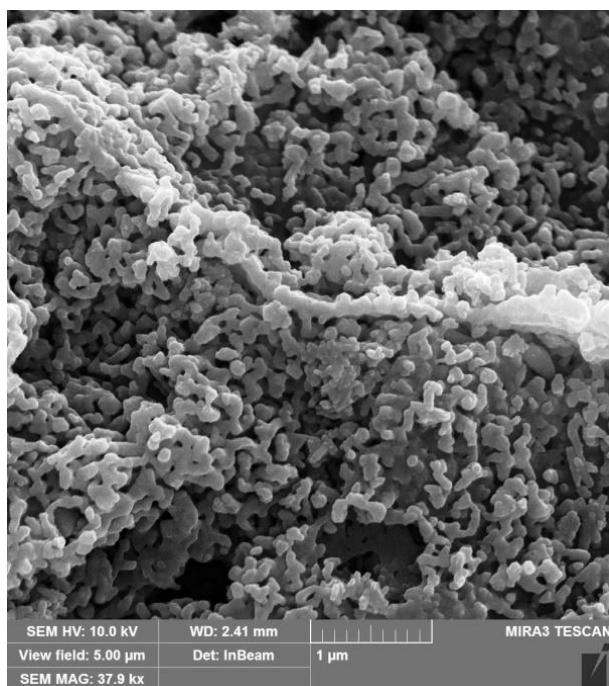
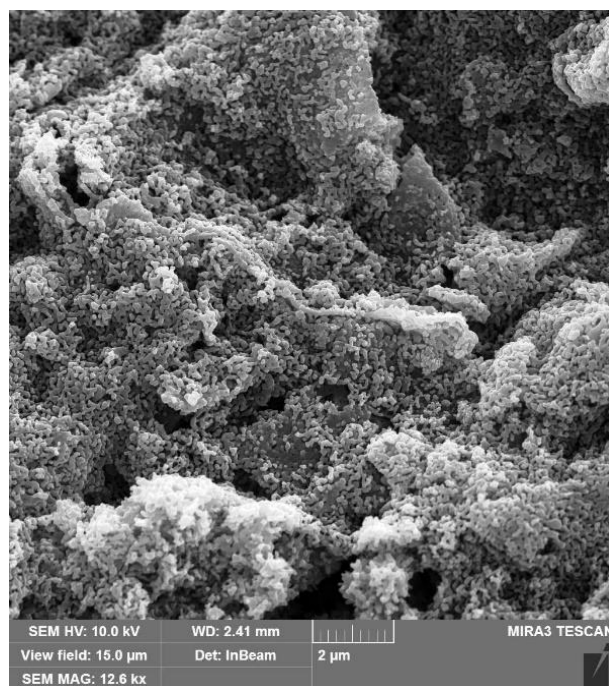


Рис. 2.3. Дифрактограма легованого ГАП 1,0 мас. % германію після відпалу

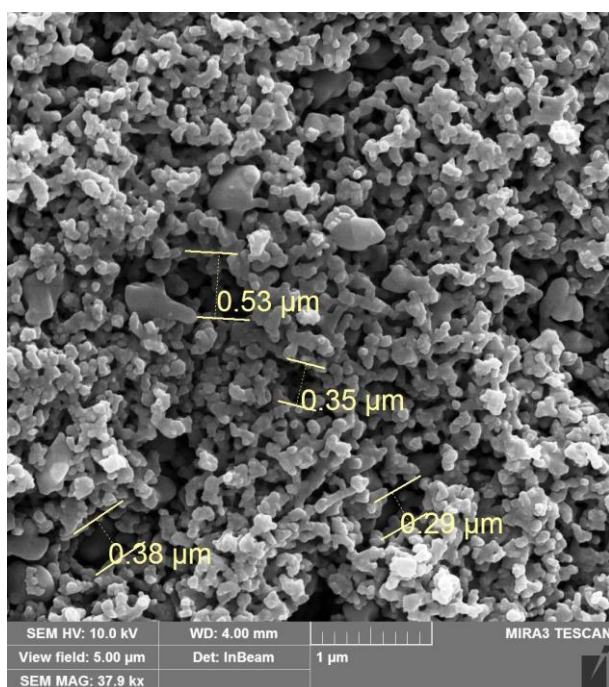


а

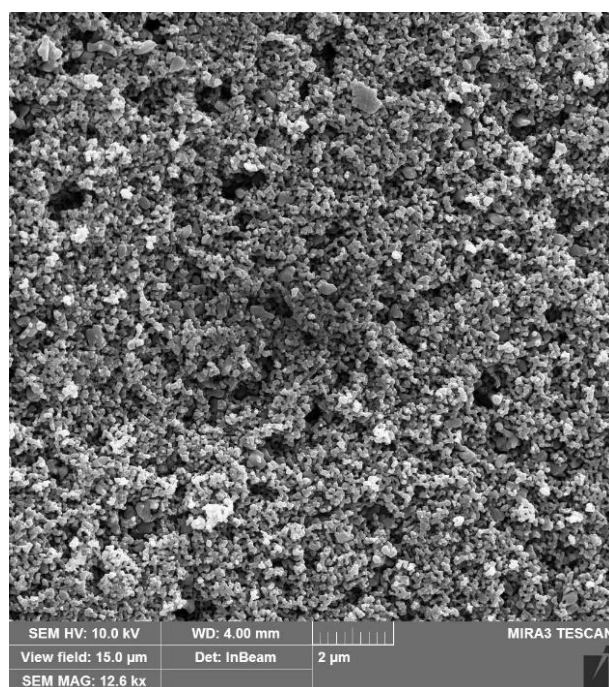


б

Рис. 2.4. Мікроструктура гранул ГТГ-700, збільшення
 $37,9 \times 10^3$ (а) та $12,6 \times 10^3$ (б)



а



б

Рис. 2.5. Мікроструктура гранул гранул ГТлGeg-700,
збільшення $37,9 \times 10^3$ (а) та $12,6 \times 10^3$ (б)

2.2. Матеріали та методи клініко-експериментальних досліджень

На **першому етапі** досліджень вирішувала дві ключові задачі. *Перша*, передбачала вивчення механізмів впливу кальцій-фосфатної кераміки, легованої германієм, на репаративний остеогенез за модельних переломів стегнової та променевої кісток у кролів. Оскільки останнім часом досить поширеними серед тварин-компаньйонів є спонтанні низькоенергетичні (остеопоротичні, нетравматичні) фрактури кісток вільного скелету, то вирішення *другої задачі* було спрямоване на оцінку впливу кальцій-фосфатної кераміки, легованої германієм, на посттравматичну регенерацію кісток у кролів в умовах індукованого дексаметазоном вторинного остеопорозу.

При цьому враховували, що матеріали для остезаміщення мають володіти остеоіндуктивними (здатність стимулювати ріст кісткової тканини в результаті впливу матеріалу на прогеніторні остеогенні клітини), остеокондуктивними (здатність матеріалу відігравати роль пасивного матриксу для росту нової кістки з наступною резорбцією остезаміщувального матеріалу) та остеointegraційними (забезпечення прямого структурно-функціонального зв'язку між імплантом і кісткою) властивостями. Поряд з цим вони 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.

Роботу виконували на клінічно здорових кролях породи Каліфорнійський білий, віком 3 міс., масою тіла 2,5 кг, яких утримували в умовах віварію Білоцерківського НАУ. Тварини знаходились в індивідуальних клітках у кімнаті з примусовою вентиляцією, комбінованим освітленням і щоденним прибиранням. Годівлю забезпечували спеціалізованим сертифікованим комбікормом для кролів торгової марки «Селевана» (Україна) із розрахунку 200 г на одну голову за добу з вільним доступом до води.

За оперативного втручання застосовували наступне анестезіологічне забезпечення: 2 % розчин ацепромазину (Combistress, KELA, Бельгія) внутрішньом'язово (0,7 мг/кг), внутрішньовенно – розчин тіопенталу натрію («Тіопенат», Бровафарма, Україна) із розрахунку 6 мг/кг та місцеву інфільтраційну анестезію 0,5 % розчином лідокаїну (3 мг/кг).

Оперативний доступ проводили з дотриманням правил асептики та антисептики. Модельні дефекти формували з латеральної поверхні дистальної ділянки метафіза стегнової кістки (губчаста кісткова тканина) та дорсо-латеральної поверхні в ділянці діафізу променевої кістки (компактна кісткова тканина). Після розтину окістя формували дірчасті кісткові дефекти свердлом діаметром 3 мм та 4,2 мм на променевій та стегновій кістках, відповідно. У тварин дослідної групи дефекти заміщували гранулами кальцій-фосфатної кераміки, синтезованої на основі гідроксиапатиту і β -трикальційфосфату, легованої германієм, а контрольної – гранулами нелегованої кераміки (рис. 2.6). На рани м'яких тканин накладали вузлові шви із монофіламентного синтетичного шовного матеріалу поліпропілену (ТОВ «OPUSMED», Україна). Протягом 7 діб двічі на день шви обробляли антисептичним засобом «Йоддицерин» з умістом у 100 г: йоду – 0,5 г, диметилсульфоксиду – 30,0 г, гліцерину – 69,5 г.

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

Рентгенологічні дослідження проводили на 14-у, 30-у, 60-у, 90-у добу репаративного остеогенезу на рентгенапараті РУМ-20, отримані рентгензнімки відцифровували на електронний носій AGFA HEALTHCARE N.V. CR 10-X (Germany).

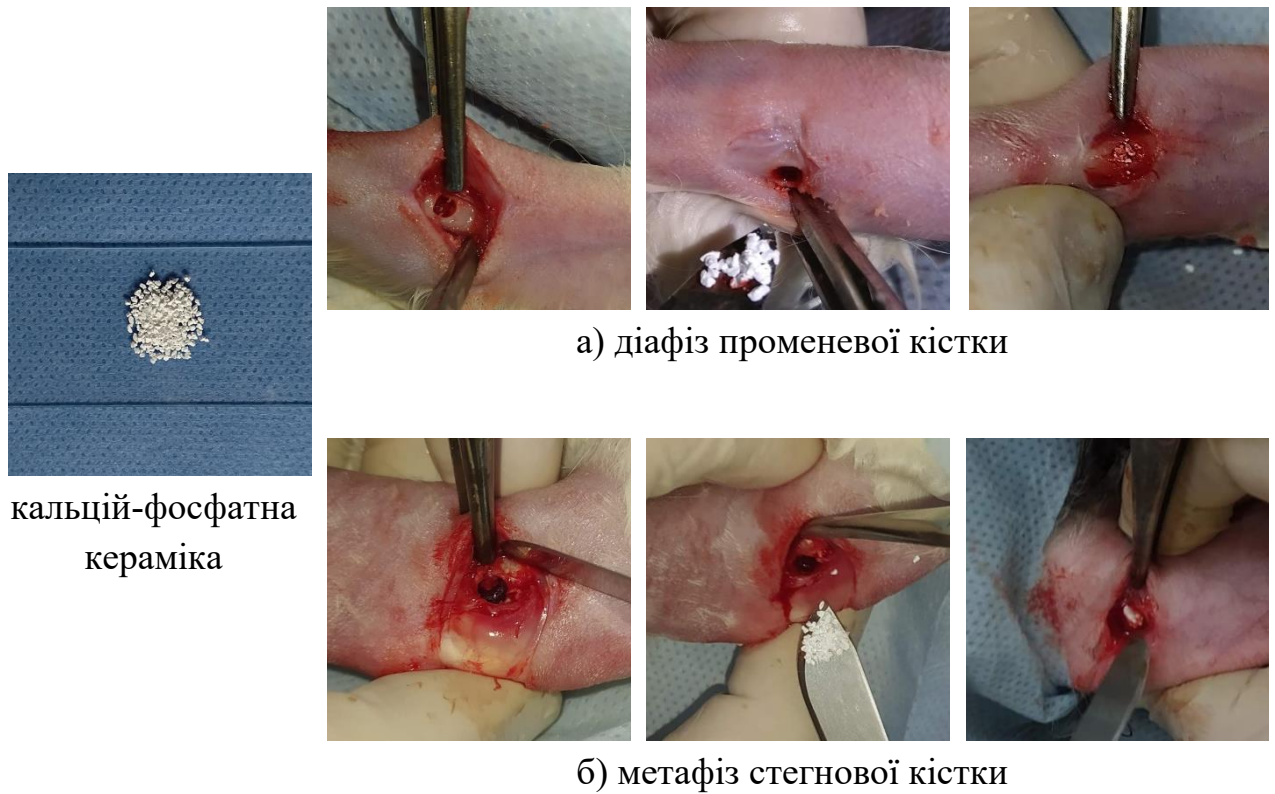


Рис. 2.6. Техніка заповнення модельних кісткових дефектів гідроксиапатитною керамікою у кролів

Заразом гематологічні та біохімічні дослідження і оцінку їх результатів проводили з кількох позицій. Зокрема, в першу чергу, необхідно було оцінити ступінь біосумісності імплантованої кальцій-фосфатної кераміки, який відображають традиційні гематологічні показники разом із інтегральними лейкоцитарними індексами, що в цілому визначається поняттям «реакція крові». Можливість реакції імунної системи на імплантат КФК, особливо із включенням германію, оцінювали за вмістом у крові циркулюючих імунних комплексів, що представляють собою молекулярні сполуки антиген-антитіло різної величини. Травматичний процес, як правило, супроводжується запальною реакцією, одним із ключових механізмів якої є індукція білків гострої фази, до яких відносяться досліджені в роботі вміст у крові загального білка, альбуміну і антиоксидантного церулоплазміну. Поряд з цим відомо, що за переломів і репаративного

остеогенезу розвивається гіперкоагуляційний синдром, що зумовило визначення в плазмі крові протеїна С – основного природного антикоагулянта в організмі ссавців. і насамкінець консолідація переломів і механізми репаративного остеогенезу реалізуються через динамічні зміни кісткового метаболізму, які різною мірою відображають уміст у крові кальцію і фосфору та активність загальної лужної фосфатази, кісткового ізоферменту лужної фосфатази і тартрат-резистентної кислої фосфатази. Заразом неоангіогенез є надзвичайно важливим і лімітуючим чинником у репаративному остеогенезі, тому його оцінювали за ендотеліальною реакцією шляхом визначення в сироватці крові NO. Оскільки не всі зазначені гематологічні та біохімічні показники мають референтні значення для даного виду тварин, то додатково сформували групу клінічно здорових кролів.

Зразки крові для 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 гемоглобінціанідним методом, кількість еритроцитів, тромбоцитів і лейкоцитів з виведенням лейкограми та аналізом якісно-кількісного складу лейкоцитів периферійної крові на підставі обчислення інтегральних гематологічних показників (ІПП). Ці показники дозволяють виявити наявність та ступінь тканинної деградації і ендогенної інтоксикації, типи адаптаційних реакцій організму, перебіг запальної реакції та ефективність лікування.

При цьому обчислювали наступні інтегральні лейкоцитарні 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:

$$\text{ЛІІ} = \text{Н} / \text{Л} + \text{Е} + \text{М},$$

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

3) *ядерний індекс інтоксикації (ЯІІ)* – показник, що відповідає за вираженість запального процесу та ефективність лікування:

$$\text{ЯІІ} = \text{М} + \text{Ю} + \text{П} / \text{С},$$

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

В сироватці крові рівень загального кальцію (Са) та фосфору (Р) визначали наборами «Філісіт-Діагностика» (Україна).

Загальну активність лужної фосфатази (ЗЛФ) та її кісткового ізоферменту (КіЛФ) і рівень активності тартрат-резистентної кислої фосфатази (ТрКФ) у сироватці крові визначали наборами реактивів ТОВ «Лабораторія Гранум» (Україна).

Кількість загального білку та альбуміну в сироватці крові визначали наборами «Філісіт-Діагностика» (Україна), церулоплазмину – методом Равіна наборами фірми „Реагент” (м. Дніпропетровськ), концентрацію циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) – методом преципітації в розчинах поліетиленгліколю-6000 з концентрацією 3,75 % для виявлення ЦІК великих розмірів (ВІК) та 7 % – малих (МІК) і рівень протеїну С – реактивами фірми «Гранум». Вміст оксиду азоту (NO) визначали за рівнем його метаболітів – нітритів, у якості відновника використовували гранули кадмію металічного, які додавали до зразків сироватки крові після осадження у ній білка. За взаємодії нітритів сироватки з реактивом Гріса кольоровий комплекс, що утворився, колориметрували за допомогою спектрофотометра (довжині хвилі 540 нм).

Тварин виводили з експерименту з метою макроморфологічного та гістологічного досліджень кісткових регенератів на 14-, 30-, 60-, 90-у добу досліджень шляхом внутрішньовенного введення тіопенталу (тіопентал натрію, ООО Бровафарма, Україна) в дозі 50 мг/кг.

Макроморфологічно зразки оцінювали за реакцією кісткової тканини на змодельований дірчатий дефект, а саме за реакцією періосту у вигляді його розростань, за характером формування хрящового і кісткового мозоля, щільності кісткового регенерата, ступенем виповнення дефекту та інтеграцією імплантованих керамічних матеріалів з новоутвореним кістковим регенератом.

Фіксацію зразків кісткового регенерату, який відбирали для гістоморфологічного дослідження, проводили у розчині нейтрального формаліну (10 %). В подальшому проводили декальцинацію спеціалізованим розчином Rapid decalcifier (виробник Kaltek, Італія), зневоднення у спиртах зростаючої концентрації, просвітлення у ксилолі та заливали зразки в парафін Plasti Wax фірми KALTEK (Італія). Гістологічні зрізи зразків виготовляли на ротаційному мікротомі товщиною від 5 до 10 мкм. Гістозрізи фарбували залізним гематоксиліном Вейгерта та 1 % розчином еозину на спиртовій основі (виробник Diapath, Італія). Мікроскопію зразків виконували на тринокулярному мікроскопі Fusion FS 75–30 (виробник Micromed, Китай) та візуалізували за допомогою камери Microscope digital eyepiece MDS-500 і програмного забезпечення Vividia Able Scope.

Остеопороз поширений як у людей, так і у тварин різних видів. В зв'язку з цим виникла необхідність у визначенні клініко-рентгенологічних і патохімічних критеріїв в динаміці розвитку остеопорозного процесу та вивчення його діагностично-прогностичних критеріїв, гістоморфологічних і молекулярно-біологічних механізмів. Стандартними моделями індукції остеопорозу в медико-біологічних дослідженнях є кролі [16–20]. Розрізняють [21–24] кілька видів моделей остеопорозу. Одним з них є глюкокортикоїд-індукований остеопороз, що досягається шляхом введення високих доз кортикостероїдних препаратів, таких як дексаметазон, преднізолон, метилпреднізолон, які гальмують проліферацію остеобластів, синтез ними колагену і неколагенових білків, що призводить до зниження мінеральної щільності кісткової тканини, а в подальшому – до вторинного остеопорозу.

За патологій кістково-суглобового апарату важливим є визначення остеорепаративного потенціалу в хворих на остеопороз тварин та створення оптимальних умов для перебігу репаративного остеогенезу як у ранній післяопераційний період, так і під час подальшої реабілітації. З цією метою, поряд із системною терапією, місцево застосовують остеозаміщувальні матеріали [46, 241, 267]. Біологічні процеси, які підвищують потенціал загоєння остеопоротичних переломів, також слід розглядати як доповнення до хірургічного втручання. Зокрема, іони мікроелементів, якими безпосередньо легують керамічні матеріали, впливають на структурно-функціональний зв'язок між материнською кісткою та імплантом, в тому числі і за системного остеопорозу.

Для індукції остеопорозу було сформовано дослідну (n=18) та контрольну (n=9) групи тварин. Експериментальний остеопороз у кролів дослідної групи викликали 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 [176, 208, 210]. Контрольним тваринам ін'єктували фізіологічний розчин. Зразки крові для гематологічних і біохімічних досліджень відбирали із яремної вени до індукції остеопорозу та на 7-, 14-, 21-у добу досліджень.

Із кролів з індукованим остеопорозом сформували дослідну (n=9) та контрольну (n=9) групи тварин, у яких моделювали кісткові дефекти, як було зазначено вище. Тваринам дослідної групи (ГТлGe) 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.

У подальшому в тварин виконували клініко-рентгенологічні, гематологічні, макро- гістоморфологічні та біохімічні дослідження на 7-, 14-, 30-, 60-у добу репаративного остеогенезу методами, що були зазначені вище.

Рентгенологічну оцінку остеопорозного процесу проводили за індексами М. Singh [322] Н.к. Genont [323]. Перший відображає трьохступеневу трабекулярну кісткову резорбцію в проксимальному відділі

стегнової кістки, а другий – трьохступеневе зниження висоти тіла останніх поперекових хребців і формування їх увігнутої двохсторонньої деформації.

Заразом проводили напівкількісну оцінку консолідації перелому в умовах остеопорозу за розробленими нами рентгенологічними критеріями (табл. 2.3).

Таблиця 2.3

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

№ п/п	Рентгенологічні критерії	Кількість балів
1.	<i>ступінь рентгенологічної щільності кісткової тканини</i>	
	– рання поява остеосклеротичних тіней	3
	– плямистий остеопороз	2
	– наявність дифузних зон рентгенонегативності	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>	
	– рання і помірна	3
	– запізнїла і вогнищева	2
	– відсутня	1

Другий етап досліджень передбачав клініко-експериментальне обґрунтування остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за складних осколкових переломів кісток у собак.

Дослідження проводилися на базі міжкафедральної клініки дрібних домашніх тварин і кафедри хірургії та хвороб дрібних домашніх тварин факультету ветеринарної медицини Білоцерківського національного аграрного університету. У дослідження включали собак (n=35) із складними осколковими переломами кісток передпліччя, гомілки і стегнової, які надходили у клініку протягом 2020–2023 років. Травмованих тварин із

переломами гомілки розділили на дослідну ($n=10$) і контрольну ($n=10$) групи. Критеріями відбору тварин в групи були термін отримання кісткової травми не більше однієї доби, локалізація кісткової травми у ділянці діафіза, осколковий тип перелому з наявністю кісткового дефекту.

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, Німечинна). В подальшому проводили рентгенологічний контроль консолідації переломів одразу після проведення остеосинтезу і на 14-у, 30-у та 60-у добу репаративного остеогенезу.

Анестезіологічне забезпечення за остеосинтезу включало внутрішньом'язове введення медетомідину (20 мкг/кг, «Медісон», Бровафарма), буторфанолу тартрат (0,1 мг/кг), «Бутолар Зоо»), для підтримання анестезії внутрішньовенно тіопентал натрію (7 мг/кг, «Тіопенат», Бровафарма). Інфільтраційну анестезію по місцю розрізу проводили 0,5 % розчином лідокаїну (3 мг/кг).

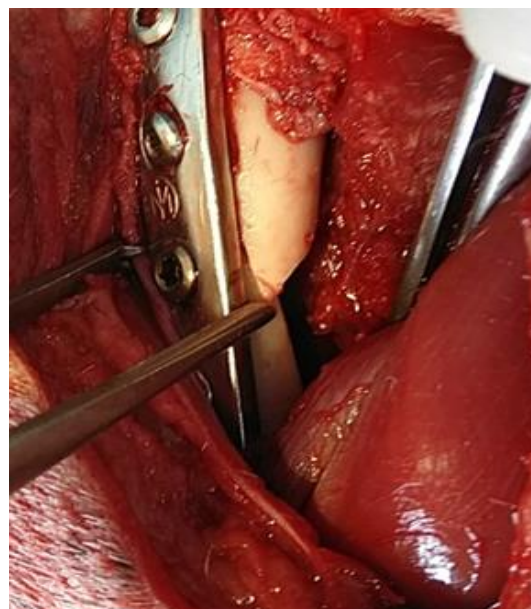
Оперативний доступ до ділянки перелому виконували із урахуванням її анатомо-топографічної особливості. Наявні в ділянці перелому нежиттєздатні уламки видаляли. В обох групах виконували екстракортикальний (накістковий) остеосинтез пластиною із нелегованої нержавіючої сталі фірми НП ООО «Інмед» (Україна). У разі комбінованих переломів кісток передпліччя за потреби додатково проводили інтрамедулярний остеосинтез ліктьової кістки.

Об'єм кісткового дефекту визначали гравіметрично шляхом заповнення його порожнини пластичною масою альгінату натрію – порошок альгінату змішували із стерильним 0,9 % розчином NaCl у співвідношенні 1:2 за температури 23 °C. Після затвердіння його вилучали з дефекту та поміщали у мірний циліндр з водою. За об'ємом витісненої води встановили, що об'єм дефекту в тварин обох груп коливався в межах $2,7 \pm 0,07 \text{ см}^3$.

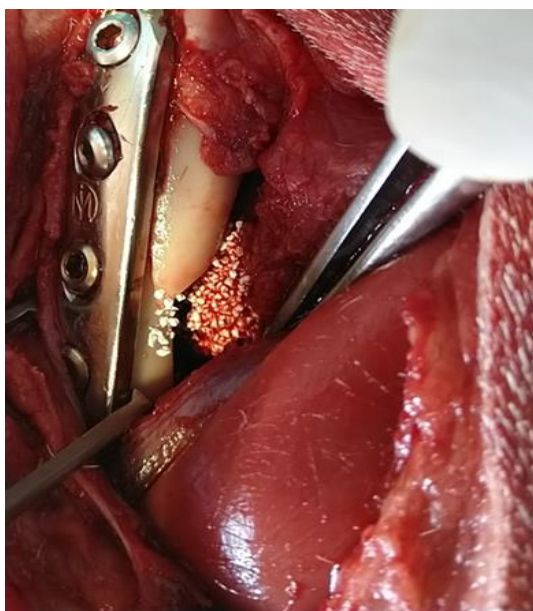
Тваринам дослідної групи дефекти заміщували легованою германієм керамікою (ГТлGeg-700), контрольної – нелегованою (ГТг-700) (рис. 2.7).



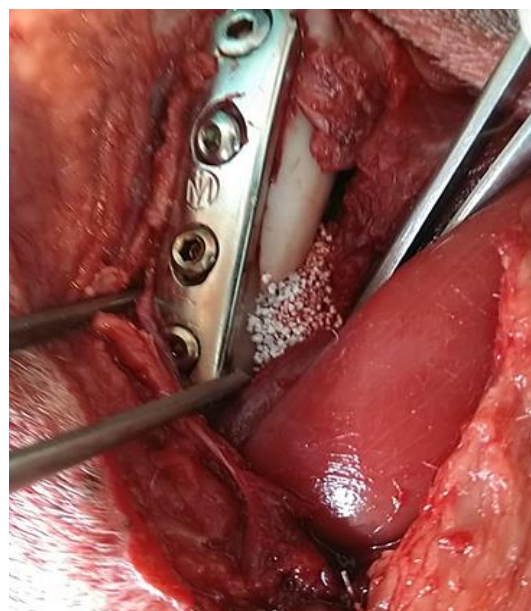
а



б



в



г

Рис. 2.7. Етапи виконання накісткового остеосинтезу та заміщення кісткового дефекту кальцій-фосфатною керамікою:

а – видалений нежиттєздатний уламок кістки; б – кістковий дефект після репозиції уламків і їх фіксації пластиною; в, г – остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою

Рану ушивали вузловим швом із застосуванням дренажу з поліпропіленової трубки, який видаляли на 3–4 добу післяопераційного періоду. Тваринам обох груп призначали курс антибіотикотерапії («Цефтріаксон» ПАТ НВЦ Борщагівський ХФЗ) із розрахунку 20 мг/кг двічі на добу протягом 7 діб.

У післяопераційний період клінічні дослідження проводили за критеріями запальної реакції, наявності та інтенсивності набряку тканин, терміном часткового та повного відновлення функції травмованої кінцівки та рентгенологічно підтвердженої консолідації перелому.

Проби крові для гематологічних і біохімічних досліджень відбирали після травми не пізніше 24-х годин та на 3-ю, 7-у, 14-у, 30-у і 60-у добу після проведення остеосинтезу. Додатково сформували групу клінічно здорових собак, що надходили в клініку дрібних домашніх тварин Білоцерківського НАУ для проведення планової вакцинації ($n=10$). У них за згодою власників відбирали зразки крові, оскільки для ряду досліджуваних біохімічних показників відсутні референтні значення.

У собак, як і у кролів, визначали наступні біохімічні показники: кальцій (Ca), фосфор (P), рівень загального білку та альбуміну, оксиду азоту (NO), активність загальної лужної фосфатази (ЗЛФ) та її кісткового ізоферменту (КіЛФ) і тартрат-резистентної кислої фосфатази (ТрКФ), церулоплазмін, циркулюючі імунні комплекси (ЦІК) та протеїн С. Всі вимірювання проводили спектрофотометром Stat Fax 4500.

Проведені дослідження схвалено Етичним комітетом Білоцерківського НАУ протокол № 1 від 23 січня 2019 року та проводилися 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 згідно закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 28.03.2006 р, р № 27, ст. 230 та Наказу МОН № 416/20729 від 16 березня 2012 р. «Про затвердження

Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах».

Отримані результати клініко-рентгенологічних, макроморфологічних, гематологічних, біохімічних та гістологічних досліджень оформлено та подано у вигляді рентгенограм, фото, рисунків, таблиць, графіків і діаграм.

Статистичну обробку результатів проводили за програмою Statistica 10 (StatSoft Inc, USA, 2011), які представлені у таблиці у вигляді $\bar{x} \pm SD$ ($\bar{x} \pm$ відхилення). Достовірність різниці між цифровими показниками контрольних і дослідних груп, клінічно здорових кролів чи собак визначали за допомогою ANOVA. Значення $p < 0,05-0,001$ вважались достовірними з урахуванням поправки Бонферроні.

РОЗДІЛ 3

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВПЛИВУ ІМПЛАНТАТИВ КАЛЬЦІЙ-ФОСФАТНОЇ КЕРАМІКИ, ЛЕГОВАНОЇ ГЕРМАНІЄМ, НА РЕПАРАТИВНИЙ ОСТЕОГЕНЕЗ У КРОЛІВ

Остеозаміщення є ключовим способом відновлення біомеханічних характеристик і регенеративних властивостей кісткової тканини у разі кісткових дефектів, зумовлених травмою, патологічними переломами, остеомієлітом, кістковими неоплазіями і вродженими порушеннями розвитку кісткового скелету.

Матеріали для остеозаміщення повинні відповідати низці вимог, серед яких пластичність і механічна міцність на стиснення з одночасною еластичністю, пористість і адгезивні властивості для прикріплення, міграції та проліферації ангіогенних і остеогенних клітин, імунологічна толерантність та індуктивні властивості щодо остеогенезу, контрольована біорезорбція, що дозволяє досягти збалансованих остеокондуктивного, остеоіндуктивного, остеointegraційного та остеогенного ефектів.

Як зазначено вище [79, 192, 203] найбільшою мірою цим вимогам відповідає кальцій-фосфатна кераміка, особливо легована Si, Zn, Mg.

Зважаючи на біологічні властивості германію [237, 242], спектр показань для остеозаміщення легованих ним матеріалів може бути розширеним і з більш якісними результатами, що стало підставою для вивчення остеокондуктивних, остеointegraційних і остеоіндуктивних властивостей легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки за остеозаміщення модельних переломів губчастої та компактної кісток у кролів.

3.1. Клініко-рентгенологічна і макроморфологічна оцінка репаративного остеогенезу

Як було зазначено вище (див. Розділ 2), для цього у кролів моделювали дірчасті дефекти діяфізу променевої (компактна кісткова тканина) та

метафазу стегнової (губчаста кісткова тканина) кісток. У тварин дослідної групи (n=12) дефекти заповнювали ГТлГег-700, а контрольної – ГТг-700.

Протягом 30–40 хв після оперативного втручання у тварин обох груп відновлювалася рухова активність та природне положення тіла у просторі, а через 4–5 годин з'являвся апетит.

Наступної доби після моделювання кісткових дефектів порушень функції травмованої кінцівки не спостерігали. Місцево на момент клінічного дослідження встановили незначне підвищення температури та помірний набряк м'яких тканин у ділянці травми, як свідчення післяопераційної запальної реакції. З ран у невеликій кількості виділявся серозний ексудат. На 3-ю добу післяопераційного періоду ексудація припинялася, а місцева температура була в межах фізіологічної норми. На 7-у добу набряк тканин та больова реакція були відсутні, а краї ран – з'єднані щільною сполучнотканинною спайкою. Після відшарування струпа від країв ран виявляли їх епітелізацію, що було підставою для зняття швів.

На 14-у добу репаративного остеогенезу тварини обох груп повноцінно опиралися на травмовану кінцівку. При 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 діяфізу променевої, так і метафізу 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 в дослідних тварин, у яких застосовували гідроксиapatит, легований германієм (ГТлГег-700), 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 (рис. 3.1 а, б).

У кролів контрольної групи (ГТГ-700) навколо місця дефекту як у компактній, так і у губчастій кістковій тканині, відмічали досить масивну хмароподібну тінь, яка значно поширювалася на периферію від місця травми, що свідчить про більш виражену запальну реакцію і, як наслідок, формування вираженого хрящово-кісткового мозоля (рис. 3.1 в, г). При чому за дефектів компактної кістки реакція періосту була більшою, ніж ендоосту, тоді як за ідентичної травми губчастої кістки відмічали досить масивну ендоостальну проліферацію метаепіфізарної ділянки.

На 30-у добу після формування модельного дефекту в дослідній групі рентгенологічно (рис. 3.2 а, б) була ледь помітною періостальна реакція, але з підвищеною рентгенологічною щільністю, як ознаки остеїдної тканини. При чому за репарації дефектів губчастої кістки мала місце 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 імплантували нелеговану кераміку, проксимально і дистально від місця травми компактної кістки виявляли потовщений і ущільнений періост з досить добре контрастуючим композитним матеріалом (рис. 3.2 в, г). Заразом у губчастій кістці ледь помітною була періостальна реакція, але добре виражена ендоостальна з явищами остеосклерозу та дещо більшим об'ємом композитного матеріалу, ніж у дослідній групі.

На 60-у добу в обох групах рентгенологічні картини мали дещо подібні характеристики з підвищеною рентгенологічною щільністю ділянок регенерації дефектів. В тварин обох груп у ділянках променевих кісток ще візуалізувалися залишки композитного матеріалу, а у дослідних посилилася ендоостальна реакція з волярної сторони.

**Променева
(компактна) кістка**



а

**Стегнова
(губчаста) кістка**



б



в



г

Рис. 3.1. Рентгенограми діяфізів променевих та дистальних метафізів стегнових кісток кролів на 14-у добу репаративного остеогенезу: а, б – дослідна (ГТлGeг-700); в, г – контрольна (ГТг-700) групи

**Променева
(компактна) кістка**



а

**Стегнова
(губчаста) кістка**



б



в



г

**Рис. 3.2. Рентгенограми діафізів променевих та дистальних метафізів
стегнових кісток кролів на 30-у добу репаративного остеогенезу:
а, б – дослідна (ГТлГег-700); в, г – контрольна (ГТГ-700) групи**

В разі остеозаміщення легованою керамікою ділянка дефекту мала чітко виражену остеосклеотичну рентгенівську тінь.

В губчастій кістці в обох випадках зменшилися об'єми композитного матеріалу, а у дослідних тварин кістковомозковий канал у зоні метафізу набував близької до норми рентгенощільності, тобто – низької. Проте у контрольних тварин вона ще залишилася підвищеною з чітко вираженою дорсально реакцією періосту, що свідчило про подальший перебіг проліферативних процесів (рис. 3.3).

На 90-у добу в тварин дослідної і контрольної груп ділянки травм променевих кісток мали дещо підвищену рентгенологічну щільність за відсутності реакції періосту (рис. 3.4 а, в). Залишки композитного матеріалу були менші у дослідних тварин. Проте діафізи ліктьових кісток в обох випадках мали шороховатий вигляд, у стані плямистого остеопорузу більш вираженого у контрольних тварин, що свідчить про дещо відтерміноване ремоделювання цих ділянок кісткової тканини.

Подібні рентгенологічні зміни виявлені в цей період і у губчастій кістковій тканині, причому зона проліферації в контрольних тварин охоплювала всю ділянку метафіза, яка у дослідних на межі епіфізарної пластинки була в стані чітко вираженого остеосклерозу (рис. 3.4 б, г).

Таким чином, за клініко-рентгенологічною оцінкою імплантація в кісткові дефекти легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки прискорює остеозаміщувальний процес, що характеризується помірною запальною реакцією періосту, більш ранніми рентгенологічними ознаками реакції ендоосту та остеосклеротичних тіней, резорбції кальцій-фосфатного керамічного імплантата. При чому ці явища більш динамічні за остеозаміщення кісткових дефектів у губчастій кістці. Заразом рентгенологічні зміни в ділянках ліктьових кісток, менш виражені у дослідних тварин, швидше за все, мають компенсаторний біомеханічний характер у зв'язку з травмами у променевих кістках.

**Променева
(компактна) кістка**



а

**Стегнова
(губчаста) кістка**



б



в



г

**Рис. 3.3. Рентгенограми діяфізів променевих та дистальних метафізів стегнових кісток кролів на 60-у добу репаративного остеогенезу:
а, б – дослідна (ГТлГеґ-700); в, г – контрольна (ГТґ-700) групи**

**Променева
(компактна) кістка**



а

**Стегнова
(губчаста) кістка**



б



в



г

Рис. 3.4. Рентгенограми діяфізів променевих та дистальних метафізів стегнових кісток кролів на 90-у добу репаративного остеогенезу:
а, б – дослідна (ГТлГег-700); в, г – контрольна (ГТГ-700) групи

За макроморфологічного дослідження кісткових регенератів у фрагментах променевих та стегнових кісток на 14-у добу репаративного остеогенезу виявили різні за конфігурацією та розміром формування кісткового мозоля. У тварин дослідної групи (ГТлGeg-700) він незначно виступав за межі поверхні кістки, що свідчить про помірну запальну реакцію. У місці сформованого дефекту чітко візуалізували розрізнені гранули гідроксиапатитної кераміки, оточені фіброзно-хрящовим регенератом (рис. 3.5 а, б). У контрольній групі відмічали значне розростання періосту поза межі травмованої ділянки, а ділянка дефекту мала кратероподібну форму, що свідчило про не повне заміщення кісткового дефекту (рис. 3.5 в, г).

На 30-у добу репаративного остеогенезу макрокартина кісткових фрагментів дослідних кролів була наступною: кісткові дефекти повністю заповнені новоутвореною тканиною, яка не виступала за межі поверхні кістки та щільно вкрита періостом з гладенькою поверхнею (рис. 3.6 а, б). У контрольній групі в ділянках травми виявили виповнені новоутвореною кістковою тканиною кісткові дефекти, але з досить масивними розростаннями періосту, проте з порівняно меншою щільністю (рис. 3.6 в, г).

На 60-у добу в дослідних тварин ділянка дефекту виглядала монолітною з розрізнено проступаючими залишками керамічного матеріалу, суттєво меншою мірою у разі регенератів губчастої кістки (рис. 3.7 а, б). За подібної макроморфологічної картини у зразках контрольної групи все ще відмічали незначне потовщення періосту (рис. 3.7 в, г).

На 90-у добу у зразках кісткової тканини тварин обох груп ділянки дефектів були повністю монолітними з материнською кісткою, але з дещо помітними залишками гранул гідроксиапатитної кераміки, які в разі її легування германієм мали глибинний, а нелегування – поверхневий вигляд (рис. 3.8).

**Променева
(компактна) кістка**



а

**Стегнова
(губчаста) кістка**



б



в



г

Рис. 3.5. Макроморфологічна картина кісткових регенератів у фрагментах компактної і губчастої кісткової тканини кролів на 14-у добу репаративного остеогенезу: а, б – дослідна (ГТлГег-700); в, г – контрольна (ГТГ-700) групи

**Променева
(компактна) кістка**



а

**Стегнова
(губчаста) кістка**



б



в



г

Рис. 3.6. Макроморфологічна картина кісткових регенератів у фрагментах компактної і губчастої кісткової тканини кролів на 30-у добу репаративного остеогенезу: а, б – дослідна (ГТлGeg-700); в, г – контрольна (ГТГ-700) групи

**Променева
(компактна) кістка**



а

**Стегнова
(губчаста) кістка**



б



в



г

Рис. 3.7. Макроморфологічна картина кісткових регенератів у фрагментах компактної і губчастої кісткової тканини кролів на 60-у добу репаративного остеогенезу: а, б – дослідна (ГТлГеґ-700); в, г – контрольна (ГТг-700) групи

**Променева
(компактна) кістка**



а

**Стегнова
(губчаста) кістка**



б



в



г

Рис. 3.8. Макроморфологічна картина кісткових регенератів у фрагментах компактної і губчастої кісткової тканини кролів на 90-у добу репаративного остеогенезу: а, б – дослідна (ГТлГег-700); в, г – контрольна (ГТг-700) групи

Таким чином, за макроморфологічними ознаками остеозаміщення дефектів губчастої чи компактної кістки в разі імплантації легованої германієм КФК супроводжується помірною запальною реакцією за менших, ніж у випадку нелегованої кераміки, розростань періосту, динамічними виповненнями кісткових дефектів монолітного характеру з глибинним розташуванням фрагментів імплантів, що свідчить про їх виражені остеокондуктивні та остеointegraційні властивості, також про контрольовану біорезорбцію остеозаміщувального матеріалу. Вище вказані результати свідчать про те, що гідроксиapatит, легований германієм, має більш виражені остеoіндуктивні властивості порівняно з нелегованим гідроксиapatитом.

3.2. Динаміка гістоморфологічної картини кісткових регенератів

Для кісткової тканини характерна клітинна форма регенерації [2, 5, 8], в основі якої лежить взаємодія трьох основних біологічних елементів: клітин, факторів росту і диференціювання, міжклітинної кісткової речовини. Хоча основними клітинними елементами кісткової тканини є остеобласти, остеоцити і остеокласти, які займають всього лише близько 3 % загального об'єму кісткової тканини скелета, проте як за фізіологічного, так і репаративного остеогенезу, надзвичайно важливими є механізми міжклітинної взаємодії прогеніторних клітин, ендотеліоцитів, перицитів, адіпоцитів і клітин мієлоїдного та еритроїдного ряду. При цьому неоангіогенез є ключовим клініко-патогенетичним критерієм як для динаміки репаративного остеогенезу, так і для його кількісних та якісних результатів.

Компактна кісткова тканина. На 14-у добу репаративного остеогенезу в дослідній групі за остеозаміщення леговою керамікою (рис. 3.9, а) гістоморфологічно кісткові регенерати характеризувалися наявністю капілярів і судинних каналів, хаотично сформованих балок грубоволокнистої кісткової тканини, які щільно оточували гранули кераміки новоутвореними балками. Поверхневі шари кераміки та прилягаючі до них трабекули

включали досить велику кількість клітин остеобластичного ряду, остеобласти та меншою мірою остеокластів.

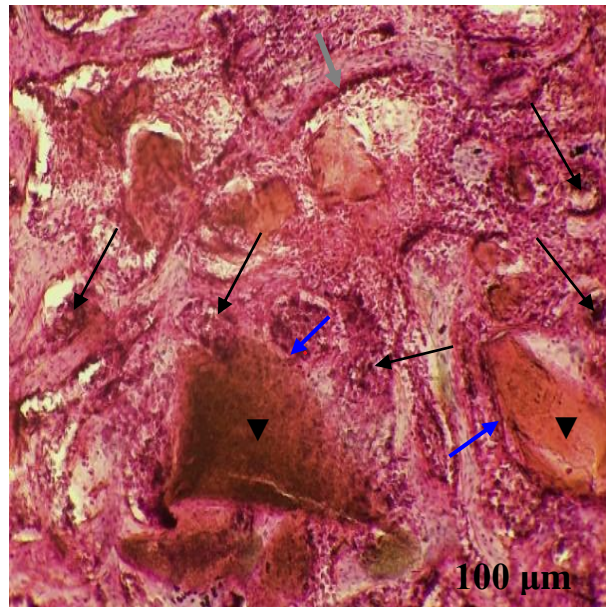
У контрольній групі (рис. 3.9, б) на 14-у добу зразки регенератів були бідні на остеогенні клітини, а їх грубоволокнисті, пухко розташовані формування не мали тісного контакту із гранулами кераміки. Також були наявними поодинокі формування кровоносних капілярів.

На 30-у добу репаративного остеогенезу в зразках гістозрізів дослідної групи (рис. 3.10, а) виявляли залишки гранул керамічного 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 ущільнення і потовщення кісткових балок. У ділянках контакту кісткового регенерату з материнською кісткою на поверхні сформованих трабекул відмічали островці новоутвореної кісткової тканини, як ознаки органотипової перебудови.

У контрольних зразках (рис. 3.10, б) на 30-у добу кістковий дефект більшою мірою виповнювався грубоволокнистою кістковою тканиною, хоча мали місце 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 дослідження майже вся ділянка дефекту діяфізу променевої кістки у тварин дослідної групи (рис. 3.11, а) 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 контролі на 60-у добу (рис. 3.11, б) 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 остецити. Гранули кераміки знаходилися у нещільному контакті з новосформованою кістковою тканиною.

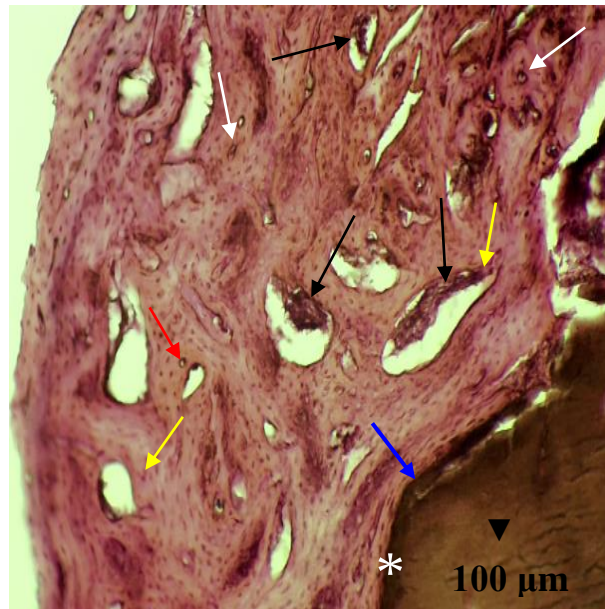


а

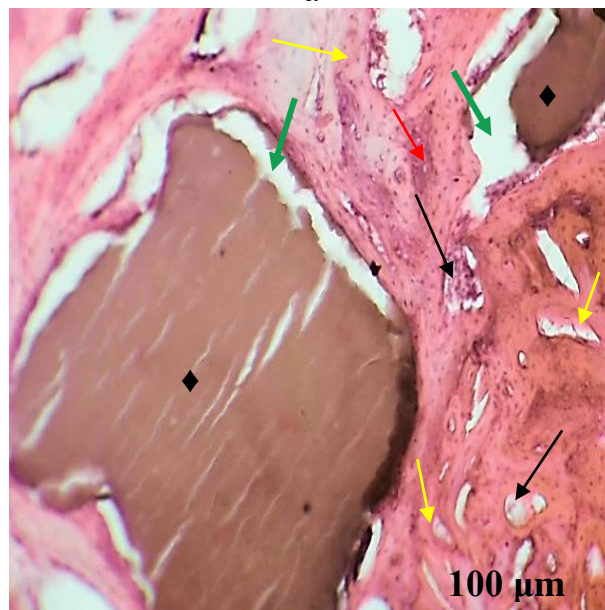


б

Рис. 3.9. Гістологічна картина кісткового регенерату променевої кістки на 14-у добу репаративного остеогенезу в кролів (а – дослідна (ГТлГеґ-700); б – контрольна (ГТг-700) групи): ▼ – гранула ТлГеґ-700; ♦ – гранула ГТг-700; судинні канали (*чорна стрілка*); щільний контакт гранул із кістковим регенератом (*синя стрілка*); відсутність контакту гранули із кістковим регенератом (*зелена стрілка*); ядра остеобластів (*сіра стрілка*). Забарвлення гематоксилін-еозин. Зб. $\times 100$.

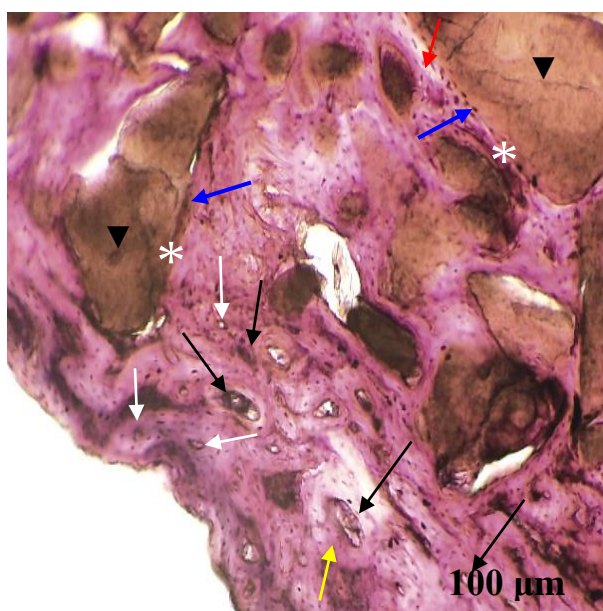


а

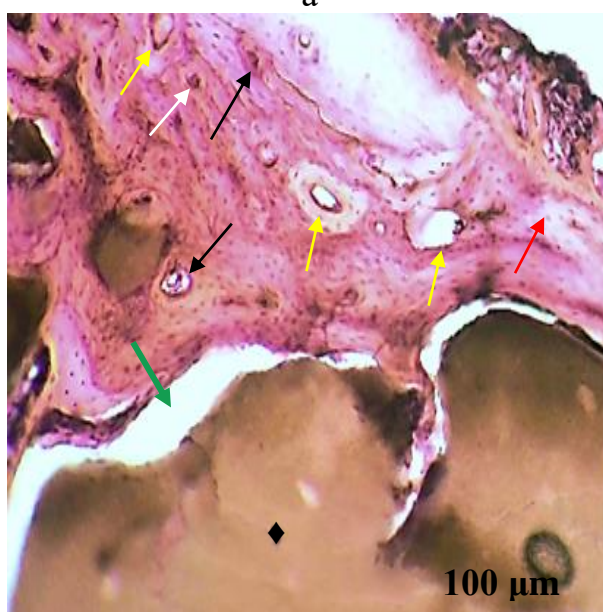


б

Рис. 3.10. Гістологічна картина кісткового регенерату променевої кістки на 30-у добу репаративного остеогенезу в кролів (а – дослідна (ГТлГег-700); б – контрольна (ГТг-700) групи): ▼ – гранула ГТлГег-700; ♦ – гранула ГТг-700; судинні канали (чорна стрілка); щільний контакт гранул із кістковим регенератом (синя стрілка); відсутність контакту гранули із кістковим регенератом (зелена стрілка); остеони на стадії формування (жовта стрілка); сформовані остеони (біла стрілка); * – гранула інтегрована в кісткову тканину; остеоцитарні лакуни (червона стрілка). Забарвлення гематоксилін-еозин. Зб. $\times 100$.



а



б

Рис. 3.11. Гістологічна картина кісткового регенерату променевої кістки на 60-у добу репаративного остеогенезу в кролів (а – дослідна (ГТлГег-700); б – контрольна (ГТг-700) групи): ▼ – гранула ГТлГег-700; ♦ – гранула ГТг-700; судинні канали (чорна стрілка); щільний контакт гранул із кістковим регенератом (синя стрілка); відсутність контакту гранули із кістковим регенератом (зелена стрілка); остеони на стадії формування (жовта стрілка); сформовані остеони (біла стрілка); * – гранула інтегрована в кісткову тканину; остеоцитарні лакуни (червона стрілка). Забарвлення гематоксилін-еозин. Зб. $\times 100$.

На 90-у добу репаративного остеогенезу змодельований дефект компактної кісткової тканини у дослідних тварин (рис. 3.12, а) був виповнений компактною кістковою тканиною. Кістково-мозковий канал містив жирову тканину з осередками червоного кісткового мозку. Залишки біодеградованих гранул щільно контактували з новоутвореною кістковою тканиною.

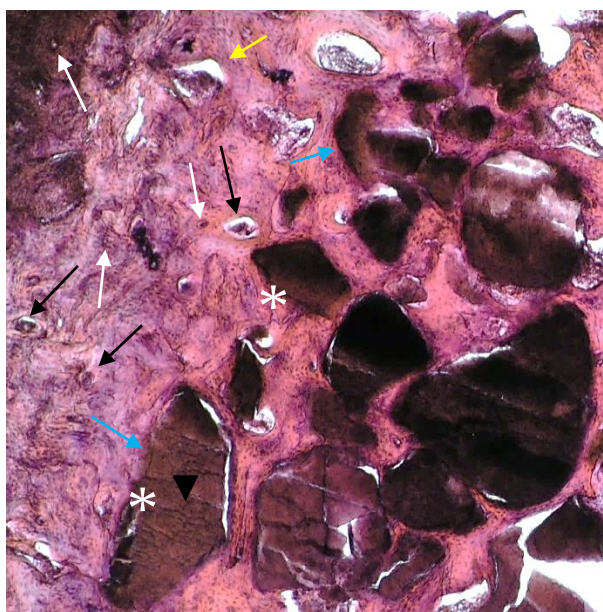
У контрольних тварин у цей термін дослідження (рис. 3.12, б) візуалізувалися сформовані балки губчастого типу, що є свідченням перебудови новосформованої губчастої кісткової тканини у компактну з подальшою її мінералізацією.

Губчаста кісткова тканина. На 14-у добу дослідження в зразках дослідної групи (рис. 3.13, а) навколо гранул кераміки формувалися тонкі кісткові балки, які щільно вкривали їх поверхню, між ними розташовувалися досить сформовані судинні каналі. На межі з материнською кісткою виявлена значна кількість малодиференційованих остеогенних клітин, елементи кісткового мозку та невелика кількість жирових клітин.

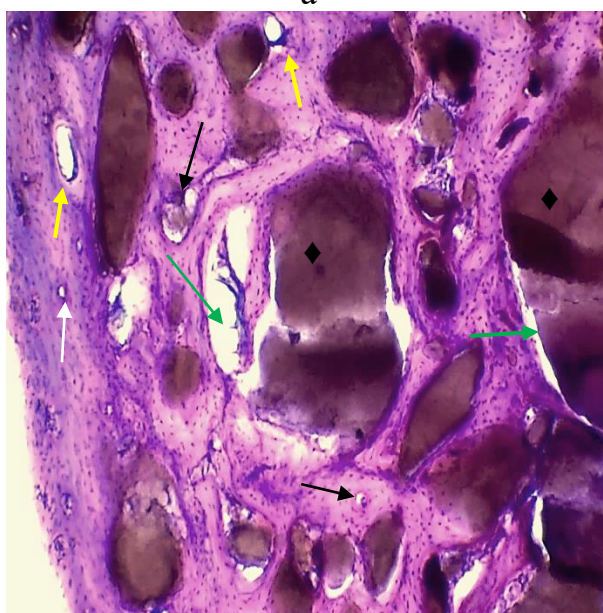
Заразом у зразках контрольної групи (рис. 3.13, б) кістковий дефект виявився заповненим регенератом волокнистої структури з помірною щільністю клітинних елементів навколо гранул кераміки та поодинокими, порівняно з дослідною групою, судинними елементами, але контакт між масивом регенерату та гранулами кераміки був неповним.

На 30-у добу у гістозразках дослідної групи (рис. 3.14, а) відмічали переважно губчасту кісткову тканину у формі масивних балок, що щільно прилягали до гранул кераміки. 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 гранулою відмічали по всьому її периметру.

У гістозразках контрольної групи на 30-у добу (рис. 3.14, б) остеозаміщення відмічали осередки формування грубоволокнистої кісткової тканини та поодинокі судинні канали. Гранули кераміки розташовувались між трабекулами губчастої кістки, їх тісного контакту не спостерігали.

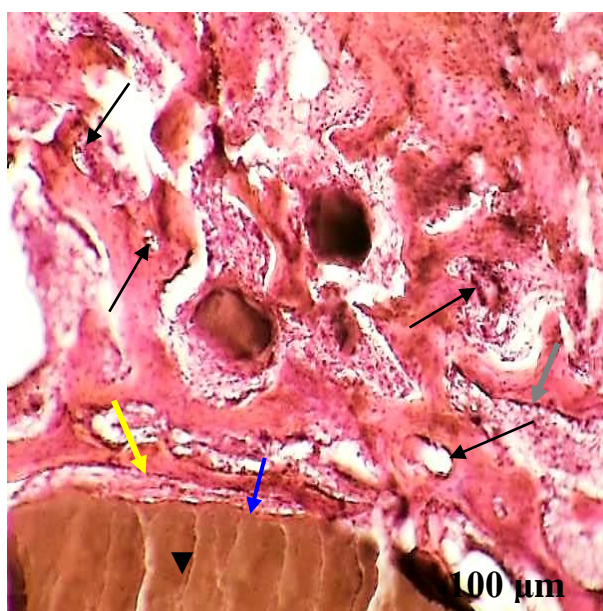


а

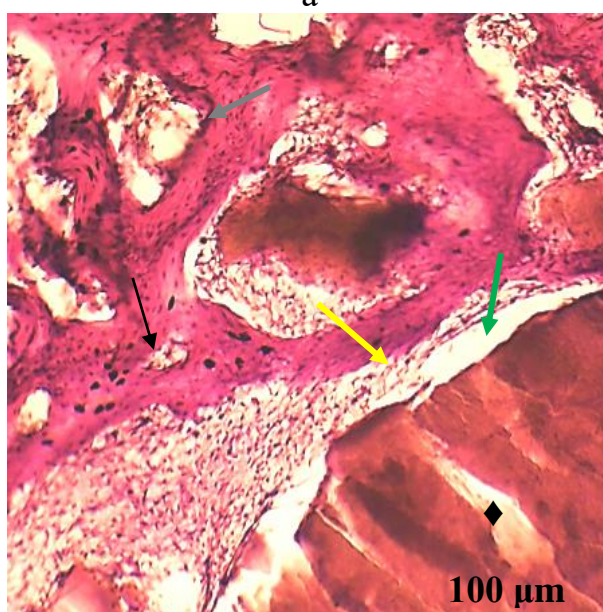


б

Рис. 3.12. Гістологічна картина кісткового регенерату променевої кістки на 90-у добу репаративного остеогенезу в кролів (а – дослідна (ГТлГег-700); б – контрольна (ГТг-700) групи): ▼ – гранула ГТлГег-700; ♦ – гранула ГТг-700; судинні канали (чорна стрілка); щільний контакт гранул із кістковим регенератом (синя стрілка); відсутність контакту гранули із кістковим регенератом (зелена стрілка); остеони на стадії формування (жовта стрілка); сформовані остеони (біла стрілка); * – гранула інтегрована в кісткову тканину. Забарвлення гематоксилін-еозин. Зб. $\times 100$.

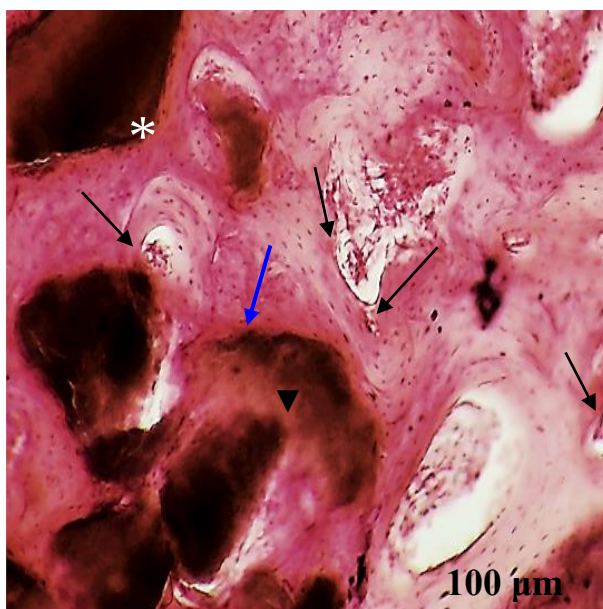


а

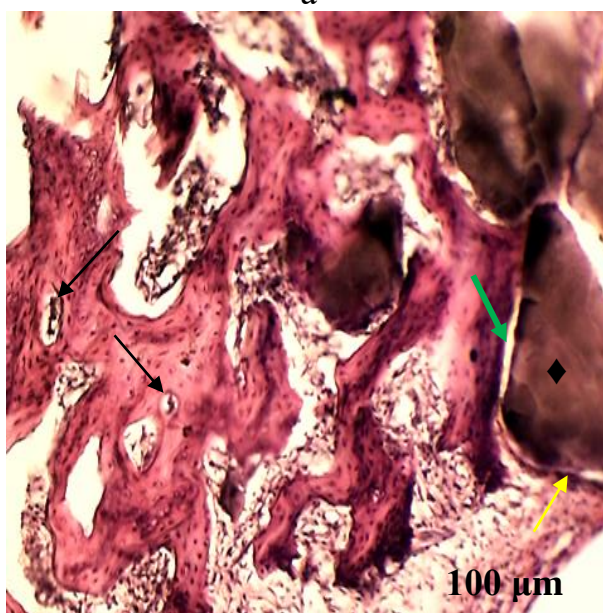


б

Рис. 3.13. Гістологічна картина кісткового регенерату стегнової кістки на 14-у добу репаративного остеогенезу в кролів (а – дослідна (ГТлГеґ-700); б – контрольна (ГТг-700) групи): ▼ – гранула ГТлГеґ-700; ♦ – гранула ГТг-700; грубоволокниста кісткова тканина (*жовта стрілка*); судинні канали (*чорна стрілка*); щільний контакт гранул із кістковим регенератом (*синя стрілка*); відсутність контакту гранули із кістковим регенератом (*зелена стрілка*); ядра остеобластів (*сіра стрілка*). Забарвлення гематоксилін-еозин. 3б. $\times 100$.



а



б

Рис. 3.14. Гістологічна картина кісткового регенерату стегнової кістки на 30-у добу репаративного остеогенезу в кролів (а – дослідна (ГТлГеґ-700); б – контрольна (ГТґ-700) групи): ▼ – гранула ГТлГеґ-700; ♦ – гранула ГТґ-700; * – гранула інтегрована в кісткову тканину; грубоволокниста кісткова тканина (жовта стрілка); судинні канали (чорна стрілка); щільний контакт гранул із кістковим регенератом (синя стрілка); відсутність контакту гранули із кістковим регенератом (зелена стрілка). Забарвлення гематоксилін-еозин. Зб. $\times 100$.

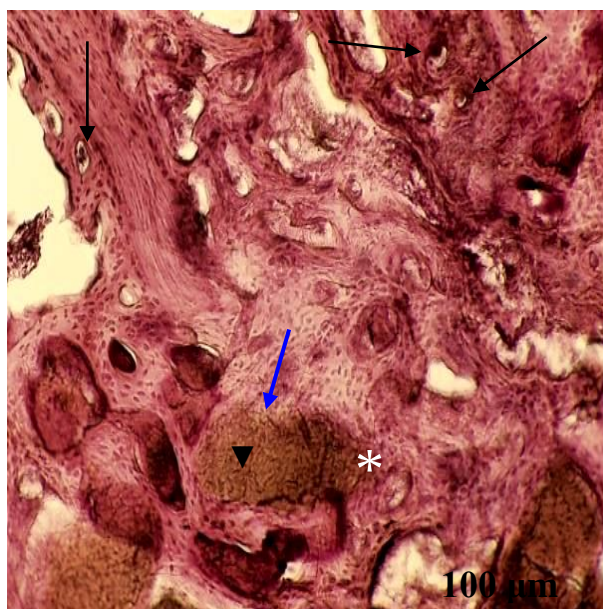
На 60-у добу в зразках дослідної групи (рис. 3.15, а) сформована губчаста кісткова тканина щільно контактувала із залишками гранул композиту, які повністю втратили початкову структуру.

Кістковий регенерат у контрольній групі, в якій дефекти були заміщені нелегованою керамікою (рис. 3.15, б), на 60-у добу візуалізувався у вигляді трабекул губчастого типу, але гранули композиту ще зберігали свою структуру і у переважній більшості не мали щільного контакту з регенератом або вільно розташовувалися у міжтрабекулярних проміжках.

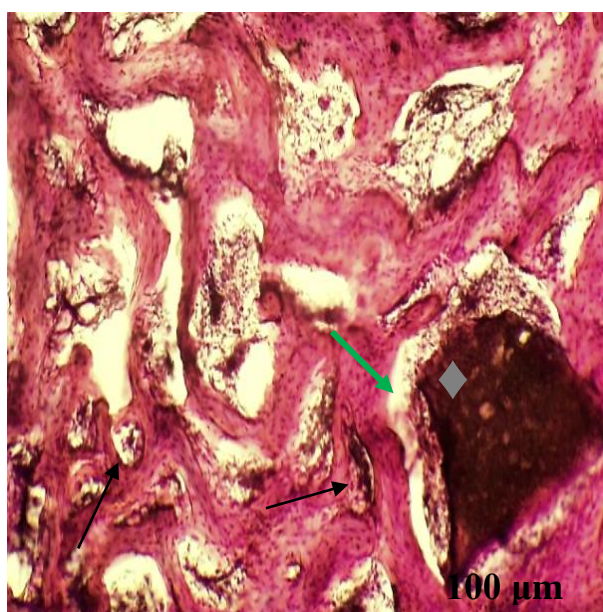
Водночас, на 90-у добу репаративного остеогенезу в дослідній групі (рис. 3.16, а) новоутворена кісткова тканина повною мірою інтегрувалася із гранулами легованого керамічного матеріалу, що свідчило про їх динамічну, але контрольовану біорезорбцію. Також відмічали вrostання кісткової тканини у поверхневі та середні шари композиту. Залишки фрагментів кераміки, інтегровані в губчасту кісткову речовину, заповнювали її вічка та знаходилися в стані вираженої деструкції.

Проте у зразках контрольної групи (рис. 3.16, б) гранули нелегованого композиту не мали щільного контакту з кісткою або ж розташовувалися у міжтрабекулярних проміжках. Кісткова тканина у місці дефекту була представлена трабекулами губчастого типу.

За результатами гістоморфологічної оцінки кісткових регенератів встановлено, що, незалежно від типів кісткової тканини, кальцій-фосфатна кераміка, легована германієм, набуває виражених остеоіндуктивних властивостей з відповідним посиленням її остеointegraції. Це проявляється більш раннім та інтенсивним неоангіогенезом, ранньою остеобластичною реакцією. Тобто репаративна регенерація (загоєння кісткового дефекту за вторинним натягом) максимально наближається до фізіологічної регенерації за первинним натягом.

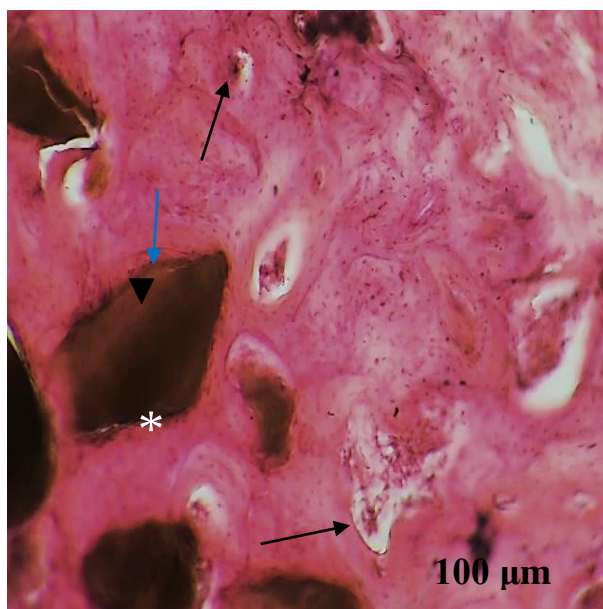


а

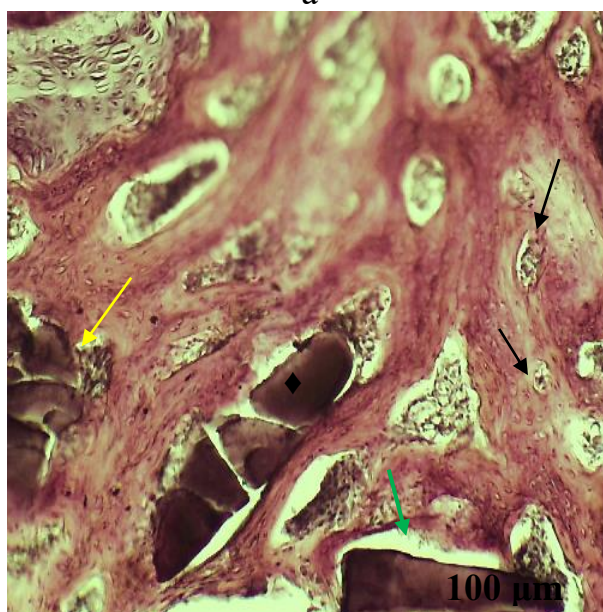


б

Рис. 3.15. Гістологічна картина кісткового регенерату стегнової кістки на 60-у добу репаративного остеогенезу в кролів (а – дослідна (ГТлГег-700); б – контрольна (ГТГ-700) групи): ▼ – гранула ГТлГег-700; ♦ – гранула ГТГ-700; * – гранула інтегрована в кісткову тканину; судинні канали (*чорна стрілка*); щільний контакт гранул із кістковим регенератом (*синя стрілка*); відсутність контакту гранули із кістковим регенератом (*зелена стрілка*). Забарвлення гематоксилін-еозин. Зб. $\times 100$.



а



б

Рис. 3.16. Гістологічна картина кісткового регенерату стегнової кістки на 90-у добу репаративного остеогенезу в кролів (а – дослідна (ГТлГег-700); б – контрольна (ГТГ-700) групи): ▼ – гранула ГТлГег-700; ♦ – гранула ГТГ-700; * – гранула інтегрована в кісткову тканину; грубоволокниста кісткова тканина (*жовта стрілка*); судинні канали (*чорна стрілка*); щільний контакт гранул із кістковим регенератом (*синя стрілка*); відсутність контакту гранули із кістковим регенератом (*зелена стрілка*). Забарвлення гематоксилін-еозин. Зб. $\times 100$.

3.3. Динаміка гематологічних показників

З огляду на те, що кісткова тканина знаходиться в тісному зв'язку з кровоносною системою і знаходиться в динамічній взаємодії з клітинами судин, крові та кісткового мозку, за клініко-експериментального обґрунтування нових композитних матеріалів додатково необхідно визначити реакцію крові. Особливо це стосується досліджень матеріалів для імплантації, коли поряд із вивченням їх впливу на репаративний остеогенез необхідно виключити можливий негативний вплив на організм у цілому чи побічні ефекти.

Одним із критеріїв реакції крові є динаміка гематологічних показників. Загалом, у обох групах встановлена дещо схожа динаміка гематологічних показників (табл. 3.1). Зокрема, на 7-у добу як у дослідних, так і у контрольних тварин, спостерігалася помірна посттравматична еритроцитопенія, оскільки кількість еритроцитів в обох групах зменшувалася до нижньої межі фізіологічної норми (5,2–7,5 Т/л), яка усувалася до 14-ї доби. Проте в контрольній в цей період концентрація еритроцитів в крові все ще була в 1,1 раза ($p < 0,05$) меншою, ніж у групі клінічно здорових кролів.

Також у період 7-ї доби в групах мала місце олігохромемія з подальшим відновленням кількості гемоглобіну вже на 14-у добу.

Заразом найбільш суттєві зміни встановлені щодо кількості лейкоцитів у периферичній крові, хоча й відбувалися вони в межах фізіологічної норми. Зокрема, на 7-у добу встановлене збільшення вмісту в крові кількості лейкоцитів (рис. 3.17) як у дослідній, так і контрольній групах, у 1,2 ($p < 0,01$) та 1,1 раза, ($p < 0,05$) відповідно. Його пік припадав на 14-у добу репаративного остеогенезу і становив у дослідній групі $9,6 \pm 0,18$ Г/л, що було більше в 1,1 раза ($p < 0,01$), порівняно з контрольною групою ($8,8 \pm 0,2$ Г/л), та в 1,4 раза ($p < 0,01$), ніж у клінічно здорових тварин ($6,9 \pm 0,09$ Г/л). У подальшому кількість лейкоцитів в обох групах зменшувалася на 30-у добу, а на 60-у добу поверталася до рівня клінічно здорових кролів.

Заразом в обох групах встановлено досить виражений тромбоцитоз протягом перших 14-ти діб репаративного остеогенезу (рис. 3.18). При чому рівень тромбоцитів виходив за верхню межу фізіологічної норми (125–250 Т/л).

Таблиця 3.1

**Динаміка гематологічних показників у кролів за остеозаміщення
кальцій-фосфатними імплантатами**

Термін дослідження		Еритроцити, Т/л (5,2–7,5)	Лейкоцити, Г/л (6,5–9,5)	Тромбоцити, Г/л (125–250)	Гемоглобін, (105–125)
Клінічно здорові кролі, (n=24)		5,7±0,06	6,9±0,09	192±6,87	117±1,29
7	$\frac{\text{ГТ (n=12)}}{\text{ГТGe (n=12)}}$	$\frac{5,1\pm0,11^{***}}{5,3\pm0,09^{**}}$	$\frac{7,9\pm0,38^{\diamond}}{8,1\pm0,33^{**}}$	$\frac{248\pm8,91^{***}}{254\pm13,05^{***}}$	$\frac{95\pm2,60^{***}}{100\pm2,01^{***}}$
14	$\frac{\text{ГТ (n=12)}}{\text{ГТGe (n=12)}}$	$\frac{5,4\pm0,09^{\diamond}}{5,5\pm0,09}$	$\frac{8,8\pm0,21^{***}}{9,6\pm0,18^{***\diamond}}$	$\frac{317\pm7,29^{***}}{339\pm8,64^{***}}$	$\frac{119\pm0,59}{121\pm1,20}$
30	$\frac{\text{ГТ (n=9)}}{\text{ГТGe (n=9)}}$	$\frac{5,7\pm0,07}{5,9\pm0,09}$	$\frac{7,4\pm0,12^{**}}{7,8\pm0,25^{**}}$	$\frac{185\pm4,06}{196\pm7,94}$	$\frac{119\pm0,98}{120\pm2,84}$
60	$\frac{\text{ГТ (n=6)}}{\text{ГТGe (n=6)}}$	$\frac{5,7\pm0,12}{5,8\pm0,05}$	$\frac{7,0\pm0,17}{7,0\pm0,11}$	$\frac{180\pm3,08}{194\pm2,59^{**}}$	$\frac{117\pm2,36}{120\pm2,75}$
90	$\frac{\text{ГТ (n=3)}}{\text{ГТGe (n=3)}}$	$\frac{5,7\pm0,09}{5,6\pm0,03}$	$\frac{7,0\pm0,15}{6,9\pm0,15}$	$\frac{180\pm1,16}{190\pm6,49}$	$\frac{118\pm1,53}{120\pm1,76}$

Примітки: 1) значення p: * – <0,05; 2) ** – <0,01; 3) *** – <0,001 – порівняно з контрольною групою;

2) значення p: $\diamond$ – <0,05; $\diamond\diamond$ – <0,01; $\diamond\diamond\diamond$ p<0,001 – порівняно з клінічно здоровими тваринами.

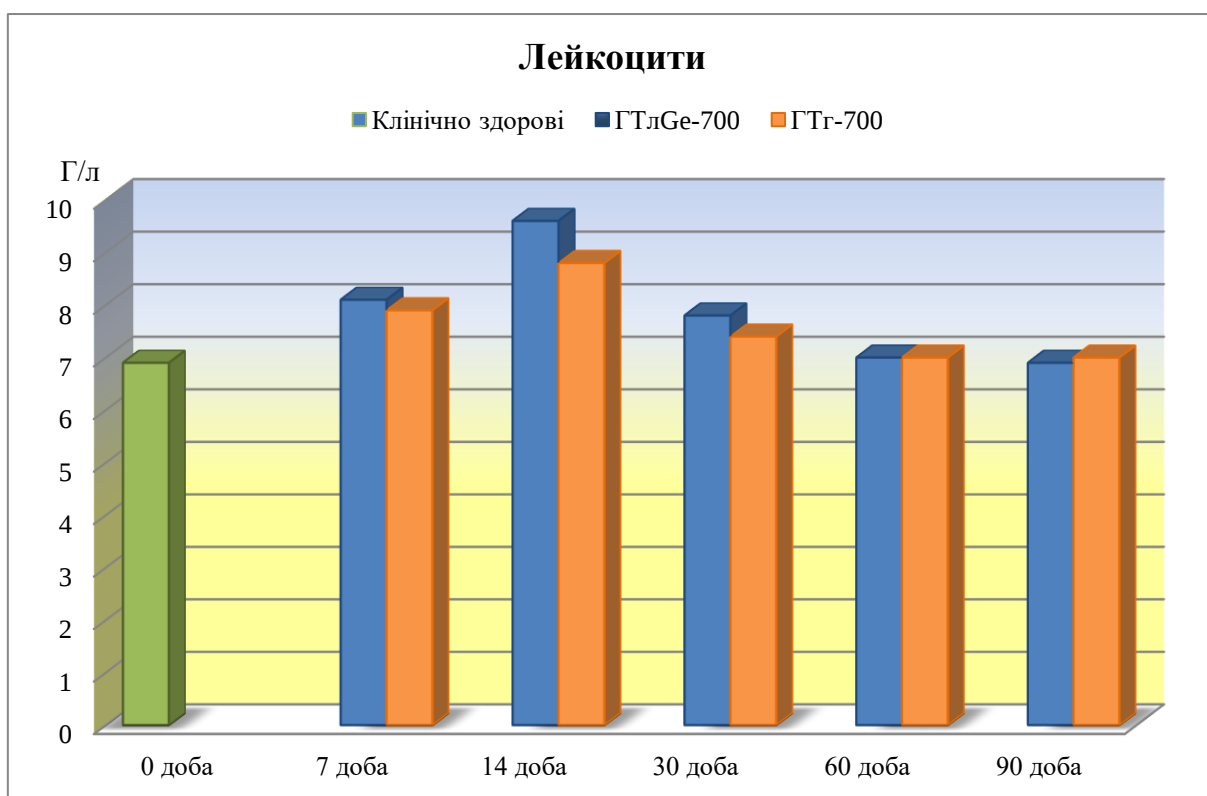


Рис. 3.17. Динаміка кількості лейкоцитів у периферичній крові кролів за репаративного остеогенезу

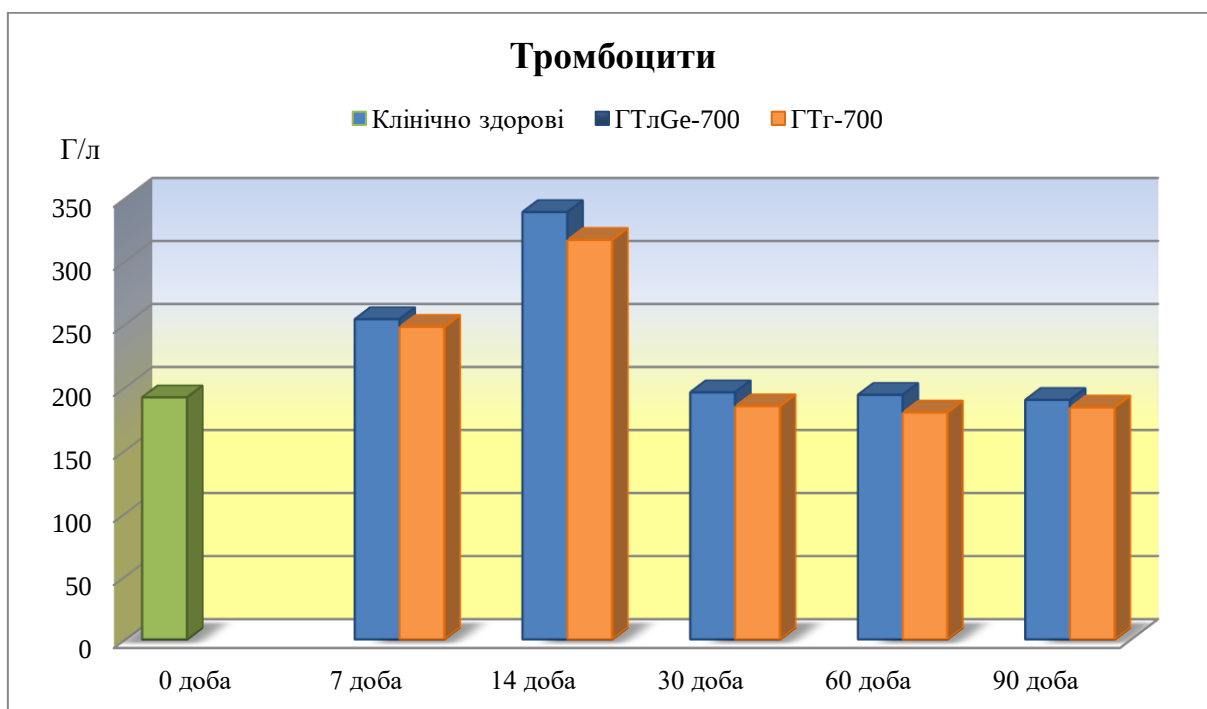


Рис. 3.18. Динаміка кількості тромбоцитів у периферичній крові кролів за репаративного остеогенезу

Так, на 7-у добу реєстрували підвищення вмісту в крові тромбоцитів у дослідній групі в 1,3 раза ($p < 0,001$), а у контрольній в 1,2 раза ($p < 0,001$). Його пік встановлено на 14-у добу в дослідній групі – збільшення кількості тромбоцитів у 1,8 раза, ($p < 0,001$), а у контрольній – у 1,6 раза ($p < 0,001$), порівняно з клінічно здоровими кролями. Однак різниця між дослідною і контрольною групами виявилася недостовірною. Надалі у дослідних тварин кількість тромбоцитів була в 1,1 раза ($p < 0,01$) більшою, ніж у контрольних.

Таким чином, динаміка ключових гематологічних показників у разі остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою характеризується швидкоплинною посттравматичною анемією із зменшенням до нижньої межі фізіологічної норми кількості еритроцитів і концентрації гемоглобіну, фізіологічним лейкоцитозом і досить вираженим тромбоцитозом, які однак тривають лише протягом перших 7–14 діб репаративного остеогенезу. Така динаміка спостерігалася і у випадках модельного остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм.

3.4. Динаміка лейкоцитарних індексів

Аналіз якісно-кількісного складу лейкоцитів периферичної крові у відповідності до змін лейкограми (табл. 3.2) відображає характер перебігу та інтенсивність запального процесу, зокрема і за репаративного остеогенезу.

Так, індекс зсуву лейкоцитів (ІЗЛ) не залежить від загального їх числа і підвищується при активному запальному процесі та змінах імунологічної реактивності. В обох групах він збільшувався в період 7–30-ї діб, а пік встановлено на 14-у добу (рис. 3.19). На 7-у добу відмічали лише тенденцію до збільшення ІЗЛ, яка 14-у добу набувала достовірного характеру. Однак пік показників ІЗЛ спостерігали на 30-у добу з наступною динамічною нормалізацією, особливо в дослідній групі (60-а доба).

Динаміка лейкоцитарного індексу інтоксикації (ЛІІ) була подібною до ІЗЛ, але період його збільшення обмежувався 14–30-ю добою (рис. 3.20).

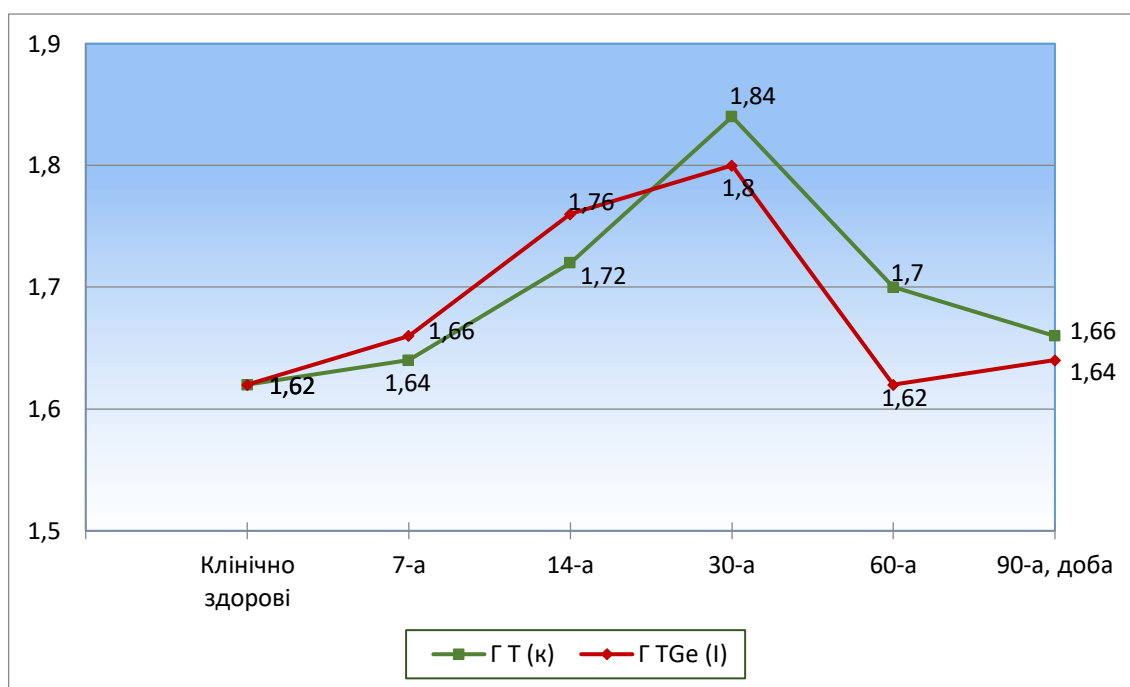
Таблиця 3.2

Лейкограма кролів за остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою

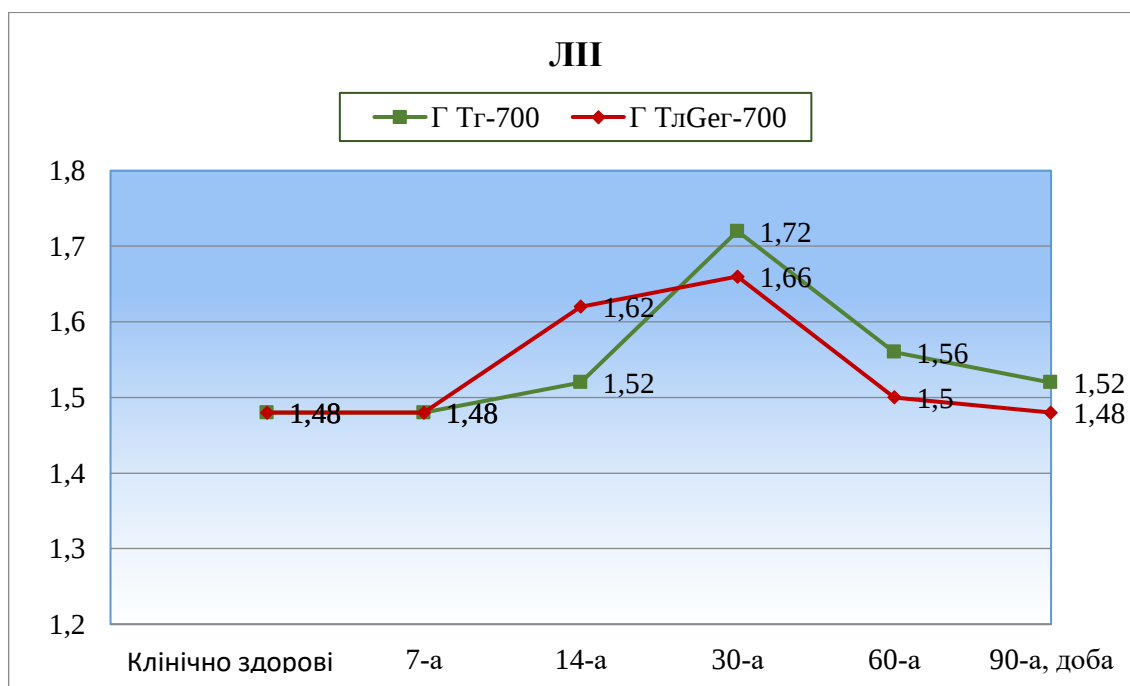
Термін дослідження		Гранулоцити					Агранулоцити	
		Б	Е	Н			Л	М
				Ю	П	С		
Норма		0–2	1–3	–	5–9	33–39	43–62	1–3
0	до операції (n=24)	0,8±0,17	1,7±0,17	-	6,7±0,30	35,6±0,43	53,3±0,57	1,9±0,17
7	ГТГ-700 (n=12) ГТлGer-700 (n=12)	<u>0,8±0,25</u> 0,7±0,23	<u>1,9±0,31</u> 1,6±0,23**	<u>1,0±0,26***</u> 2,0±0,28***	<u>15,0±0,79***</u> 16,8±0,94***	<u>26,3±0,99***</u> 23,5±0,98***	<u>52,7±0,74</u> 53,1±0,56**	<u>2,3±0,36</u> 2,3±0,28
14	ГТГ-700 (n=12) ГТлGer-700 (n=12)	<u>0,9±0,26</u> 0,9±0,23	<u>2,3±0,33</u> 2,0±0,25*	<u>2,6±0,30***</u> 3,2±0,39***	<u>20,0±1,16***</u> 22,2±1,02***	<u>20,5±0,82***</u> 18,6±0,81***	<u>52,0±0,68</u> 51,5±0,58***	<u>1,7±0,26</u> 1,6±0,19
30	ГТГ-700 (n=9) ГТлGer-700 (n=9)	<u>0,8±0,28</u> 0,8±0,28	<u>1,6±0,18</u> 1,6±0,24	<u>1,6±0,24***</u> 1,9±0,35***	<u>18,1±0,68***</u> 18,0±0,91***	<u>26,2±0,97***</u> 25,2±0,89***	<u>50,5±1,04*</u> 50,4±0,63***	<u>2,2±0,32</u> 2,1±0,26
60	ГТГ-700 (n=6) ГТлGer-700 (n=6)	<u>0,8±0,40</u> 0,7±0,33	<u>2,0±0,37</u> 1,5±0,34**	<u>0,2±0,17</u> 0,5±0,34*	<u>9,0±0,58**</u> 9,7±0,72***	<u>34,0±0,86</u> 32,5±0,72***	<u>52,2±0,83</u> 53,4±0,67***	<u>1,8±0,31</u> 1,7±0,33
90	ГТГ-700 (n=3) ГТлGer-700 (n=3)	<u>1,0±0,58</u> 0,3±0,33	<u>1,7±0,33</u> 2,0±0,58	-	<u>7,0±0,58</u> 7,7±0,88**	<u>35,6±0,88</u> 36,7±0,88**	<u>53,0±1,73</u> 51,6±2,33***	<u>1,7±0,67</u> 1,7±0,33

Примітки: 1) значення р: * – <0,05; 2) ** – <0,01; 3) *** – <0,001, порівняно з контрольною групою;

2) значення р: * – <0,05; ** – <0,01; *** р<0,001 – щодо клінічно здорових тварин.



**Рис. 3.19. Динаміка індексу зсуву лейкоцитів крові
у кролів за використання різних імплантів**



**Рис. 3.20. Динаміка лейкоцитарного індексу інтоксикації
за використання різних імплантів**

В дослідній групі на 14-у добу він в 1,1 раза ($p<0,01$) виявився вищим, ніж у контрольній групі, а на 30-у добу, навпаки, вже меншим. Хоча піки показників ЛП спостерігалися на 30-у добу, коли в контрольній і дослідній групах його показники були в 1,2 ($p<0,01$) і в 1,1 ($p<0,01$) раза більшими, ніж у клінічно здорових тварин, але за сукупного розгляду з динамікою в групах ІЗЛ інтенсивність і тривалість запального компонента у дослідних тварин виявляються меншими. Відповідно меншим є і рівень посттравматичної резорбції.

Дещо інший характер динаміки встановлено для ядерного індексу інтоксикації (ЯІІ) (рис. 3.21). Його величина поступово збільшувалася на 7-у добу і свого піку досягла на 14-у добу репаративного остеогенезу. При цьому у дослідній групі вона була в 1,2 раза ($p<0,001$) більшою за показник тварин контрольної групи. З 30-ї доби в обох групах ЯІІ починав динамічно зменшуватися, але ще був у 3,1 раза вищим, ніж у клінічно здорових тварин, проте достовірної різниці між дослідною і контрольною групами не встановлено.

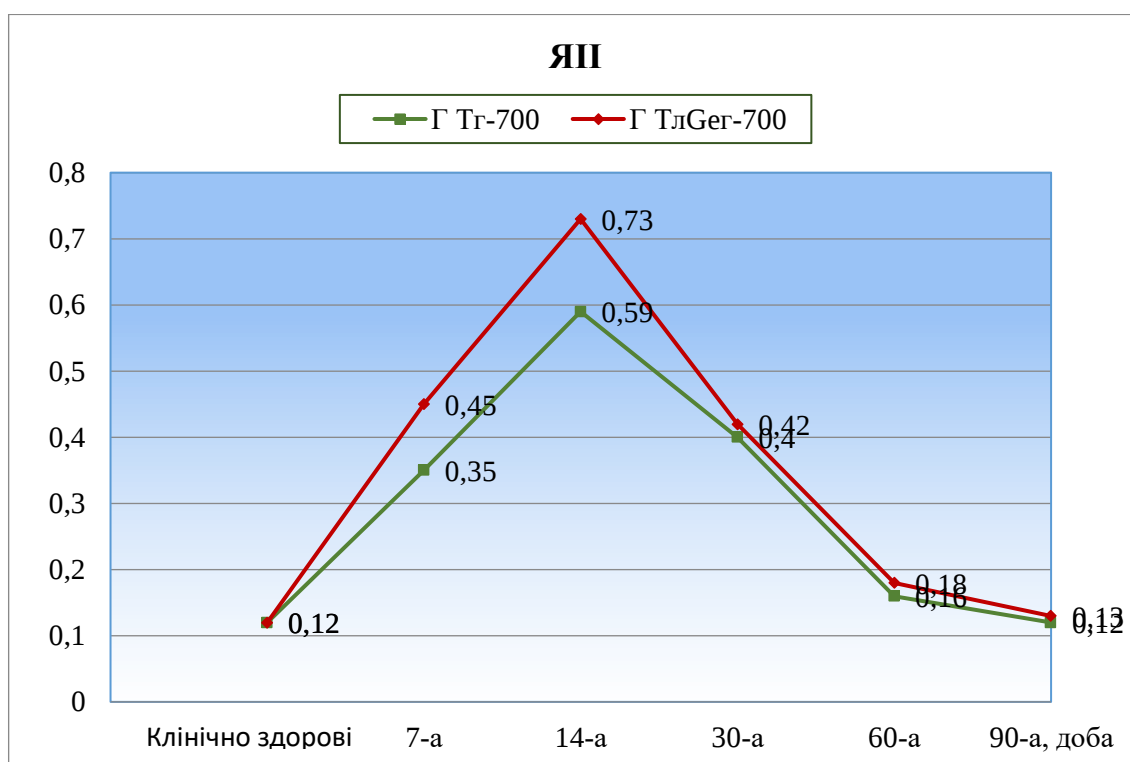


Рис. 3.21. Динаміка показників ядерного індексу інтоксикації за використання різних імплантів

Оскільки ЯП засвідчує ступінь збільшення в лейкограмі клітин макрофагального і мієлоїдного профілю, то різке формування піку цього індексу на 14-у добу засвідчує швидку зміну фаз репаративного остеогенезу і, ймовірно, стимулюючий вплив германію на кістковий мозок, що може бути одним із елементів його остеоіндуктивної дії.

Таким чином, розрахунок лейкоцитарних індексів крові може бути додатковим діагностично-прогностичним критерієм в оцінці остеозаміщення, в якісній і кількісній характеристиці перебігу репаративного остеогенезу.

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. Також, встановлено, що динаміка запальної реакції не змінюється, проте вона більш інтенсивніша та швидкоплинна, а це зумовлює ранній розвиток остеогенних процесів.

3.5. Динаміка біохімічних показників крові

3.5.1. Макроелементи і білковий статус. Консолідація перелому як багатостадійний біологічний процес з локальною та системною регуляцією має структурний і біохімічний аспекти відновлення кісткової тканини, які перебувають у тісному морфофункціональному зв'язку. При цьому в основі патоморфологічних і патохімічних механізмів репаративного остеогенезу мають місце дві фази – катаболічна і анаболічна, які відображають показники білкового статусу крові. Водночас кісткова тканина відіграє важливу роль у глобальному мінеральному обміні організму та є основним депо кальцію, фосфору, магнію та інших макро- і мікроелементів, які беруть участь у формуванні мінерального компоненту кісткової тканини (близько 70 % об'єму кістки), що істотною мірою визначає її кондуктивні та біомеханічні

характеристики [19]. Тобто стан кісткової тканини залежить від кількісного складу низки макро- та мікроелементів, що традиційно було певною підставою вважати показники вмісту в сироватці крові Ca, P, Mg маркерами кісткового метаболізму.

Водночас у цьому дослідженні зміни вмісту макроелементів у сироватці крові кролів (табл. 3.3) протягом усіх термінів репаративного остеогенезу відбувалися в межах фізіологічної норми, хоча у певні терміни і були достовірними. Так, на 7-у добу репаративного остеогенезу достовірної різниці між їх показниками тварин у групах з остеозаміщенням та клінічно здоровими тваринами не встановлено. Проте на 14-у добу відмічали, хоча і невелике, але достовірне підвищення вмісту Ca в сироватці крові дослідних і контрольних тварин, порівняно з клінічно здоровими тваринами. На 30-у добу в дослідних кролів він виявився вищим у 1,1 раза ($p < 0,01$) порівняно з контрольними та клінічно здоровими тваринами. В період 60-ї та 90-ї доби відбувалися невеликі, але достовірні, порівняно з клінічно здоровими кролями, коливання концентрації Ca в крові тварин дослідної та контрольної груп, однак у межах фізіологічної норми.

Зміни вмісту P в сироватці крові також відбулися в межах фізіологічної норми. Від початку спостерігали певне його зменшення до 14-ї доби, а потім – збільшення. В контрольній групі вже на 7-у добу дослідження він був нижчим у 1,1 раза ($p < 0,05$), а на 14-у добу – в 1,2 раза ($p < 0,01$) за показник клінічно здорових тварин. Проте у дослідній достовірне зниження в 1,1 ($p < 0,05$) раза рівня фосфору, порівняно з клінічно здоровими тваринами, відмічали лише на 14-у добу дослідження, що складало $1,5 \pm 0,05$ ммоль/л. З 30-ї доби дослідження рівень P у крові тварин обох груп підвищувався проте без достовірної різниці. Тобто, як засвідчили і недавні попередні дослідження щодо остеозаміщення у кролів [246, 320], коливання рівня в крові Ca і P відбуваються в межах фізіологічної норми, що не надає достовірної інформації про перебіг репаративного остеогенезу в таких умовах.

Таблиця 3.3

Динаміка біохімічних показників за остеозаміщення у кролів різними видами кальцій-фосфатної кераміки

Доба	Групи тварин	Са, ммоль/л	Р, ммоль/л	Са:Р	Загальний білок, г/л	Альбумін, г/л	Глобулін, г/л	А:Г
	Клінічно здорові, (n=24)	2,44±0,03	1,65±0,05	1,52±0,05	68,17±0,29	37,75±0,26	30,44±0,39	1,25±0,02
7	ГТГ, (n=24) ГТЛGeГ, (n=24)	<u>2,45±0,04</u> 2,32±0,06	<u>1,48±0,05[♦]</u> 1,51±0,05	<u>1,68±0,07</u> 1,76±0,06 ^{♦♦}	<u>71,4±0,63^{♦♦♦}</u> 69,14±0,56*	<u>43,13±0,76^{♦♦♦}</u> 40,34±0,52 ^{♦♦***}	<u>28,28±0,97[♦]</u> 28,79±0,59 [♦]	<u>1,55±0,07^{♦♦♦}</u> 1,54±0,07 ^{♦♦♦}
14	ГТГ, (n=12) ГТЛGeГ, (n=12)	<u>2,53±0,03[♦]</u> 2,61±0,04 ^{♦♦}	<u>1,4±0,06^{♦♦}</u> 1,5±0,05 [♦]	<u>1,86±0,1^{♦♦}</u> 1,92±0,1 ^{♦♦}	<u>76,35±0,82^{♦♦♦}</u> 73,69±0,69 ^{♦♦♦*}	<u>43,03±0,58^{♦♦♦}</u> 39,5±0,44 ^{♦♦***}	<u>33,32±1,22[♦]</u> 34,18±0,64 ^{♦♦♦}	<u>1,32±0,07</u> 1,24±0,06
30	ГТГ, (n=9) ГТЛGeГ, (n=9)	<u>2,41±0,03</u> 2,62±0,05 ^{**}	<u>1,46±0,1</u> 1,53±0,08	<u>1,73±0,15</u> 1,86±0,09 ^{♦♦}	<u>78,72±0,58^{♦♦♦}</u> 74,38±0,45 ^{♦♦♦***}	<u>41,25±0,68^{♦♦♦}</u> 37,93±0,49 ^{**}	<u>37,63±0,98^{♦♦♦}</u> 36,34±0,58 ^{♦♦♦}	<u>1,1±0,05^{♦♦}</u> 1,08±0,04 ^{♦♦♦}
60	ГТГ, (n=6) ГТЛGeГ, (n=6)	<u>2,35±0,02[♦]</u> 2,42±0,13	<u>1,47±0,09</u> 1,59±0,03	<u>1,62±0,09</u> 1,68±0,12	<u>72,37±0,93^{♦♦♦}</u> 69,31±0,96*	<u>38,41±0,56</u> 37,34±0,91	<u>33,96±0,55^{♦♦♦}</u> 31,97±1,59	<u>1,13±0,02^{♦♦♦}</u> 1,16±0,05
90	ГТГ, (n=3) ГТЛGeГ, (n=3)	<u>2,31±0,06</u> 2,27±0,07 [♦]	<u>1,5±0,07</u> 1,61±0,14	<u>1,54±0,03</u> 1,5±0,07	<u>69,43±0,58</u> 67,93±0,19	<u>37,63±0,41</u> 37,31±0,09	<u>31,8±0,73</u> 30,62±0,17	<u>1,19±0,04</u> 1,23±0,03

Примітки: 1) значення р: * – <0,05; ** – <0,01; *** – <0,001, порівняно з показниками контрольної групи;

2) р: ♦ – <0,05; ♦♦ – <0,01; ♦♦♦ – <0,001, порівняно з показниками клінічно здорових тварин.

Водночас досить інформативним щодо змін кісткового метаболізму є індекс Петерсона – співвідношення концентрації в сироватці крові кальцію до фосфору. Його зміни виявилися достатньо динамічними. Вже на 7-у добу репаративного остеогенезу він підвищувався в 1,2 раза ($p<0,01$) (рис. 3.22) у тварин дослідної групи, порівняно з клінічно здоровими тваринами, на 14-у добу – в 1,3 раза ($p<0,01$) та 30-у добу – в 1,2 раза ($p<0,01$). Проте у контрольних тварин достовірне підвищення індекса Петерсона в 1,2 раза ($p<0,01$) спостерігали лише на 14-у добу дослідження. Такі зміни цього індекса можуть вказувати на інтенсивність перерозподілу цих макроелементів у кістковій тканині після травми відповідно до стадій репаративного остеогенезу та залежно від способу остеозаміщення. І хоча достовірної різниці за цим індексом між дослідною та контрольною групами не встановлено, все ж таки у разі використання легованої германієм кераміки його зміни були більш динамічними, що свідчить про більш інтенсивний перебіг стадій репаративного остеогенезу.

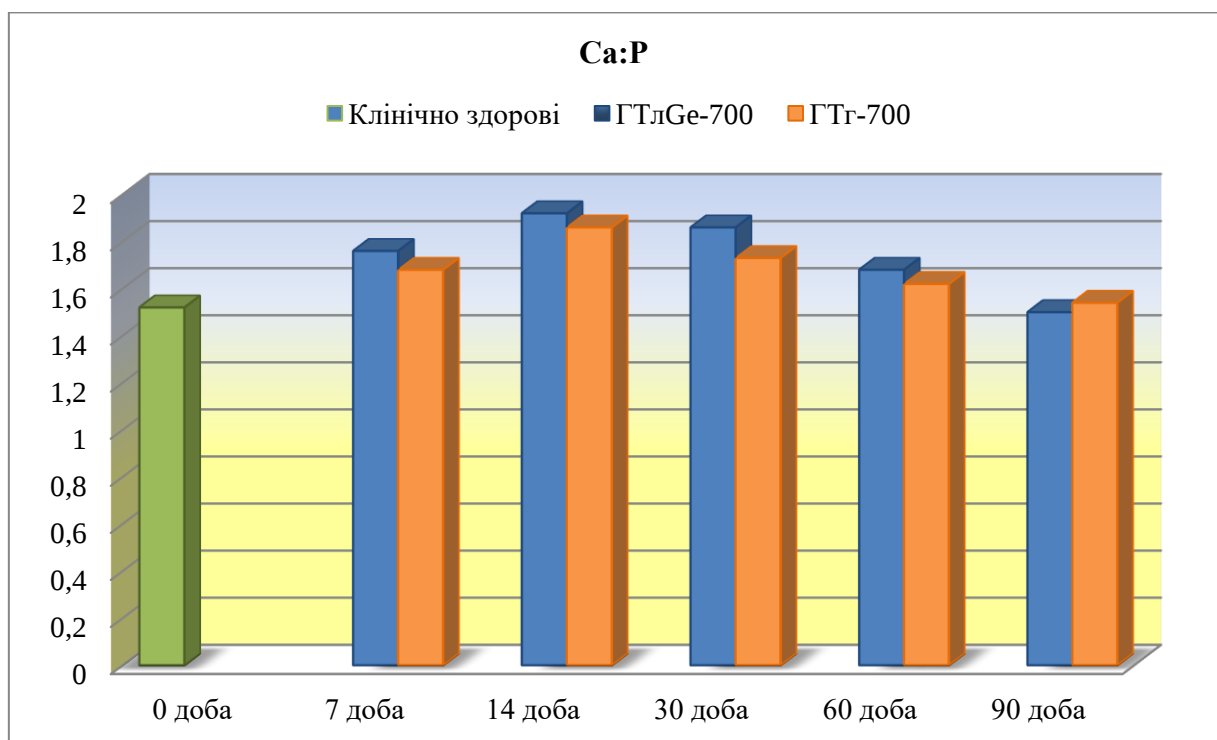


Рис. 3.22. Динаміка змін кальцій-фосфорного співвідношення за використання різних імплантів

Достатньо показовою виявилася динаміка рівня загального білку в сироватці крові, хоча його зміни протягом усіх термінів дослідження і відбувалися в межах фізіологічної норми. Так, його кількість у контрольних тварин достовірно збільшувалася вже з 7-ї доби, порівняно з клінічно здоровими кролями, а далі на 14-у добу була більшою у 1,1 раза ($p < 0,001$), на 30-у – в 1,2 раза ($p < 0,001$), на 60-у добу – у 1,1 раза ($p < 0,001$). У дослідних кролів відмічали дещо менший рівень підвищення концентрації загального білку. Достовірно вищі його показники в 1,1 раза ($p < 0,001$) щодо показників клінічно здорових тварин встановлені на 14-у ($73,69 \pm 0,69$ г/л) та 30-у ($74,38 \pm 0,45$ г/л) добу консолідації модельних дефектів. Тобто в період переходу стадії запальної остеорезорбції у фазу остеогенної проліферації, яка потребує посилення анаболічних ефектів. Оскільки протягом усіх 60-ти діб у контрольній групі концентрація загального білку достовірно була більшою, ніж у дослідній, то для досягнення цього ефекту за остеозаміщення нелегованою керамікою потребує більше часу, що узгоджується з результатами гістоморфологічних досліджень кісткових регенератів.

Альбумін є транспортним білком і відноситься до категорії негативних білків гострої фази, концентрація яких в крові зменшується в умовах травми і запалення. Однак у разі остеозаміщення обома матеріалами цього не відбувалося, а, навпаки, вміст альбуміну в сироватці крові виявився збільшеним – до 30-ї доби в контрольній та до 14-ої доби в дослідній групі (рис. 3.23). При чому в усіх випадках достовірна різниця за рівнем альбуміну як між контрольною і дослідною групами, так і показником клінічно здорових тварин була не більшою, ніж у 1,1 раза ($p < 0,01-0,001$), за дещо більших його величин у контрольних тварин.

Хоча, знову ж таки, ці його зміни відбувалися у межах фізіологічної норми. Показники альбуміну в дослідних кролів з 7-ї по 30-у добу були у 1,1 раза ($p < 0,01-0,001$) нижчими за показники тварин контрольної групи. Нормалізація показників у дослідній групі відбувалася на 30-у добу, а у контрольній групі – на 60-у добу досліджень.

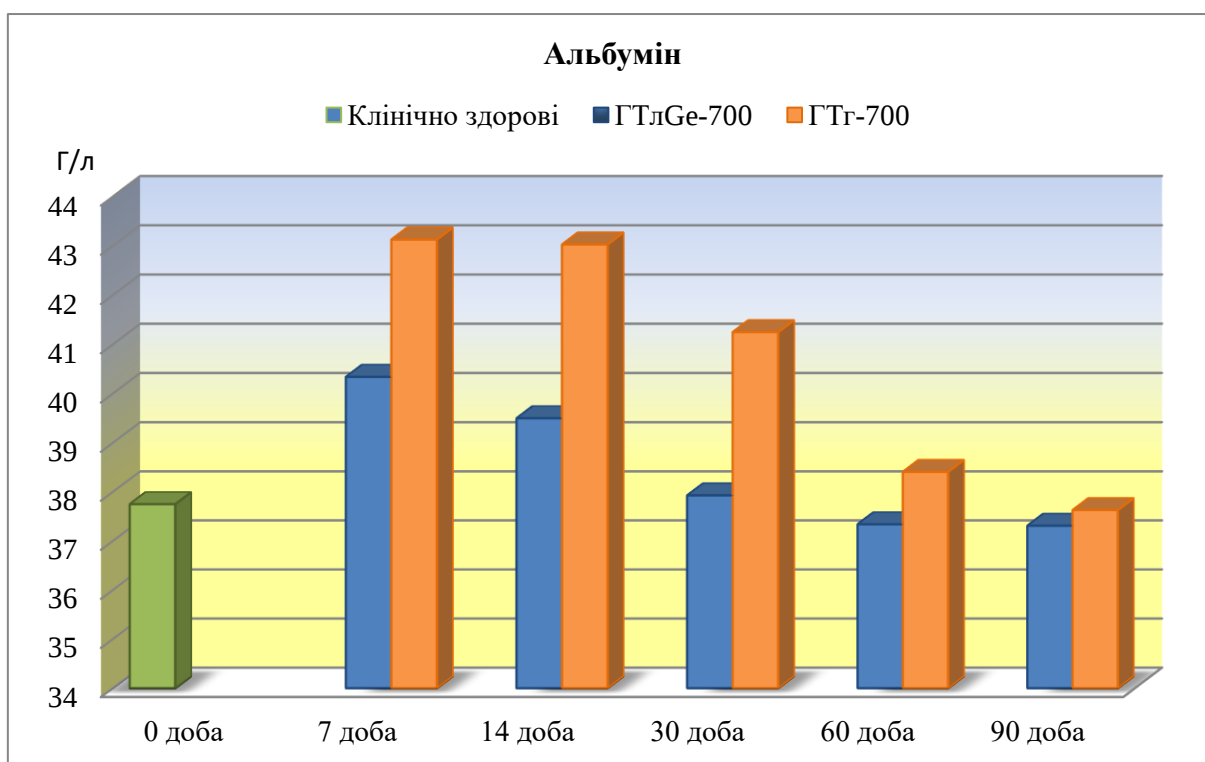


Рис. 3.23. Динаміка рівня альбуміну за використання різних імплантів

Подібною виявилася динаміка вмісту в сироватці крові глобулінів, але за відсутності достовірної різниці між його показниками у контрольній і дослідній групах.

На 7-у добу репаративного остеогенезу рівень глобулінів знижувався у 1,1 раза ($p < 0,05$) порівняно з клінічно здоровими тваринами як у дослідних, так і у контрольних тварин. Натомість вже з 14-ї доби відмічали його достовірне збільшення в обох групах з піком на 30-у добу (в 1,2 раза, $p < 0,001$), а далі відновлення до рівня клінічно здорових тварин у дослідній групі на 60-у та у контрольній на 90-у добу дослідження.

Баланс між різними фракціями загального білку в сироватці крові відображає коефіцієнт альбумін/глобулінового співвідношення (А/Г) або «білковий коефіцієнт» (рис. 3.24).

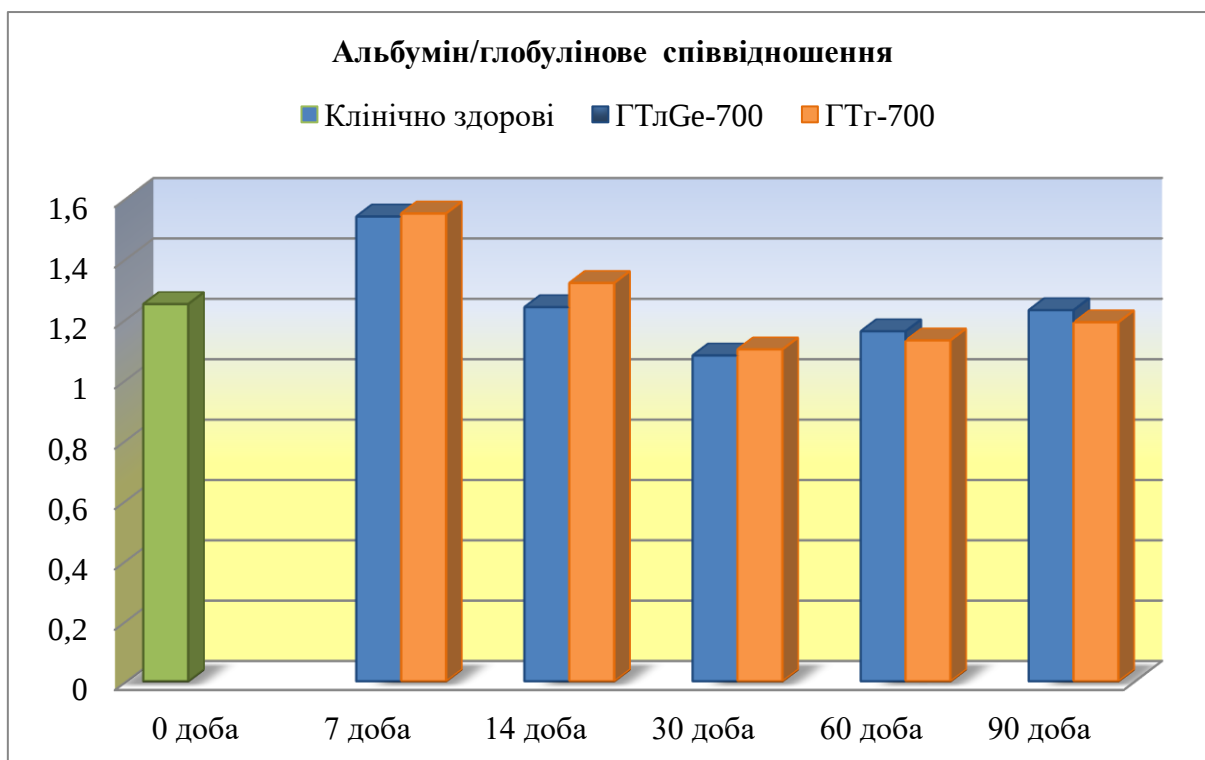


Рис. 3.24. Динаміка змін коефіцієнту альбумін/глобулінового співвідношення за використання різних імплантів

На 7-у добу встановили підвищення альбумін-глобулінового коефіцієнту у обох групах у 1,2 раза ($p < 0,001$) порівняно з клінічно здоровими тваринами. На 14-у добу він не мав достовірної різниці з показником останніх. Проте на 30-у добу відмічали достовірне щодо клінічно здорових тварин його зменшення у 1,1 раза ($p < 0,01$) в обох групах. Далі цей коефіцієнт підвищувався з нормалізацією у дослідній групі на 60-у добу, а у контрольній – на 90-у добу консолідації модельних переломів.

Зменшення А/Г коефіцієнта за нормального рівня загального білка відображає посилення активності гуморальних імунологічних реакцій, інтенсивність яких збільшується в період 30–60-ї доби репаративного остеогенезу.

Таким чином, остеозаміщення будь-якою кальцій-фосфатною керамікою обмежує за рахунок своїх остеокондуктивних властивостей посттравматичні катаболічні процеси, що створює умови для виконання білками їх транспортних та імунологічних функцій. При цьому за

використання легованої германієм кераміки це має більш оптимізований характер.

3.5.2. Показники ендотеліального, антикоагулянтного, антиоксидантного та імунологічного статусу. Клітинно-молекулярні механізми запалення, ангіогенезу та остеогенезу тісно пов'язані між собою на всіх етапах фізіологічного ремоделювання чи посттравматичної регенерації кісток, які реалізуються через системи прозапальних і протизапальних цитокінів, низку різноманітних сімейств факторів росту, сигнальні молекули імунної системи та гемостазу шляхом їх експресії на ендотеліальних і кісткових клітинах, макрофагах та імунокомпетентних клітинах, а також, у першу чергу, фібриновій матриці посттравматичної кісткової гематоми [121, 123].

У відповідності до цього проведено вивчення динаміки біохімічних маркерів цих механізмів за остеозаміщення (табл. 3.4).

Зокрема, протеїн С є не тільки природним антикоагулянтом, а й стабілізує бар'єрні функції ендотелія, проявляє протизапальні та антиапоптозні властивості через блокування продукції прозапальних цитокінів і контролює деградацію фібринової матриці.

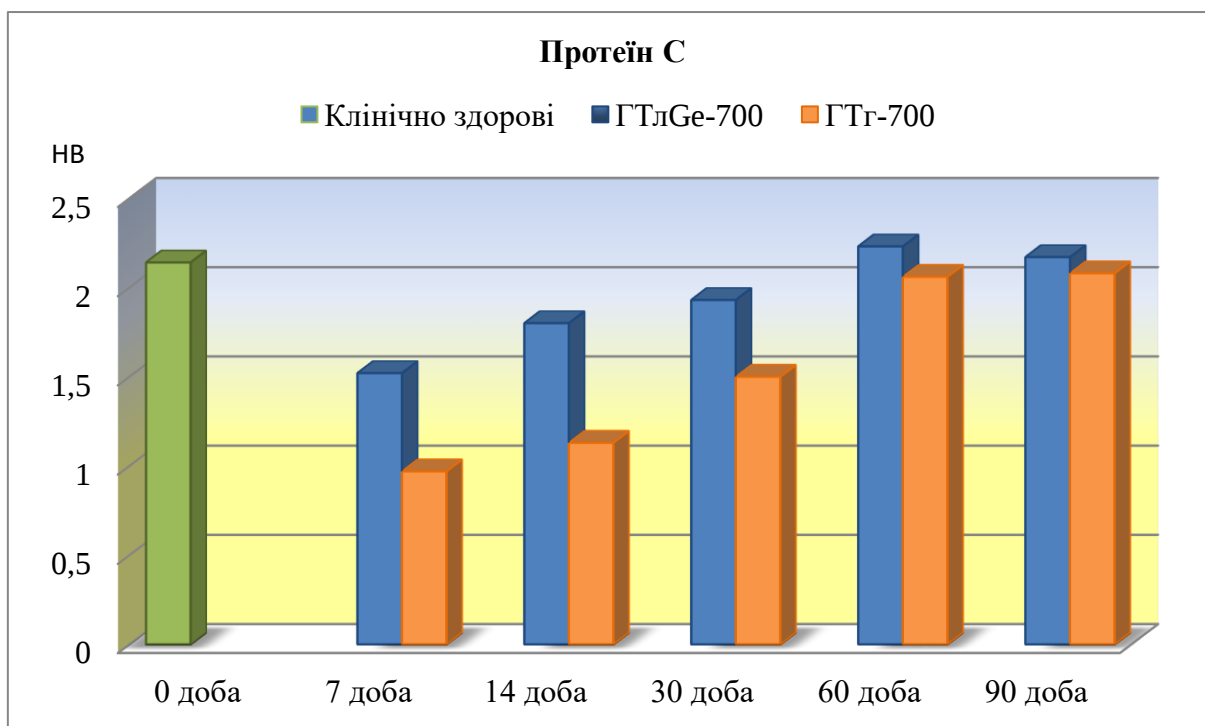
Рівень активності природного антикоагулянта протеїна С (рис. 3.25) різко знижувався у контрольній групі. Так, вже на 7-у його активність виявилася меншою у 2,2 раза ($p < 0,001$) порівняно з клінічно здоровими тваринами та у 1,6 раза ($p < 0,001$) – з дослідними. При цьому в останніх вона зменшилася тільки в 1,5 раза ($p < 0,001$). На 14-у добу досліджень активність антикоагулянта починала підвищуватись, проте ще була достовірно нижчою у 1,9 раза ($p < 0,001$) в контрольній групі та в 1,2 раза ($p < 0,001$) в дослідній щодо показника клінічно здорових тварин. При чому достовірна різниця між групами залишалася на попередньому рівні – у тварин за остеозаміщення ГТлGeg-700 активність протеїну С була вищою у 1,6 раза, ніж у тварин контрольної групи.

Таблиця 3.4

Динаміка біохімічних показників за остеозаміщення у кролів різними видами кальцій-фосфатної кераміки

Доба	Групи тварин	Церулоплазмін, мг/л	ЦІК, ум.од.		Протеїн С, НВ	НО, мкмоль/л
			великомоле- кулярні	дрібномоле- кулярні		
	Клінічно здорові, (n=24)	317,31±7,73	3,21±0,22	5,33±0,27	2,14±0,07	28,71±0,29
7	ГТГ, (n=24) ГТлGer, (n=24)	<u>445,82±7,57▼▼▼</u> 397,42±6,29▼▼▼ ***	<u>4,17±0,39▼</u> 3,58±0,26	<u>6,92±0,03▼▼▼</u> 5,58±0,39**	<u>0,97±0,12▼▼▼</u> 1,52±0,05▼▼▼ ***	<u>29,0±0,44</u> 29,58±0,39
14	ГТГ, (n=12) ГТлGer, (n=12)	<u>450,21±8,79▼▼▼</u> 371,58±9,55▼▼▼ ***	<u>5,17±0,27▼▼▼</u> 4,0±0,28▼ **	<u>10,25±0,48▼▼▼</u> 7,17±0,44▼▼▼ ***	<u>1,13±0,08▼▼▼</u> 1,8±0,02▼▼▼ ***	<u>30,92±0,49▼▼▼</u> 37,0±0,62▼▼▼ ***
30	ГТГ, (n=9) ГТлGer, (n=9)	<u>418,74±2,89▼▼▼</u> 333,86±4,4***	<u>4,89±0,31▼▼▼</u> 3,78±0,32*	<u>9,44±0,47▼▼▼</u> 6,33±0,29▼ ***	<u>1,5±0,04▼▼▼</u> 1,93±0,1***	<u>30,78±0,43▼▼▼</u> 34,0±0,44▼▼▼ ***
60	ГТГ, (n=6) ГТлGer, (n=6)	<u>371,93±9,98▼▼▼</u> 319,63±5,48**	<u>4,17±0,31▼</u> 3,33±0,42	<u>7,33±0,61▼▼▼</u> 5,83±0,31	<u>2,06±0,13</u> 2,23±0,09	<u>29,83±0,7</u> 30,0±0,37▼▼
90	ГТГ, (n=3) ГТлGer, (n=3)	<u>338,31±10,57</u> 318,94±1,19	<u>4,0±0,1▼▼</u> 3,0±0,58	<u>6,33±0,33▼</u> 5,33±0,33	<u>2,08±0,06</u> 2,17±0,07	<u>28,67±0,33</u> 28,33±0,33

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



**Рис. 3.25. Динаміка рівня активності протеїна С
за використання різних імплантів**

На 30-у добу різниця у 1,3 раза ($p < 0,001$) між групами залишалася, незважаючи на подальше її підвищення в обох групах. Водночас у цей термін у дослідних тварин достовірної різниці з клінічно здоровими не встановлено.

Таким чином, у тварин з кістковою травмою в ранній період остеозаміщення відбувається суттєве, більш ніж удвічі, зменшення антикоагулянтного потенцілу крові, що ускладнює гіперкоагуляційний стан, який має місце за переломів кісток [14]. При цьому відновлення активності природного антикоагулянта протеїна С у випадку остеозаміщення нелегованою керамікою відбувається лише на 60-у добу репаративного остеогенезу, тоді як легованою германієм – на 30-у, за значно меншого попереднього зменшення, що, ймовірно, зумовлено протизапальними властивостями германію у зоні кісткової травми.

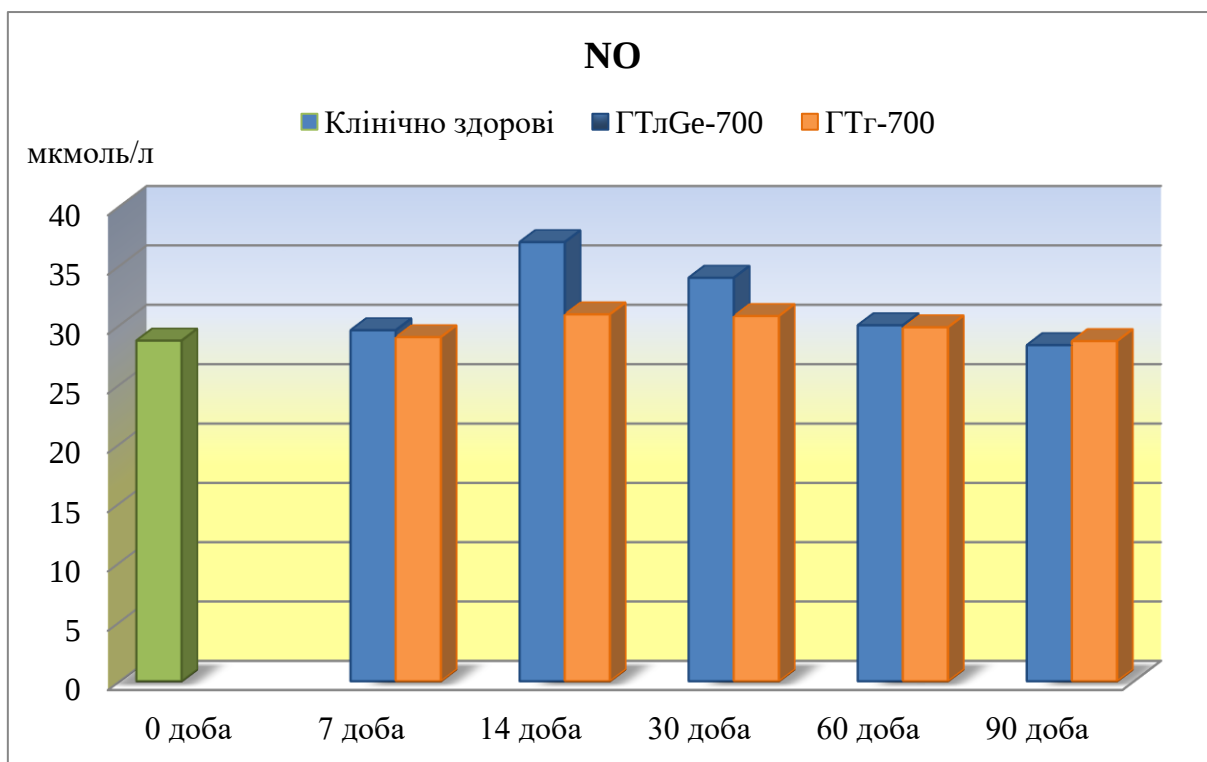
Динамічними виявилися і зміни вмісту в сироватці крові NO. Його рівень мав піки підвищення в період 14–30-ої діб. Спочатку на 7-ю добу спостерігали лише тенденцію до підвищення концентрації NO без достовірної різниці. Проте на 14-у добу консолідації кісткових дефектів

рівень NO у дослідних тварин збільшувався у 1,3 раза ($p < 0,001$) порівняно з клінічно здоровими кролями, та був більшим в 1,3 раза ($p < 0,001$), ніж у контрольних. На 30-у добу в контрольній групі він залишався на рівні попередньої 14-ої доби, а у дослідній групі ще залишався вищим у 1,1 раза ($p < 0,001$) порівняно з контрольними тваринами. При чому в дослідних тварин ще і на 60-у добу рівень NO був достовірно дещо вищим ($p < 0,001$), ніж у клінічно здорових тварин (рис. 3.26).

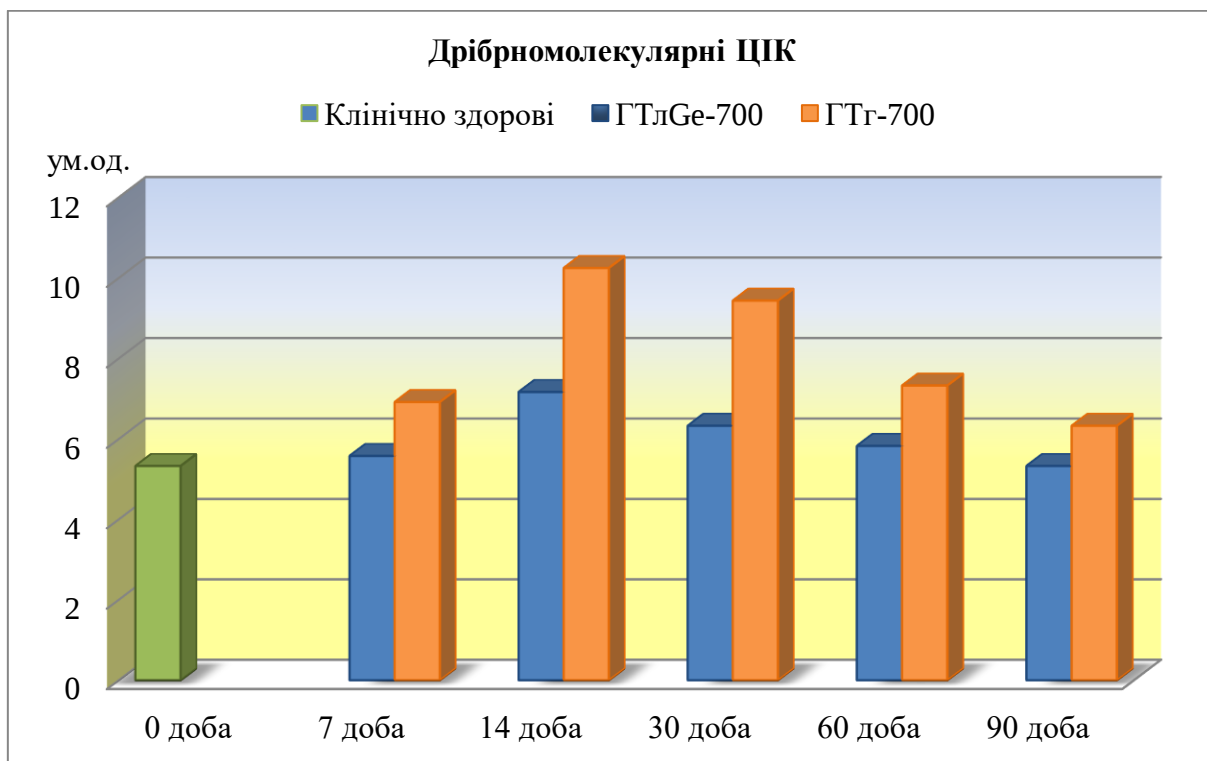
Отже, оскільки у проліферативній фазі репаративного остеогенезу продукція NO зумовлюється ендотеліальною ізоформою NO-синтази [156], то в такому разі іони германію стимулюють ендотеліальну функцію та відповідно неоангіогенез, що є надзвичайно важливим для оксигенації ділянки кісткової травми і синтезу остеобластами кісткового колагену II типу.

Церулоплазмін відноситься до білків гострої фази і одночасно є антиоксидантом. Причому чим більшим є рівень у тканинах вільних радикалів запально-деструктивного генезу, тим вищою виявляється у сироватці крові концентрація церулоплазміну. У кролів за остеозаміщення ГТл-700 вона виявилася достовірно підвищеною до 60-ої доби, а легованою германієм – тільки до 14-ої. У дослідній групі рівень підвищення церулоплазміну був більш помірним: на 7-у добу в 1,3 раза ($p < 0,001$), на 14-у добу – в 1,2 раза ($p < 0,001$), порівняно з клінічно здоровими тваринами. Проте у контрольній групі його вміст у сироватці крові був більшим, ніж у клінічно здорових тварин: на 7-у добу – в 1,4 раза ($p < 0,001$), на 14-у добу – в 1,4 раза ($p < 0,001$), на 30-у – в 1,3 раза ($p < 0,001$) та на 60-у – в 1,2 раза ($p < 0,001$), за високого рівня достовірної різниці з показниками дослідної групи.

Відображенням стану імунологічної реактивності в динаміці репаративного остеогенезу можуть бути гуморальні реакції імунокомплексоутворення, біохімічними маркерами яких є великі та малі циркулюючі імунні комплекси (антиген-антитіло). Зміни рівня дрібномолекулярних ЦІК відбувалися у контрольній групі вже на 7-му добу (рис. 3.27), коли він збільшувався в 1,3 раза ($p < 0,001$).



**Рис. 3.26. Динаміка рівня оксиду азоту
за використання різних імплантів**



**Рис. 3.27. Динаміка рівня дрібномолекулярних ЦІК
за використання різних імплантів**

Свого піку він досягав на 14-у добу – $10,25 \pm 0,48$ ум.од. (збільшення в 1,9 раза, $p < 0,001$), та утримувався на приблизно цьому ж рівні і на 30-у добу – $9,44 \pm 0,47$ ум.од. Після цього, незважаючи навіть на поступове його зменшення, і на 90-у добу вміст у сироватці крові дрібномолекулярних ЦІК все ще залишався в 1,2 раза ($p < 0,05$) більшим, ніж у клінічно здорових тварин. Натомість у дослідній групі збільшення рівня дрібних ЦІК виявилось помірним, лише в період 14-ої та 30-ої доби, в 1,3 ($p < 0,001$) та в 1,2 ($p < 0,05$) раза, відповідно.

Подібною виявилася і динаміка великих ЦІК. Початкове збільшення їх рівня у контрольних тварин встановлено також на 7-у добу – в 1,3 раза ($p < 0,05$). Їх пікове значення виявлено на 14-у добу – збільшення в 1,6 раза ($p < 0,001$). А далі, концентрація великих ЦІК у контрольних кролів поступово зменшувалася, але у всі решта термінів була більшою, ніж у клінічно здорових тварин: на 30-у добу – в 1,5 раза, ($p < 0,001$); на 60-у – в 1,3 раза ($p < 0,05$); на 90-у – в 1,2 раза ($p < 0,01$). Натомість підвищення рівня великих ЦІК у дослідних тварин встановлено лише на 14-у та 30-у добу в 1,2 раза ($p < 0,05$) порівняно з клінічно здоровими тваринами.

Формування ЦІК є закономірним явищем за будь-якого неінфекційного чи інфекційного запального процесу. Ці комплекси, з одного боку, забезпечують знешкодження і елімінацію патогенних агентів (бактерій, токсинів, денатурованих тканин), а з іншого діють як медіатори запалення за їх надмірної концентрації. Своєю чергою елімінацію ЦІК здійснюють макрофаги. При чому для великих ЦІК вона комплемент-залежна, а для малих характерна тривала персистенція у тканинах. З огляду на це та встановлену динаміку ЦІК, іони германію реалізують свою імуномодельючу дію через популяції макрофагів у кістковій тканині, що зумовлює в цьому разі помірне і нетривале збільшення концентрації ЦІК у сироватці крові за остеозаміщення легованою кальцій-фосфатною керамікою.

3.5.3. Біохімічні маркери кісткового метаболізму. До ферментів, що беруть участь у метаболізмі кісткової тканини, відносяться лужна та тар трат-резистентна кисла фосфатаза. Кісткова ізоформа лужної фосфатази каталізує перенесення іонів фосфорної кислоти від фосфоефіру до компонентів органічного матриксу кістки, тобто бере участь в утворенні ядер кристалізації. Кісткова лужна фосфатаза локалізована, головним чином, в остеобластах, а тому відображає їх функціональну активність і визнана останнім часом одним із біохімічних маркерів остеогенезу [2]. Активація перебудови кісткової тканини позначена підвищенням активності цього ферменту в крові. Кисла тартрат-резистентна фосфатаза синтезується переважно остеокластами і бере участь у резорбції кісткової тканини.

Встановлено динамічні зміни зазначених 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 (табл. 3.5). Ці зміни виявилися достовірними 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 та її транспорт у тканини. Вона недостатньо специфічна, оскільки включає кістковий, печінковий і кишковий ізоферменти. При заборі крові на тещерце її специфічність щодо відображення стану кісткового метаболізму підвищується. Заразом активність загальної лужної фосфатази відображає інтенсивність запально-деструктивних процесів.

В динаміці її активності встановлені достовірні відмінності між контрольною і дослідною групами в терміни дослідження з 7-ї до 60-ї доби. При цьому в контрольній групі відмічали поступове підвищення активності цього ензима 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 ($p < 0,001$).

Таблиця 3.5

**Динаміка біохімічних маркерів кісткового метаболізму в сироватці крові
кролів за остеозаміщення легованою та нелегованою
кальцій-фосфатною керамікою**

Доба	Група	ЗЛФ, од./л	КіЛФ, од./л	ТрКФ, од./л
0	Клінічно здорові, (n=24)	65,75±0,44	41,18±0,42	29,78±0,6
7	ГТлGeГ, (n=12) ГТГ, (n=12)	<u>73,0±0,56***♦♦</u> 69,74±0,76♦♦	<u>52±0,41***♦♦</u> 44,38±0,63♦♦	<u>30,08±0,75</u> 29,69±0,51
14	ГТлGeГ, (n=12) ГТГ, (n=12)	<u>89,54±0,43***♦♦♦</u> 70,47±0,37♦♦♦	<u>57,54±0,48***♦♦♦</u> 46,25±0,47♦♦♦	<u>39,63±0,59***♦♦♦</u> 34,29±0,48♦♦♦
30	ГТлGeГ, (n=9) ГТГ, (n=9)	<u>79,19±0,44***</u> 76,93±0,66 ♦♦♦	<u>45,23±0,61***</u> 46,94±0,34♦♦♦	<u>35,42±0,59***♦♦♦</u> 42,29±0,24♦♦♦
60	ГТлGeГ, (n=6) ГТГ, (n=6)	<u>68,92±0,34***♦♦♦</u> 80,52±0,36♦♦♦	<u>44,7±0,35***♦♦♦</u> 51,13±0,42♦♦♦	<u>33,55±0,76***♦♦♦</u> 38,13±0,48♦♦♦
90	ГТлGeГ, (n=3) ГТГ, (n=3)	<u>67,23±0,56</u> 65,83±0,48	<u>44,7±0,35</u> 45,2±0,47	<u>30,2±0,57</u> 30,93±0,09

Примітки: 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.

В дослідній групі пікове значення – 89,54±0,43 од./л (p<0,001), встановлено на 14-у добу репаративного остеогенезу. В наступному активність загальної лужної фосфатази динамічно зменшувалося 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.

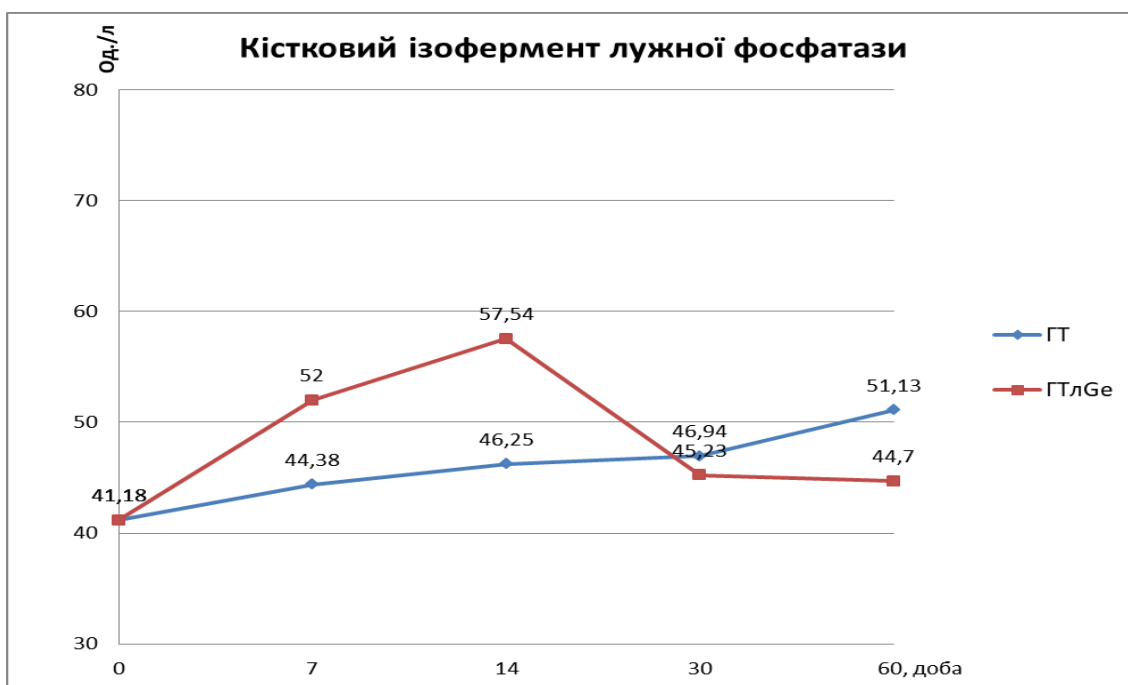
Кістковий ізофермент лужної фосфатази (КіЛФ) локалізується у цитоплазматичній мембрані остеобластів, генерує позаклітинний

неорганічний фосфат і тому вважається біохімічним маркером остеогенезу [26]. У терміни дослідження з 7-ої до 60-ої діб активність КіЛФ 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 КіЛФ протягом 30 діб, але її піковий показник ($p<0,001$) виявлено тільки на 60-у добу – $51,13 \pm 0,42$ од./л репаративного остеогенезу. Проте за остеозаміщення ГТлГеґ–700 у дослідних кролів пік активності КіЛФ встановлено вже на 14-у добу – $57,54 \pm 0,48$ од./л ($p<0,001$). При чому 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. 3.28).

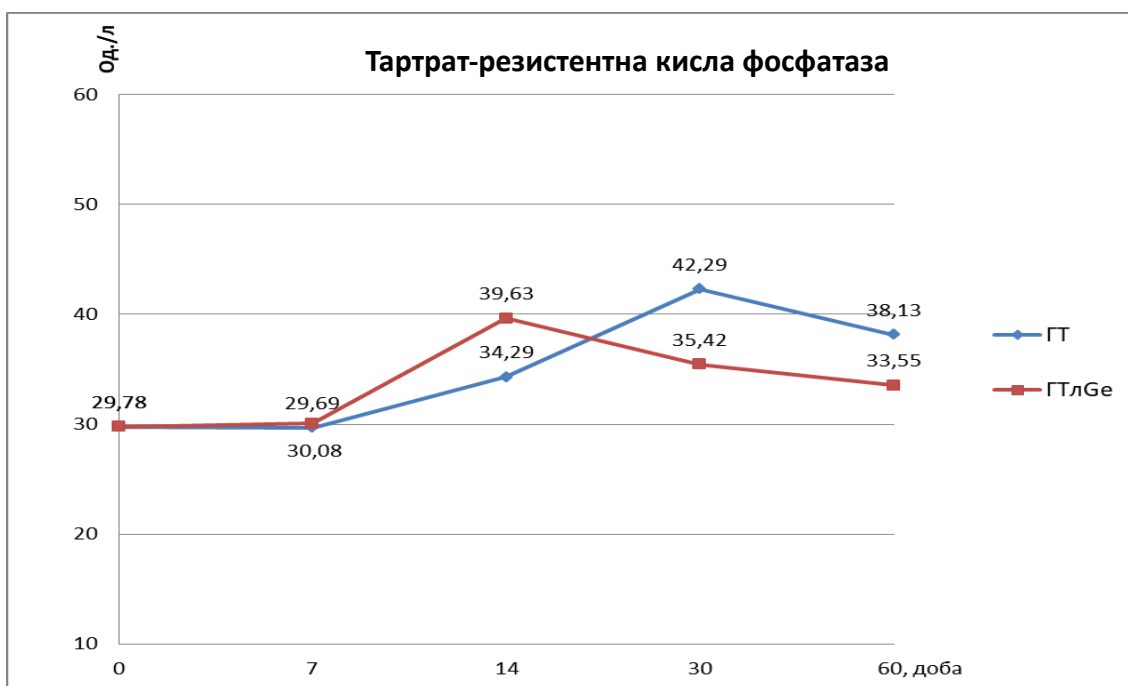
Отже, динаміка активності КіЛФ свідчить про більш ранню та більш інтенсивну остеобластичну реакцію у випадку остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою.

Тартрат-резистентна кисла фосфатаза (ТрКФ) екскретується макрофагами і є лізосомальним ферментом остеокластів, а тому відноситься до специфічних маркерів кісткової резорбції. У обох групах її активність виявилася достовірно збільшеною в період 14-, 30- та 60-ої діб репаративного остеогенеза. При чому в дослідній групі пік активності ТрКФ мав місце 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 ТрКФ рівень достовірності між її показниками в групах був високим – $p<0,001$ (рис. 3.29).

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



**Рис. 3.28. Динаміка активності КіЛФ в сироватці крові кролів
за використання різних імплантів**



**Рис. 3.29. Динаміка рівня ТрКФ в сироватці крові кролів
за використання різних імплантів**

Представлене дослідження є одним із перших щодо обґрунтування остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, що ґрунтується на притаманних для такого типу остеозаміщувальних матеріалів остеокондуктивних і остеointegraційних властивостей та широкого спектру біологічної дії іонів германію. Саме останнє розширює можливості використання легованої германієм кераміки, порівняно із найбільш вивченими іонами Zn чи Si, за низки нозологічних форм первинних і вторинних переломів кісток. Використані методи дослідження дозволили різносторонньо оцінити особливості репаративного остеогенезу за остеозаміщення ГТлGeг-700 модельних кісткових дефектів у кролів. На підставі клініко-рентгенологічних, макро- і гістоморфологічних досліджень підтверджено остеокондуктивні та остеointegraційні властивості КФК встановлені у попередніх роботах [66, 79, 86] як за її різних фізико-хімічних характеристик, так і у разі їх легування Si чи у комбінації з PRP-матеріалами.

Водночас за легування кальцій-фосфатної кераміки германієм встановлено обмежену і помірну реакцію періосту запального характеру тривалістю не більше 14-и діб та з ознаками проліферативного остеосклерозу, яка в разі остеозаміщення ГТг-700 більш тривала (до 30-ї доби) і виходить за межі ділянки кісткової травми. При цьому характерною для остеозаміщення ГТлGeг-700 є виражена ендостальна реакція з ознаками остеосклерозу, що наростає до 30-ї доби, але з її локалізацією лише у зоні травми, що може бути свідченням перебігу репаративного остеогенезу наближеним до консолідації за первинним натягом. Звертає на себе увагу процес біодеградації остеозаміщувального матеріалу, який співпадає з явищами остеосклерозу, який свідчить про посилення остеогенної реакції.

Підтвердженням цьому стала і макроморфологічна картина кісткових регенератів після остеозаміщення КФК, яка характеризувалася динамічним виповненням кісткових дефектів уже на 14-у добу з формуванням фіброзно-хрящового регенерату і розрізненими гранулами легованої кераміки у його глибині, але без надмірних нашарувань періосту. При чому до 30-ї доби

регенерат повністю був монолітним з оточуючою кістковою тканиною та мав подібну до неї щільність, що в цілому відображало остеоіндуктивну дію ГТлГег-700, яка посилювала остеоіндуктивні та остеointegraційні властивості гідроксиапатитної кераміки завдяки іонам германію.

Заразом гістоморфологічно доведено, що механізми остеоіндуктивної дії іонів германію реалізуються через підвищену міграцію у зону кісткового дефекту остеогенних клітин, ранній неоангіогенез, ранню і потужну остеобластичну реакцію, в тому числі і на поверхні кераміки (14-а доба).

Це забезпечує формування повноцінної кісткової тканини як на поверхні, так і у порах остеозаміщувального матеріалу з поступовою його біодеградацією (30-а доба) остеокластами і заміщується губчастою кісткою (60-а доба), а до 90-ї доби навіть відновлюється структура кістково-мозкового каналу травмованої кістки. При цьому в разі остеозаміщення ГТлГег-700 кісткових дефектів у губчастій кістковій тканині репаративний остеогенез перебігає більш динамічно з формуванням судинних каналців раніше 14-ї доби та інтенсивною міграцією остеогенних клітин з боку материнської кістки, утворенням кісткової тканини у поверхневих і глибоких шарах КФК та більш вираженою остеоцитарною реакцією (30-а доба).

Поряд з цим встановлено, що остеозаміщення ГТлГег-700 супроводжується типовими для посттравматичного періоду еритроцитопенією та олігохромемією, які усуваються до 14-ої доби. При цьому помірний лейкоцитоз у межах фізіологічної норми достовірно більший у період 14-ої доби виявляється за використання ГТлГег-700, що, ймовірно, може свідчити про вплив іонів германію на лейкоцитогенез. Це стосується і тромбоцитогенезу, оскільки тромбоцитоз на 14-у добу в дослідній групі виявився достовірно вищим, ніж у контрольній.

Водночас більш суттєво особливості лейкоцитарної реакції за остеозаміщення ГТлГег-700 розкривають зміни лейкоцитарних індексів, величина яких не залежить від загальної кількості лейкоцитів. Так, ядерний індекс інтоксикації засвідчив стимулюючий вплив іонів германію на

кістковий мозок, а більш ранні піки індексів зсуву лейкоцитів та інтоксикації про меншу інтенсивність запальної фази репаративного остеогенезу.

Оптимізований і динамічний перебіг репаративного остеогенезу в разі остеозаміщення ГТлGe-700 екстраполюється і через показники його патохімічної фази. Зокрема, це підвищення індекса Петерсона в період 7–30-ої діб (в контролі лише на 14-у добу), що свідчить про більш інтенсивний перерозподіл Ca і P в межах кісткової системи. Менш виражені зміни в білковій картині крові та антиоксидантному стані організму свідчать про менший рівень посттравматичних катаболічних процесів, що відповідно обмежує інтенсивність гіперкоагуляційних зрушень з раннім (на 30-у добу) відновленням активності природного антикоагулянта протейна С (в контролі – на 60-у добу). Достовірно вищий рівень NO в період 14–30-ої доби є відображенням інтенсивного неоангіогенезу, а помірне, на відміну від суттєвого у разі контрольного остеозаміщення, підвищення ЦІК різних класів засвідчує про ефективну їх елімінацію макрофагами.

І на сам кінець, динаміка біохімічних кісткових маркерів чітко корелює з клініко-рентгенологічною, макро- і гістоморфологічною оцінкою репаративного остеогенезу за остеозаміщення ГТлGe-700. Вона засвідчує ранній остеогенез за піками активності КіЛФ на 14-у і 30-у добу та обмежену запально-резорбтивну фазу за піком активності ТрКФ на 14-у (у контрольній протягом 14–60-ї доби), а за піком активності ЗЛФ на 14-у добу (у контролі – 60-а доба).

Таким чином, доведено, що легування кальцій-фосфатної кераміки іонами германію надає їй виражених остеоіндуктивних властивостей та посилює її остеointegraційні характеристики із забезпеченням контрольованої біодеградації остеозаміщувального матеріалу. За клініко-рентгенологічними, макро- і гістоморфологічними та біохімічними критеріями це забезпечує ранній неоангіогенез і остеобластичну реакцію на фоні обмеженої запально-резорбтивної фази та оптимізує перебіг репаративного остеогенезу в разі кісткових дефектів.

Матеріали розділу опубліковані в наступних працях [239, 324].

РОЗДІЛ 4

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ОСТЕОЗАМІЩЕННЯ ЛЕГОВАНОЮ ГЕРМАНІЄМ КАЛЬЦІЙ-ФОСФАТНОЮ КЕРАМІКОЮ ЗА МОДЕЛЬОВАНИХ ПЕРЕЛОМІВ КІСТОК У КРОЛІВ З ОСТЕОПОРОЗОМ

Серед тварин-компаньйонів досить поширеною є різноманітна кістково-суглобова патологія, серед якої, головним чином, переломи кісток, дегенеративно-дистрофічні процеси в суглобах (суглобові дисплазії, асептичний некроз головки стегнової кістки), що зумовлюють остеоартроз. Одним із факторів їх ризику може бути остеопороз, пов'язаний із порушенням кісткового метаболізму.

Остеопороз характеризується зменшенням щільності кісткової тканини, зміною її мінерального складу, порушеннями мікроархітекτονіки і біомеханічних властивостей, наслідком чого є патологічні низькоенергетичні переломи [31, 32, 323].

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

Серед різних етіопатогенетичних моделей остеопорозу (зумовлений дефіцитом статевих гормонів, аліментарний, променевий, іммобілізаційний) глюкокортикоїд-індукований остеопороз є найбільш мультимодальним. Він досягається введенням високих доз кортикостероїдних препаратів (дексаметазон, преднізолон, метилпреднізолон). При цьому патогенетичні механізми глюкокортикоїдної остеопенії включають зменшення абсорбції та реабсорбції кальцію, зниження експресії рецепторів до вітаміну D, пригнічення статевих гормонів, посилення синтезу паратиреоїдного гормону,

зниження синтезу локальних факторів росту кісткової тканини, порушення експресії молекул адгезії і взаємодії остеобластів з кістковим матриксом, зниження синтезу колагену і неколагенових білків, які гальмують проліферацію остеобластів, синтез ними колагену і неколагенових білків.

4.1. Індукція глюкокортикоїдного остеопорозу в кролів

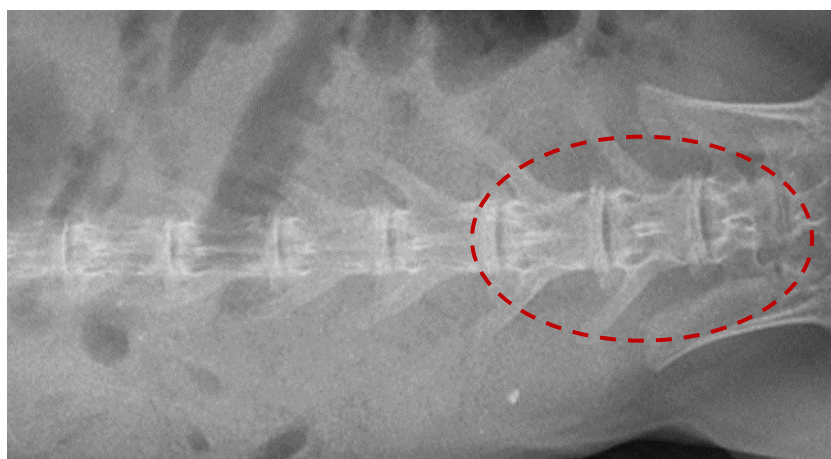
У разі виникнення спонтанних низькоенергетичних (нетравматичних) переломів, зумовлених, остеопорозом передбачуваним є порушення репаративного остеогенезу на підґрунті змін структурно-функціонального стану кісткової тканини, що насамперед потребує встановлення його діагностично-прогностичних критеріїв та оптимізації консолідації таких переломів, шляхом, у тому числі і остеозаміщення [2]. В зв'язку з цим виникла необхідність у попередньому визначенні клініко-рентгенологічних та патохімічних критеріїв у динаміці розвитку остеопорозного процесу на моделі кролів.

Як було зазначено вище, експериментальний остеопороз у кролів (n=18) викликали введенням дексаметазону протягом 21-ої доби в дозі 1,2 мг/кг, а контрольним тваринам (n=9) ін'єктували фізрозчин.

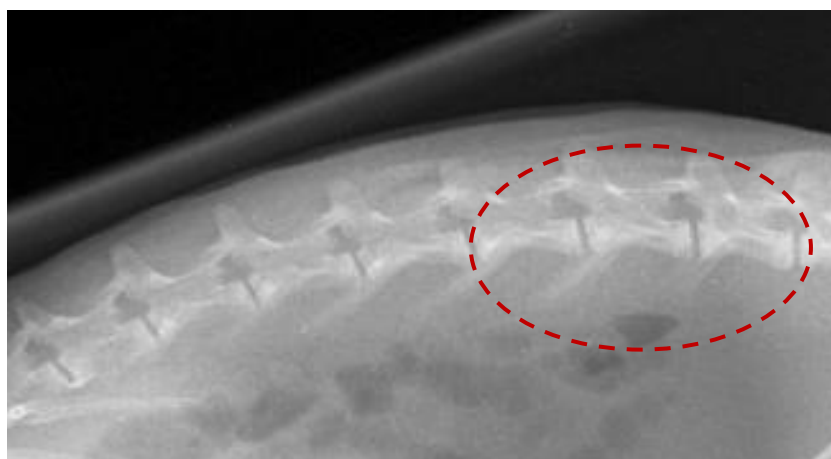
4.1.1. Динаміка рентгенологічної картини скелету кролів

За рентгенодіагностики остеопорозу загальноновизнаними [56, 322] його рентгенографічними критеріями є трабекулярна, інтракортикальна, ендостальна і субпериостальна резорбція переважно проксимальних епіфізарно-метафізарних ділянок трубчастих кісток та різні види деформації здебільшого поперекових хребців внаслідок резорбції їх трабекулярної тканини.

В нормі на рентгенограмі кісток скелету клінічно здорових кролів чітко простежується однорідна структура кісткової тканини без видимого затемнення на світлих ділянках рентгенконтрастної тіні (рис. 4.1).



а



б



в

Рис. 4.1. Рентгенологічна картина скелету кроля в нормі: а – поперековий відділ хребта (вентро-дорсальна проекція); б – поперековий відділ хребта (латеральна проекція); в – проксимальна епіфізо-метафізарна ділянка стегнової кістки (вентро-дорсальна проекція)

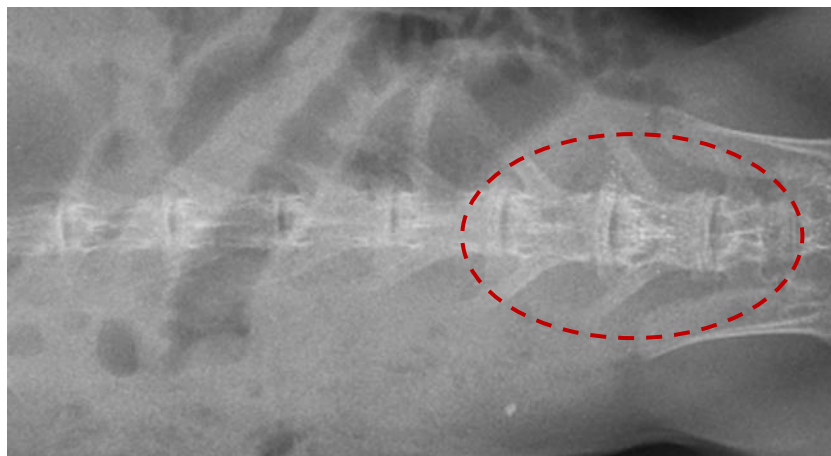
На 7-у добу індукції остеопорозу чітко виражених рентгенографічних остеопоротичних змін не встановлено. Проте, у губчастій кістковій тканині хребців з'являється розмитість остеосклеротичних рентгенівських тіней (рис. 4.2 а, б) і збільшення площі затемнених тіней (розрідження трабекулярної структури) у проксимальній ділянці стегнової кістки (рис. 4.2 в).

Надалі, на 14-у добу дослідження спостерігається зменшення ширини кінцевих пластинок поперекових хребців (рис. 4.3 а) та поява їх двохсторонньої увігнутості (рис. 4.3 б). Заразом окремі ділянки губчастої речовини проксимальної епіфізарно-метафізарної зони стегнової кістки мають вигляд великопетлистого рисунка. Вона чітко окреслена та збільшена за площею (рис. 4.3 в) внаслідок розсмоктування окремих кісткових балок.

На 21-у добу остеопорозного процесу рентгенографічно спостерігали характерні для остеопорозу зміни кісткової тканини як осьового скелету, зокрема поперекового відділу хребта, так і певних ділянок вільних кінцівок – проксимальної епіфізарно-метафізарної зони стегнових кісток. До них належать: низька інтенсивність рентгенконтрастної тіні кістки, значне розрідження кісткової структури.

Внаслідок втрати кісткової тканини тілом хребця (рис. 4.4 а, б) виникають типові остеопоротичні зміни – підкресленість контурів кістки («рамкова» структура хребця), внаслідок потоншення кінцевих пластинок підвищена смугастість губчастої речовини хребців, зменшення чи зникнення тіней поперечно-реберних відростків.

У губчастій кістковій тканині (рис. 4.4 в) спостерігаються атрофія кісткового малюнка внаслідок редукування трабекулярних структур (витончення кісткових трабекул, інколи до їх повного зникнення), посилена рентгенщільність контурів кортикального шару кістки, його потоншення та розволокнення, а також значне розширення кістково-мозкової порожнини (суцільна рентгенонегативність по всій довжині стегнової кістки).



а

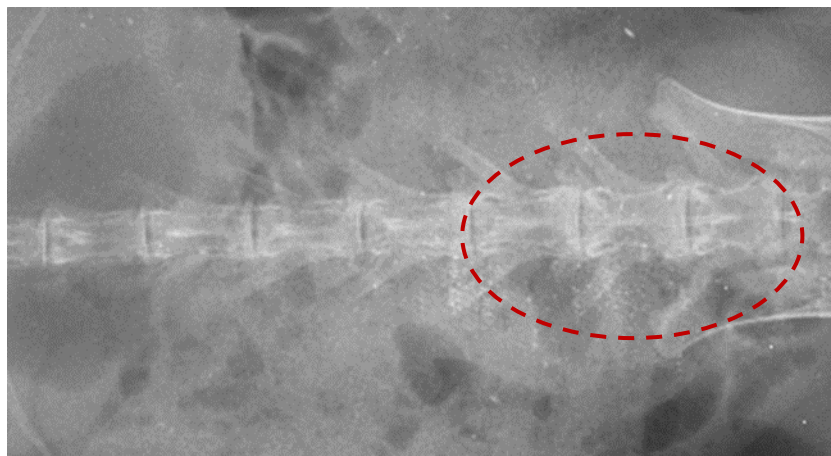


б

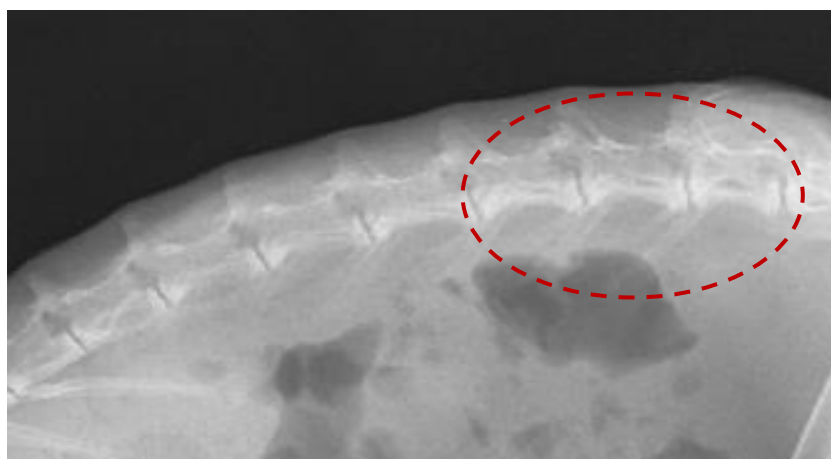


в

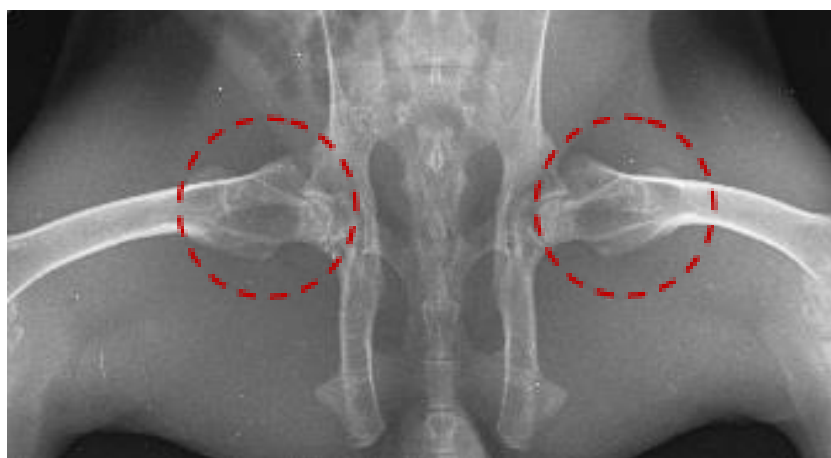
Рис. 4.2. Рентгенологічна картина скелету кроля на 7-у добу індукції остеопорозу: а – поперековий відділ хребта (вентро-дорсальна проекція); б – поперековий відділ хребта (латеральна проекція); в – проксимальна епіфізо-метафізарна ділянка стегнової кістки (вентро-дорсальна проекція)



а

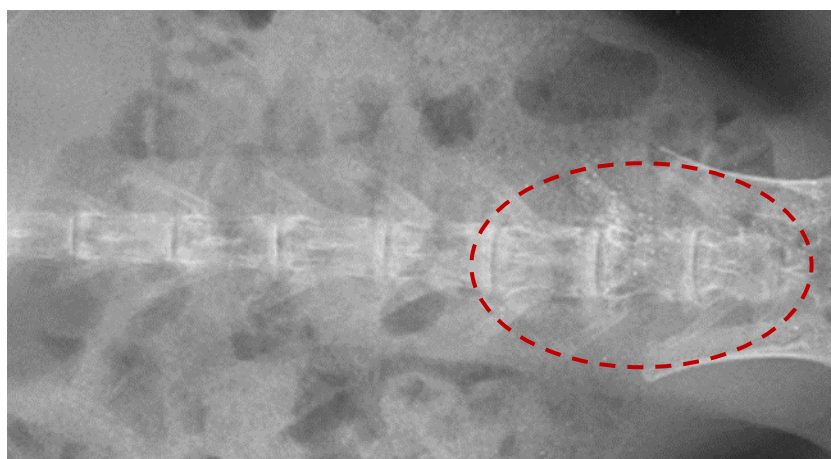


б

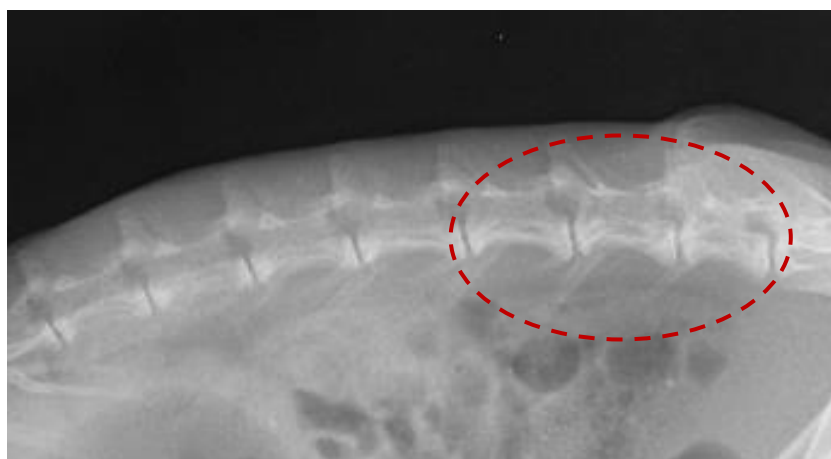


в

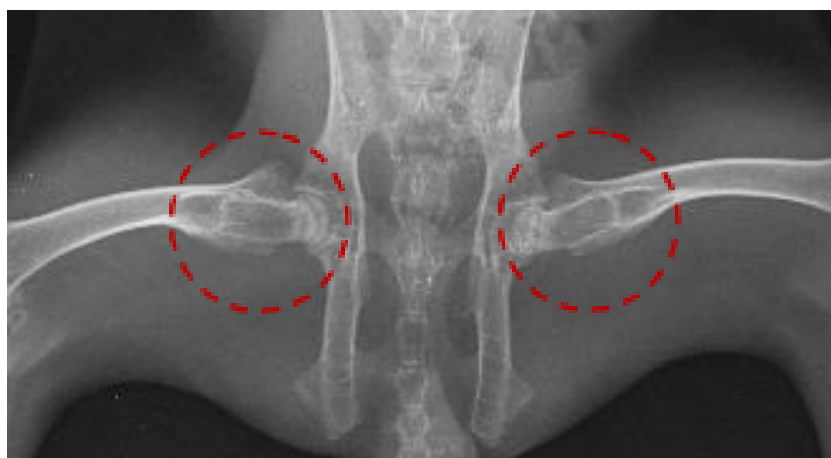
Рис. 4.3. Рентгенологічна картина скелету кроля на 14-у добу індукції остеопорозу: а – поперековий відділ хребта (вентро-дорсальна проекція); б – поперековий відділ хребта (латеральна проекція); в – проксимальна епіфізо-метафізарна ділянка стегнової кістки (вентро-дорсальна проекція)



а



б



в

Рис. 4.4. Рентгенологічна картина скелету кроля на 21-у добу індукції **остеопорозу**: а – поперековий відділ хребта (вентро-дорсальна проекція); б – поперековий відділ хребта (латеральна проекція); в – проксимальна епіфізо-метафізарна ділянка стегнової кістки (вентро-дорсальна проекція)

4.1.2. Динаміка гематологічних і біохімічних показників. За індукції остеопорозу в кролів встановлена певна динаміка гематологічних показників (табл. 4.1), що, в першу чергу, є відображенням дії на організм кортикостероїдних препаратів, зокрема і дексаметазону. Так, на її 14-у добу відбулося збільшення в 1,1 раза ($p<0,001$) кількості еритроцитів у периферичній крові тварин дослідної групи, а на 21-у добу вона виявилася більшою, порівняно з показниками клінічно здорових кролів і контрольної групи уже в 1,2 раза ($p<0,001$). Також на 14-у добу встановили збільшення кількості лейкоцитів у 1,1 раза ($p<0,001$), а на 21-у добу – в 1,2 раза ($p<0,001$). Проте, встановлені зміни як кількості еритроцитів, так і лейкоцитів, відбувалися в межах фізіологічної норми. Така динаміка цих гематологічних показників є типовим відображенням стимулюючої дії дексаметазона і глюкокортикоїдних препаратів у цілому на гемопоез через посилення синтезу в нирках еритропоєтину, що проявляється прискореним виходом еритроцитів і нейтрофілів із кістково-мозкового депо та подовженим терміном їх циркуляції в периферичній крові.

Таблиця 4.1.

Динаміка гематологічних показників за індукції остеопорозу в кролів

Термін дослідження, доба		Еритроцити, Т/л (4,5–7,5)	Лейкоцити, Г/л (6,5–9,5)	Тромбоцити, Г/л (125–250)	Гемоглобін, г/л (105–125)
Клінічно здорові, (n=27)		5,5±0,08	7,5±0,08	191±1,15	119±1,38
7	Дослід (n=18)	5,7±0,1	7,8±0,12	187±1,43	115±0,96*
	Контроль (n=9)	5,3±0,06	7,7±0,17	190±1,27	118±1,26
14	Дослід (n=18)	6,2±0,07***	8,5±0,11***	190±1,49	112±1,59**
	Контроль (n=9)	5,5±0,15	7,5±0,09	189±1,5	116±1,05
21	Дослід (n=18)	6,9±0,05***	8,6±0,15***	192±1,88	107±1,42***
	Контроль (n=9)	5,7±0,03	7,4±0,13	191±1,27	117±1,0

Примітка: значення p: * – $<0,05$; 2) ** – $<0,01$; 3) *** – $<0,001$, порівняно з контрольною групою.

Рівень у крові гемоглобіну в тварин дослідної групи також не виходив за межі фізіологічної норми. Проте, при цьому відмічалася певна закономірність до його зниження вже з 7-ї доби від початку введення дексаметазону і до 21-ої доби. Це, швидше за все, зумовлене прискореним виходом еритроцитів із незавершеним синтезом гемоглобіну із кісткового мозку під впливом дексаметазону.

Заразом суттєвих змін щодо кількості тромбоцитів у периферичній крові кролів протягом індукції остеопорозу не встановлено.

Серед низки біохімічних показників найбільш суттєвою виявилася динаміка вмісту в сироватці крові кальцію та фосфору і активності фосфатаз. Зокрема, вміст загального кальцію (Ca) у дослідній групі кролів, на відміну від контрольної, протягом дослідження зазнав суттєвих змін (табл. 4.2). Починаючи з 14-ї доби фіксували його зниження в 1,4 раза ($p < 0,001$) відносно показників клінічно здорових і контрольних тварин, а на 21-у добу індукції остеопорозу він виявився меншим уже вдвічі ($p < 0,001$).

Суттєве підвищення вмісту в сироватці крові P в дослідній групі, порівняно з нормою та тваринами контрольної групи, встановлене на 14-у добу в 1,5 раза ($p < 0,001$) та на 21-у – в 1,8 раза ($p < 0,001$). Показники контрольних тварин відносно клінічно здорових кролів протягом усього терміну досліджень суттєво не змінювалися.

Особливо показовою виявилася динаміка Ca:P співвідношення в сироватці крові кролів. Уже на 7-у добу остеопорозного процесу цей показник був дещо нижчим, порівняно з нормою та контрольними кролями (1,75:1), а в подальшому відмічали його різке достовірне зниження на 14-у добу (0,89:1) в 2,1 раза та на 21-у добу (0,5:1) в 3,6 раза, що свідчить про надзвичайно інтенсивну демінералізацію кісткової тканини. У контрольній групі Ca:P індекс не зазнав достовірних змін.

Таблиця 4.2

Динаміка біохімічних показників крові за індукції остеопорозу у кролів

Термін дослідження, доба		Са, ммоль/л	Р, ммоль/л	Са:Р	ЗЛФ, од./л	КіЛФ, од./л	ТрКФ, од./л	КіЛФ: ТрКФ	НО, мкмоль/л
Клінічно здорові, (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	28,93±0,32
7	Дослід (n=18)	<u>2,56±0,05</u>	<u>1,54±0,07</u>	<u>1,75±0,1</u>	<u>63,51±0,29</u>	<u>40,38±0,36</u>	<u>29,42±0,57</u>	<u>1,37±0,03</u>	<u>28,7±0,24</u>
	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	28,79±0,31
14	Дослід (n=18)	<u>1,87±0,05***</u>	<u>2,12±0,07***</u>	<u>0,89±0,03***</u>	<u>65,47±0,49***</u>	<u>42,0±0,29***</u>	<u>30,7±0,36***</u>	<u>1,37±0,02</u>	<u>27,48±0,28</u>
	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	28,97±0,27
21	Дослід (n=18)	<u>1,25±0,04***</u>	<u>2,52±0,05***</u>	<u>0,5±0,02***</u>	<u>70,21±0,42***</u>	<u>43,12±0,29***</u>	<u>33,73±0,35***</u>	<u>1,28±0,02***</u>	<u>26,55±0,42***</u>
	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	28,89±0,37

Примітки: 1) значення р: * – <0,05; ** – <0,01; *** – <0,001, порівняно з контрольною групою; 2) дослід – кролі з кортикоїд-індукованим остеопорозом; 3) контроль – введення фізрозчину.

Заразом у дослідній групі відбулося достовірне підвищення активності сироваткових фосфатаз у період 14-ої та 21-ої діб остеопорозного процесу. Так, порівняно з показниками клінічно здорових і контрольних тварин активність ЗЛФ виявилася більшою в 1,1 раза ($p<0,001$), КіЛФ – в 1,1 раза ($p<0,001$), а ТрКФ – 1,1 ($p<0,001$) та 1,2 ($p<0,001$) раза, відповідно. Достовірної різниці у зміні їх показників у контрольній групі протягом дослідження не спостерігали.

За визначення індексного показника активності кісткового ізоферменту лужної фосфатази щодо тартрат-резистентної кислої фосфатази можна визначити співвідношення процесів остеогенезу та резорбції кісткової тканини. У клінічно здорових тварин це співвідношення становить 1,4:1. Проте, у дослідних тварин на 21-у добу дослідження воно зменшується в 1,1 раза ($p<0,001$) і становить 1,28:1, що свідчить про надмірну резорбцію кісткової тканини, тобто остеопенію.

Також на 21-у добу в тварин дослідної групи достовірно знижується в 1,1 раза ($p<0,001$) показник рівня в сироватці крові оксиду азоту, що свідчить про зменшення функції ендотеліоцитів під впливом дексаметазону. Натомість показники рівня NO у контрольній групі лишалися на рівні клінічно здорових тварин.

За індукції остеопорозу відбувалися певні зміни, хоча і в межах фізіологічної норми (54–80 г/л), рівня загального білку та його глобулінової фракції (табл. 4.3). Так, на 21-у добу вміст загального білку в дослідній групі складав $69,83\pm0,38$ г/л, що було достовірно більшим, ніж у контрольній – $67,51\pm0,61$ г/л. При цьому вміст глобулінів виявився в 1,1 раза ($p<0,01$) більшим на 14-у та 21-у добу, порівняно з тваринами контрольної групи.

За рештою біохімічних показників (альбумін, велико- та дрібно молекулярні циркулюючі імунні комплекси, церулоплазмін, протеїн С) за індукції остеопорозу в кролів достовірної різниці порівняно із клінічно здоровими тваринами не встановлено.

Таблиця 4.3

Динаміка біохімічних показників крові за індукції остеопорозу у кролів

Термін дослідження, доба		Загальний білок, г/л	Альбумін, г/л	Глобуліни, г/л	А:Г	Церулоплазмін	ЦіК		Протеїн С
							дрібно-молекулярні	велико-молекулярні	
Клінічно здорові, (n=27)		67,6±0,37	38,15±0,31	29,45±0,27	1,27±0,15	313,38±6,82	3,17±0,14	5,73±0,48	2,07±0,16
7	Дослід (n=18)	<u>68,0±0,27</u>	<u>38,05±0,45</u>	<u>29,93±0,34</u>	<u>1,25±0,2</u>	<u>312,76±3,97</u>	<u>3,21±0,22</u>	<u>5,67±0,36</u>	<u>2,01±0,09</u>
	Контроль (n=9)	67,48±0,41	38,3±0,27	29,17±0,22	1,31±0,17	314,66±5,45	3,19±0,11	5,7±0,24	2,12±0,14
14	Дослід (n=18)	<u>68,68±0,64</u>	<u>37,41±0,4</u>	<u>31,27±0,41**</u>	<u>1,19±0,07</u>	<u>315,85±4,17</u>	<u>3,19±0,15</u>	<u>5,61±0,22</u>	<u>2,1±0,21</u>
	Контроль (n=9)	67,91±0,47	38,27±0,16	29,63±0,37	1,29±0,18	314,12±7,24	3,19±0,35	5,77±0,38	2,09±0,07
21	Дослід (n=18)	<u>69,83±0,38**</u>	<u>36,78±0,61</u>	<u>33,03±0,28***</u>	<u>1,12±0,09</u>	<u>314,81±5,26</u>	<u>3,18±0,31</u>	<u>5,67±0,39</u>	<u>2,08±0,03</u>
	Контроль (n=9)	67,51±0,61	38,19±0,38	29,32±0,16	1,27±0,18	314,34±4,83	3,17±0,24	5,71±0,11	2,11±0,12

Примітки. 1) значення p: * – <0,05; ** – <0,01; *** – <0,001, порівняно з контрольною групою; 2) дослід – кролі з кортикоїд-індукованим остеопорозом; 3) контроль – введення фізрозчину.

Таким чином, 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. У першу чергу це гіпокальціємія і гіперфосфатемія 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 їх співвідношення, що свідчить про повну перевагу процесів остеорезорбції.

Отже, за аналізу представлених результатів рентгенологічних та біохімічних досліджень крові встановлено, що кортикостероїдна модель остеопорозу в кролів повністю патогенетично відповідає його вторинному типу і може бути використана у дослідженнях з проблеми дисрегенеративної кісткової тканини та її остеозаміщення.

4.2. Остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою за кісткових дефектів у кролів з остеопорозом

Як відомо, остеопороз зумовлює патологічні низькоенергетичні переломи та може порушувати репаративний остеогенез у випадках високоенергетичних переломів, зумовлених травмою, у першу чергу, з причин зменшення кісткової маси в зоні кісткової травми та високого ризику нестабільності фіксаторів для остеосинтезу. При цьому формування кісткового регенерату затримується на стадії ретикулофіброзної та грубоволокнистої кісткової тканини.

За результатами індукції остеопорозу в кролів, представленими вище, остеопорозний процес не тільки зумовлює втрату кісткової маси і мінерального компонента, порушує трабекулярну архітектоніку і відповідно біомеханічні та остеокондуктивні властивості кістки, а й супроводжується зниженням ендотеліальної функції та остеобластично-остеокластичним

дисбалансом, що суттєво зменшує репаративний потенціал у ділянці кісткової травми і кісткової системи в цілому.

В зв'язку з цим визначення можливого впливу остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, на відновлення репаративного потенціалу в умовах остеопорозу може мати суттєве клінічне значення.

4.2.1. Клініко-рентгенологічна та макроморфологічна оцінка. Як було зазначено вище (див. Розділ 2.1), у кролів з індукованим остеопорозом формували кісткові дефекти у променевій і стегновій кістках (рис. 4.5), які в тварин дослідної групи (n=9) заміщували гранулами легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки, а у кролів контрольної групи (n=9) вони загоювалися під кров'яним згустком.

Наступної доби після відтворення модельного перелому порушень функції травмованої кінцівки не відмічали. В ділянці травми виявляли помірні набряк, гіперемію та підвищення місцевої температури. З країв рани виділявся у незначній кількості серозний ексудат, що підсихав, утворюючи кірочки. На 3-ю добу ексудація припинялася, підвищення місцевої температури не відмічали. На 7-у добу післяопераційного періоду набряк та болючість тканин у ділянці травми були відсутні. Відмічали з'єднання країв рани щільною сполучнотканинною спайкою, часткове відшарування струпа та процеси епітелізації, що свідчило про загоєння рани та було підставою для зняття швів.

Поряд з цим пальпаторно, починаючи з 14-ї доби репаративного остеогенезу, в тварин обох груп як у ділянках діяфізів променевих кісток, так і дистальних епіфізів стегнових кісток, виявляли не болюче ущільнення періосту, яке у дослідній групі повністю зникало до 30-ї доби. Проте, у тварин контрольної групи ущільнення було дещо більше за розміром та залишалося до завершення терміну спостережень.

Променева
(компактна) кістка



а

Стегнова
(губчаста) кістка



б



в



г

Рис. 4.5. Рентгенограми кісток кролів після формування дефекту:

а – діяфіз променевої кістки; б – дистальна епіфізо-метафізарна ділянка стегнової кістки

За результатами рентгенологічного дослідження на 14-у добу репаративного остеогенезу в дослідних тварин (рис. 4.6 а, б) 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 ендосту.

На рентгенограмах контрольних тварин (рис. 4.6 в, г) чітко візуалізувалося місце дефекту та відмічали ущільнення періосту, яке значно поширюється проксимально та дистально від нього. Щодо діяфізу променевої кістки, то хмароподібна тінь поширювалася майже по всій його поверхні, що свідчить про інтенсивну запальну реакцію з утворенням масивного хрящово-кісткового мозоля. Реакція ендосту в контрольних тварин виявилася незначною.

На 30-у добу на рентгенограмах дослідних тварин (рис. 4.7 а, б) візуалізувалися незначні залишки періостальної реакції, місце дефекту характеризувалося підвищеною рентгенологічною щільністю остеосклеротичного характеру (обмежені ділянки просвітлення). Гранули композитного матеріалу втратили свою структурованість і щільність, що свідчить про початок його резорбції.

У контрольних тварин (рис. 4.7 в, г) 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 (плямистий остеопороз).

Променева
(компактна) кістка



а

Стегнова
(губчаста) кістка



б



в



г

Рис. 4.6. Рентгенограми кісток кролів з остеопорозом на 14-у добу репаративного остеогенезу: а, б – дослідна група (ГТлГег-700); в, г – контрольна (загоєння під кров'яним згустком)

Променева
(компактна) кістка



а

Стегнова
(губчаста) кістка



9

б



в



9

г

Рис. 4.7. Рентгенограми кісток кролів з остеопорозом на 30-у добу репаративного остеогенезу: а, б – дослідна група (ГТлГеГ-700); в, г – контрольна (загоєння під кров'яним згустком)

На 60-у добу в тварин дослідної групи (рис. 4.8 а, б) місце дефекту мало підвищену рентгенологічну щільність з незначними залишками композитного матеріалу, а реакція періосту була відсутня. Дистальний метафіз стегнової кістки набув шороховатого вигляду з чітко окресленими невеликими ділянками рентгенонегативності, що може бути ознакою ремоделювання ділянки травми.

Натомість, на рентген-знімках контрольних тварин (рис. 4.8 в, г) ділянки кісткового дефекту мали низьку рентгенологічну щільність, візуалізувався надмірний об'єм кісткового регенерату, поза межами якого мали місце великі ділянки рентгенонегативності, потужна періостальна реакція ще більше поширювалася як на променеву, так і, особливо, на ліктьову кістки.

За бальної напівкількісної оцінки рентгенограм встановлено (табл. 4.4), що в тварин дослідної групи за імплантації гранул кераміки, легованої германієм, репаративний остеогенез перебігає з прискореною у 2,7 рази ($p < 0,001$) динамікою рентгенографічних критеріїв консолідації кісткових дефектів. При цьому його запальний компонент обмежується ділянкою кісткової травми та має місце відновлення рентгенощільності кісткової тканини поза її межами.

Таблиця 4.4

**Рентгенографічна напівкількісна оцінка репаративного остеогенезу
в кролів з остеопорозом**

№ п/п	Рентгенографічні критерії	Кількість балів	
		ГТлGeg-700	під кров'яним згустком
1.	<i>ступінь рентгенографічної щільності</i>	2,78±0,15***	1,11±0,11
2.	<i>ступінь поширення періостальної реакції</i>	2,89±0,11***	1,22±0,15
3.	<i>реакція ендоосту</i>	2,67±0,17***	0,78±0,15
Загальна оцінка		2,78±0,06***	1,03±0,13

Примітка: *** – $p < 0,001$, порівняно з показниками контрольної групи.

**Променева
(компактна) кістка**



а

**Стегнова
(губчаста) кістка**



б



в



9

г

Рис. 4.8. Рентгенограми кісток кролів з остеопорозом на 60-у добу репаративного остеогенезу: а, б – дослідна група (ГТлGег-700); в, г – контрольна (загоєння під кров'яним згустком)

За макроморфологічного дослідження фрагментів променевих та стегнових кісток на 14-у добу репаративного остеогенезу в тварин дослідної групи у 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. 4.9).

На 30-у добу репаративного остеогенезу макрокартина кісткових фрагментів дослідних тварин була наступною: кістковий дефект повністю заповнений новоутвореною тканиною, яка не підвищувалася над площиною 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, особливо у випадку регенерата губчастої кістки (рис. 4.10).

На 60-у добу репаративного остеогенезу в дослідних тварин відмічали сформовану кісткову тканину із поодинокими залишками гранул композитного матеріалу, що були міцно з'єднані з оточуючою кістковою тканиною. Ознак періостальних нашарувань не спостерігали. Водночас у контрольних зразках у цей період 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. 4.11).

**Променева
(компактна) кістка**



а

**Стегнова
(губчаста) кістка**



б



в



г

Рис. 4.9. Макроморфологічна оцінка фрагментів кісток кролів з остеопорозом на 14-у репаративного остеогенезу:

а, б – дослідна група (ГТлГег-700);

в, г – контрольна (загоєння під кров'яним згустком)

**Променева
(компактна) кістка**



а

**Стегнова
(губчаста) кістка**



б



в



г

Рис. 4.10. Макроморфологічна оцінка фрагментів кісток кролів з остеопорозом на 30-у репаративного остеогенезу:

а, б – дослідна група (ГТлГеГ-700);

в, г – контрольна (загоєння під кров'яним згустком)

**Променева
(компактна) кістка**

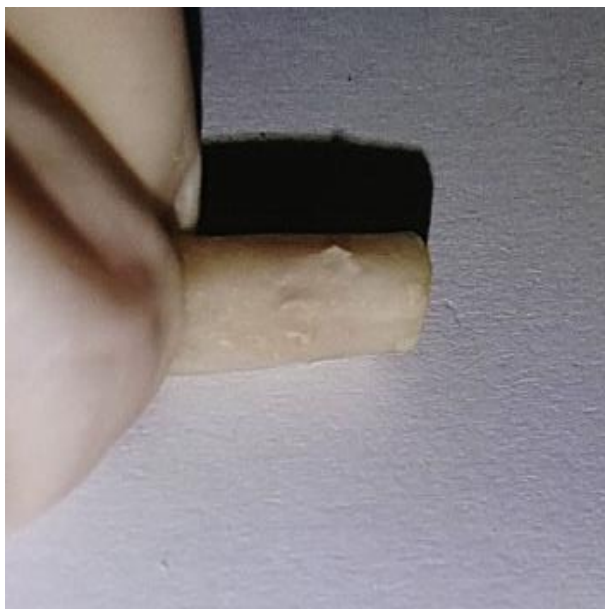


а

**Стегнова
(губчаста) кістка**



б



в



г

Рис. 4.11. Макроморфологічна оцінка фрагментів кісток кролів з остеопорозом на 60-у репаративного остеогенезу:

а, б – дослідна група (ГТлГеГ-700);

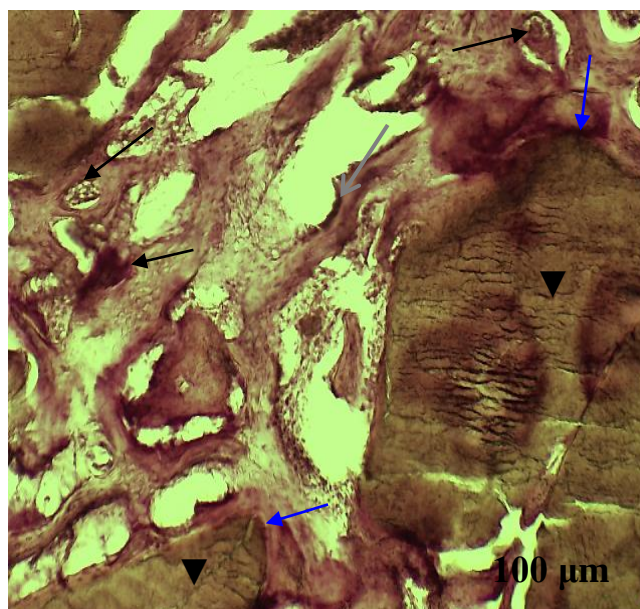
в, г – контрольна (загоєння під кров'яним згустком)

Отже, за макроморфологічними ознаками, навіть в умовах остеопорозного процесу, остеозаміщення кісткових дефектів легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою забезпечує оптимізований репаративний остеогенез із регульованою біодеградацією композитного матеріалу.

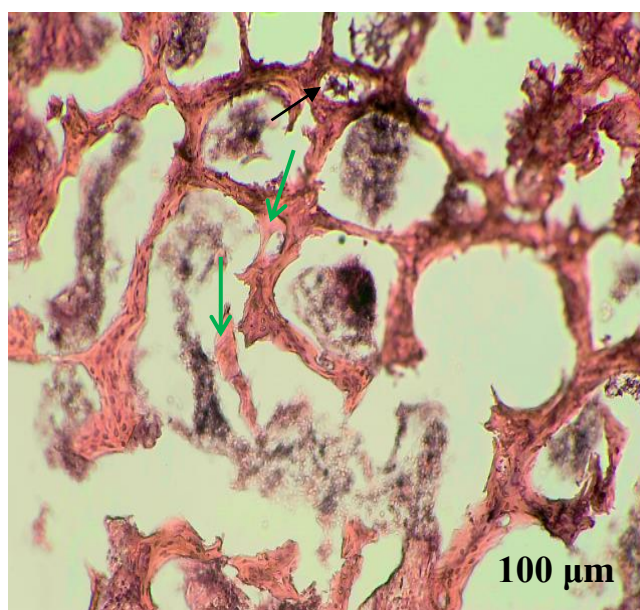
4.2.2. Динаміка гістологічної картини кісткових регенератів.

Компактна кісткова тканина. На 14-у добу після заміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою кісткових дефектів їх регенерати містили тонкі, хаотично сформовані балки грубоволокнистої кісткової тканини. Заразом чітко візуалізувалася досить велика кількість капілярів та судинних каналів. Новоутворені кісткові трабекули, що прилягали до гранул кераміки, містили значну кількість клітин остеобластичного ряду. Поряд з цим у регенераті мали місце безклітинні ділянки кісткової тканини, характерні для остеопоротичних змін (рис. 4.12, а).

У контрольній групі тварин, модельні дефекти яких загоювалися під кров'яним згустком, у місці кісткової травми відмічали наявність незрілих остеїдних балок, а також незначні ділянки щільної волокнистої сполучної тканини із запальною інфільтрацією, характерною на цьому етапі репаративного остеогенезу, та невеликі зони проліферації фібробластів в окремих ділянках регенерату. Також була наявна значна кількість безклітинних ділянок, що характеризують остеопоротичні процеси у кістковій тканині. На відміну від дослідної групи, в контрольній відмічали лише поодинокі формування кровоносних капілярів (рис. 4. 12, б).



а



б

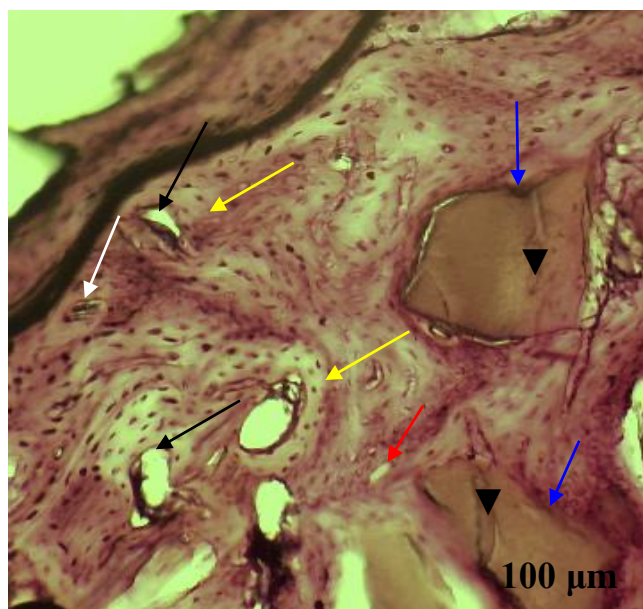
Рис. 4.12. Гістологічна картина кісткового регенерату променевої кістки на 14-у добу репаративного остеогенезу у кролів (а – дослідна (ГТлGe-700); б – контрольна (ГТг-700) групи): ▼ – гранула легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки; судинні канали (*чорна стрілка*); щільний контакт гранул із кістковим регенератом (*синя стрілка*); безклітинні ділянки (*зелена стрілка*); ядра остеобластів (*сіра стрілка*). Забарвлення гематоксилін-еозин. Зб. $\times 100$.

На 30-у добу після остеозаміщення кісткових дефектів у гістозрізах регенератів виявляли гранули кальцій-фосфатної кераміки, оточені дещо масивнішими, на відміну від контрольної групи, пластинчастими балками, на поверхні яких були сформовані ряди остеобластів та досить суттєва кількість клітин в остеоцитарних лакунах. Канали остеонів були дещо розширені (рис. 4.13, а).

У контрольній групі у цей термін дослідження кістковий дефект частково був виповненим грубоволокнистою кістковою тканиною, але також візуалізувалися балки губчастого типу з незначною кількістю остегенних клітин. Кількість остеоцитів була не великою, місцями вони розташовувалися нерівномірно у площині кісткового регенерату. Заразом у гістозрізах спостерігалися безклітинні лакуни резорбції кісткової тканини та розширені канали остеона (рис. 4.13, б).

На 60-у добу репаративного остеогенезу в тварин дослідної групи місце кісткового дефекту було виповнене компактною кістковою тканиною з незначними залишками губчастої кісткової тканини, переважно в ділянці інтегрованої гранули кераміки, яка перебувала у стані біорезорбції. Ще були дещо розширені гаверсові канали, але порожніх остеоцитарних лакун та ділянок остеорезорбції не відмічали (рис. 4.14, а).

У контрольній групі на 60-у добу дослідження ділянка дефекту була виповнена грубоволокнистою і губчастою кістковою тканиною. Також візуалізувалися кісткові балки різної товщини з невеликою кількістю остеобластів та поодиноких замуrowаних остеоцитів. Значна кількість остеоцитарних лакун була порожньою через процес лізису остеоцитів. Гаверсові канали значно розширені з невеликою кількістю судин, що характерно для демінералізації кісткової тканини. Також на гістологічних препаратах спостерігали лакуни резорбції кісткової тканини та безклітинні ділянки (4.14, б).

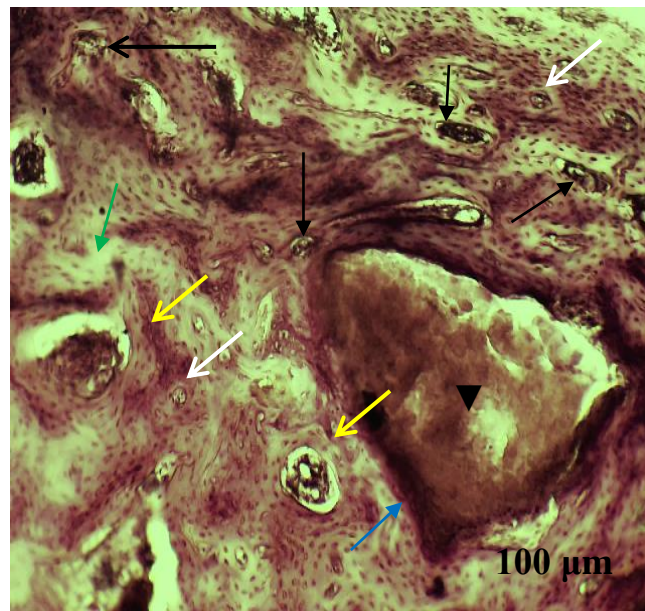


а

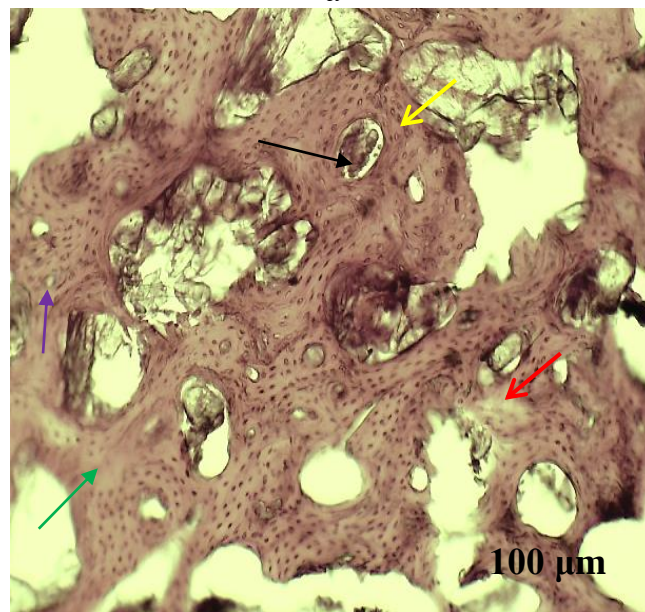


б

Рис. 4.13. Гістологічна картина кісткового регенерату променевої кістки на 30-у добу репаративного остеогенезу у кролів (а – дослідна (ГТлGeg-700); б – контрольна (ГТг-700) групи): ▼ – гранула легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки; судинні канали (*чорна стрілка*); щільний контакт гранул із кістковим регенератом (*синя стрілка*); безклітинні ділянки кісткової тканини (*зелена стрілка*); остеони на стадії формування (*жовта стрілка*); сформовані остеони (*біла стрілка*); лакуна резорбції (*червона стрілка*); безклітинні лакуни (*фіолетова стрілка*). Зabarвлення гематоксилін-еозин. Зб. $\times 100$.



а



б

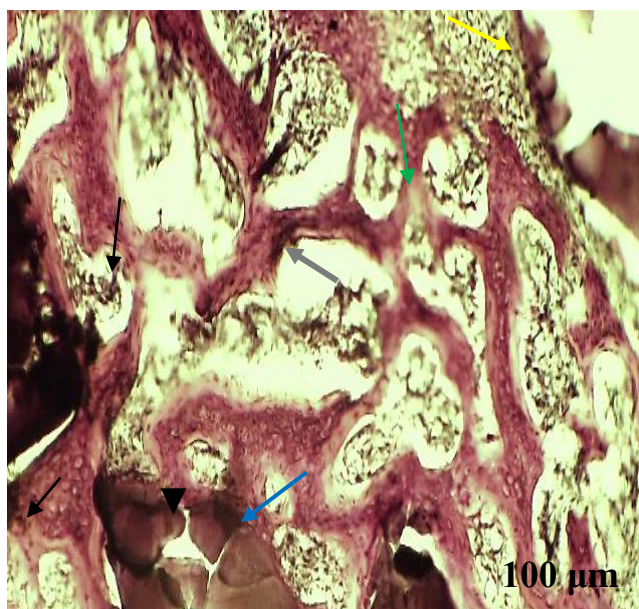
Рис. 4.14. Гістологічна картина кісткового регенерату променевої кістки на 60-у добу репаративного остеогенезу у кролів (а – дослідна (ГТлGeг-700); б – контрольна (ГТг-700) групи): ▼ – гранула легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки; судинні канали (*чорна стрілка*); щільний контакт гранул із кістковим регенератом (*синя стрілка*); безклітинні ділянки кісткової тканини (*зелена стрілка*); остеони на стадії формування (*жовта стрілка*); сформовані остеони (*біла стрілка*); безклітинні лакуни (*фіолетова стрілка*); лакуна резорбції (*червона стрілка*). Забарвлення гематоксилін-еозин. Зб. $\times 100$.

Губчаста кісткова тканина. На 14-у добу після остеозаміщення дефектів метафізу стегнової кістки керамічним матеріалом формувалися тонкі кісткові балки, дещо міцніші в ділянці інтеграції гранул кераміки. Сформовані кісткові трабекули мали достатню кількість судинних каналців. У міжтрабекулярних просторах візуалізувалася незначна кількість жирових клітин та структурні елементи кісткового мозку (рис. 4.15, а).

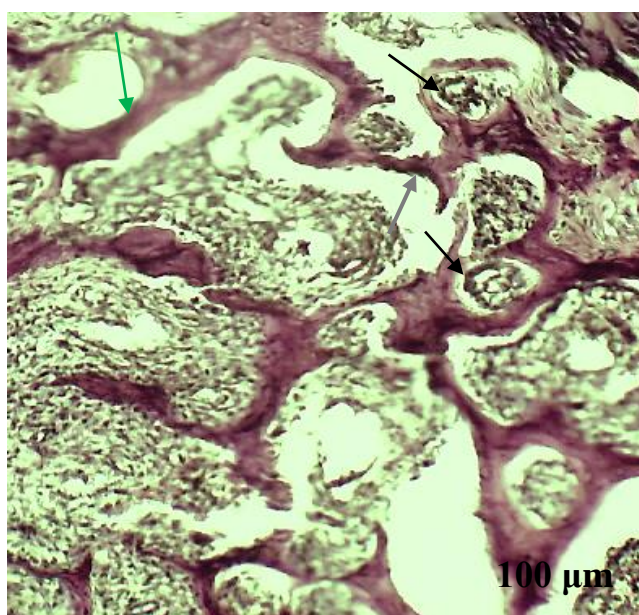
У цей же термін дослідження зразки контрольної групи характеризувалися наявністю регенерату волокнистої структури та досить тонкими трабекулами з поодинокими судинними каналцями. Міжтрабекулярні простори були значно розширені. Також спостерігали витончені та у меншій кількості кісткові балки, порівняно з дослідними зразками. В окремих ділянках були зруйновані з'єднання кісткових балок, які мали вигляд округло-овальних структур, що є ознакою остеорезорбції характерної для остеопорозу (рис. 4.15, б).

Гістозразки регенератів дослідної групи на 30-у добу репаративного остеогенезу характеризувалися наявністю кісткових балок середньої товщини, які щільно прилягали до гранул легованої кальцій-фосфатної кераміки, із значною кількістю судинних каналів, які мали чітко сформовані стінки (рис. 4.16, а).

Натомість у контрольних зразках у цей період спостерігали поодинокі судинні канали та значні осередки формування грубоволокнистої кісткової тканини. Кісткові балки були тоншими, порівняно зі зразками дослідної групи, з меншою їх кількістю та дещо розпушеним розташуванням. Міжтрабекулярні простори залишалися значно розширеними (рис. 4.16, б).

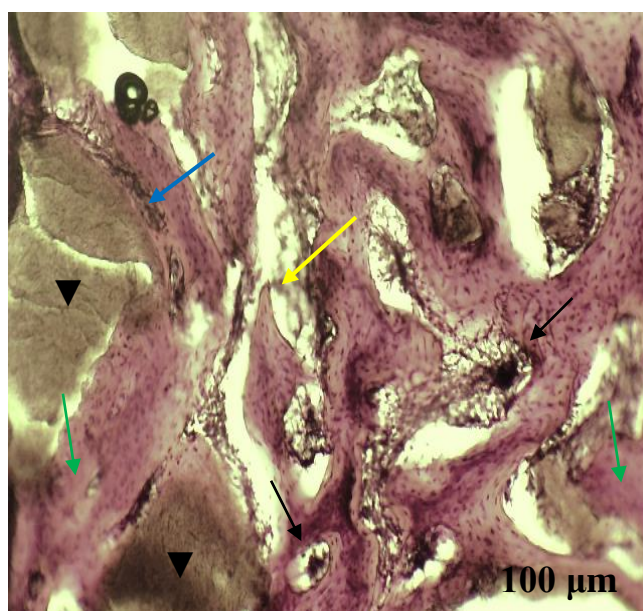


а

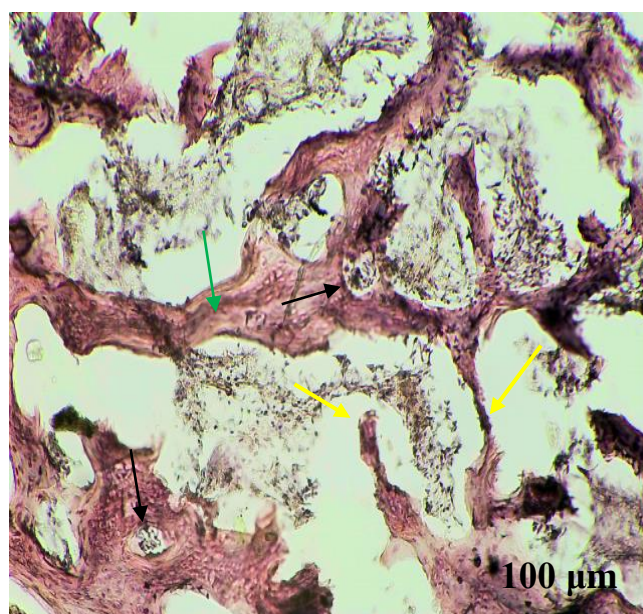


б

Рис. 4.15. Гістологічна картина кісткового регенерату стегнової кістки на 14-у добу репаративного остеогенезу у кролів (а – дослідна (ГТлGeg-700); б – контрольна (ГТг-700) групи): ▼ – гранула легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки; судинні канали (*чорна стрілка*); щільний контакт гранул із кістковим регенератом (*синя стрілка*); ядра остеобластів (*сіра стрілка*) безклітинні ділянки кісткової тканини (*зелена стрілка*). Забарвлення гематоксилін-еозин. Зб. $\times 100$.



а



б

Рис. 4.16. Гістологічна картина кісткового регенерату стегнової кістки на 30-у добу репаративного остеогенезу у кролів (а – дослідна (ГТлGeg-700); б – контрольна (ГТГ-700) групи): ▼ – гранула легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки; витончення і мікропереломи трабекул (жовта стрілка); судинні канали (чорна стрілка); щільний контакт гранул із кістковим регенератом (синя стрілка); безклітинні ділянки кісткової тканини (зелена стрілка). Забарвлення гематоксилін-еозин. Зб. $\times 100$.

У гістозразках дослідної групи на 60-у добу репаративного остеогенезу відмічали губчасту кісткову тканину в формі балок, суттєво потовщених, які щільно прилягали до залишків біодеградованих гранул кальцій-фосфатної кераміки. Ділянок остеорезорбції не спостерігали (рис. 4.17, а).

На 60-у добу дослідження у зрізах регенератів контрольної групи спостерігали генералізоване витончення трабекул зі зменшенням їх кількості, яке супроводжувалося збільшенням розмірів міжтрабекулярних проміжків, що свідчило про дефіцит губчастої кісткової тканини. Тобто це відображало втрату цілісних трабекулярних елементів, унаслідок чого зменшувався зв'язок між структурними елементами кісткової тканини, що зумовлюється крихкість та ламкість кісток (рис. 4.17, б).

Таким чином, за гістологічної оцінки кісткових регенератів в умовах глюкокортикоїд-індукованого остеопорозу, остеозаміщення кісткових дефектів легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою зумовлює більш ранню остеобластичну реакцію та інтенсивний неоангіогенез.

4.2.3. Динаміка гематологічних та біохімічних показників

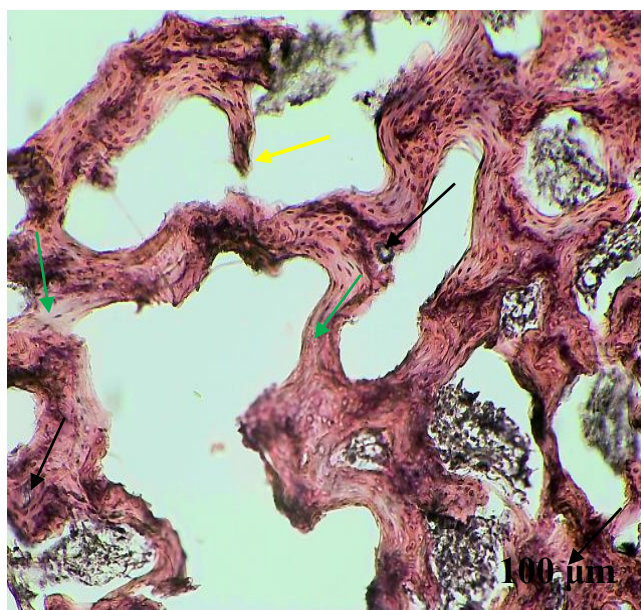
Як було зазначено вище (див. Розділ 4.1.2.), у кролів з кортикостероїд-індукованим остеопорозом на його 21-у добу виникають фізіологічний еритроцитоз і лейкоцитоз, які однак не виходять за верхню межу фізіологічної норми (табл. 4.5).

Заразом на 7-у добу репаративного остеогенезу за модельних переломів у кролів з остеопорозом спостерігали деяку тенденцію в бік зменшення кількості еритроцитів в обох групах (рис. 4.18) з дещо достовірно більшим їх умістом у контрольній групі на 30-у і 60-у добу. Проте їх число в усі терміни дослідження коливалося в межах 5,9–6,6 Т/л, тобто у фізіологічних (4,5–7,5 Т/л).

Водночас лейкоцитарна реакція виявилася більш динамічною. Поступове збільшення у периферичній крові кількості лейкоцитів в обох групах відмічали починаючи з 7-ї доби репаративного остеогенезу (рис. 4.19).



а



б

Рис. 4.17. Гістологічна картина кісткового регенерату стегнової кістки на 60-у добу репаративного остеогенезу у кролів (а – дослідна (ГТлGeg-700); б – контрольна (ГТг-700) групи): ▼ – гранула легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки; витончення і мікропереломи трабекул (*жовта стрілка*); судинні канали (*тонка стрілка*); щільний контакт гранул із кістковим регенератом (*синя стрілка*); безклітинні ділянки кісткової тканини (*зелена стрілка*). Забарвлення гематоксилін-еозин. 3б. ×100.

Таблиця 4.5

**Динаміка гематологічних показників за остеозаміщення
легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою
у кролів з остеопорозом**

Термін дослідження, доба		Еритроцити, Т/л (4,5–7,5)	Лейкоцити, Г/л (6,5–9,5)	Тромбоцити, Г/л (125–250)	Гемоглобін, г/л (105–125)
Клінічно здорові кролі (n=27)		5,5±0,08	7,5±0,08	191±1,15	119±1,38
до операції, (n=18)		6,9±0,05***	8,6 ±0,15***	192±1,88	107±1,42***
7	дослід, n=9	<u>6,3±0,11***</u>	<u>9,0±0,13***</u>	<u>209±2,32***</u>	<u>101±1,35***</u>
	контроль, n=9	6,5±0,08***	8,8 ± 0,07**	198±1,93**	91±1,86***
14	дослід, n=9	<u>6,6±0,08***</u>	<u>10,2±0,21***</u>	<u>250±5,1***</u>	<u>110±1,1***</u>
	контроль, n=9	6,5±0,15***	8,8±0,15**	226±1,39***	94±1,48***
30	дослід, n=6	<u>6,1±0,13***</u>	<u>8,9±0,17***</u>	<u>220±2,67***</u>	<u>114±1,65***</u>
	контроль, n=6	6,6±0,1***	8,9±0,21**	200±5,65	103±2,44**
60	дослід, n=3	<u>5,9±0,06***</u>	<u>7,9±0,12***</u>	<u>187±4,09</u>	<u>117±1,04***</u>
	контроль, n=3	6,4±0,03***	8,1±0,12***	185±2,0*	110±0,58***

Примітки. 1) значення p: * – <0,05; ** – <0,01; *** – <0,001, порівняно з контрольною групою;
 2) p: • – <0,05; ** – <0,01; *** – <0,001, порівняно з дооперативними показниками;
 3) значення p: ♦ – <0,05; ♦♦ – <0,01; ♦♦♦ p<0,001 – відносно клінічно здорових тварин.

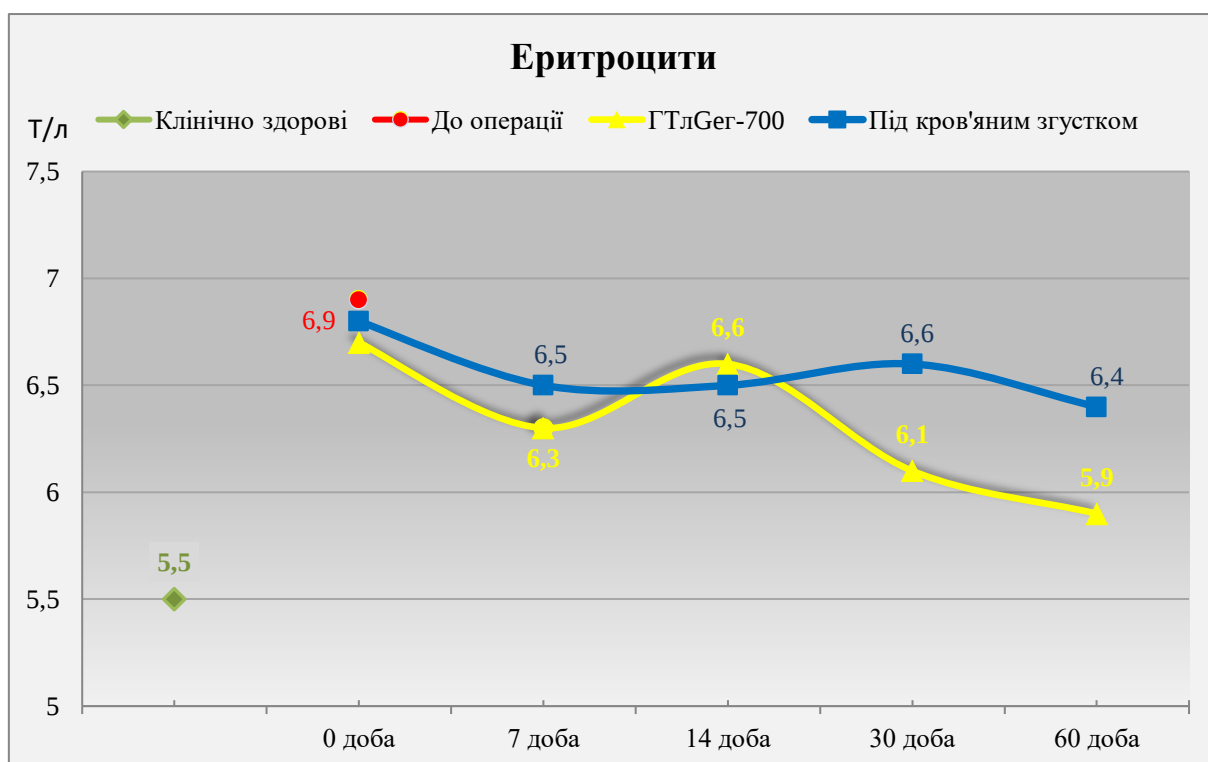


Рис. 4.18. Динаміка кількості еритроцитів у крові за репаративного остеогенезу в кролів з остеопорозом

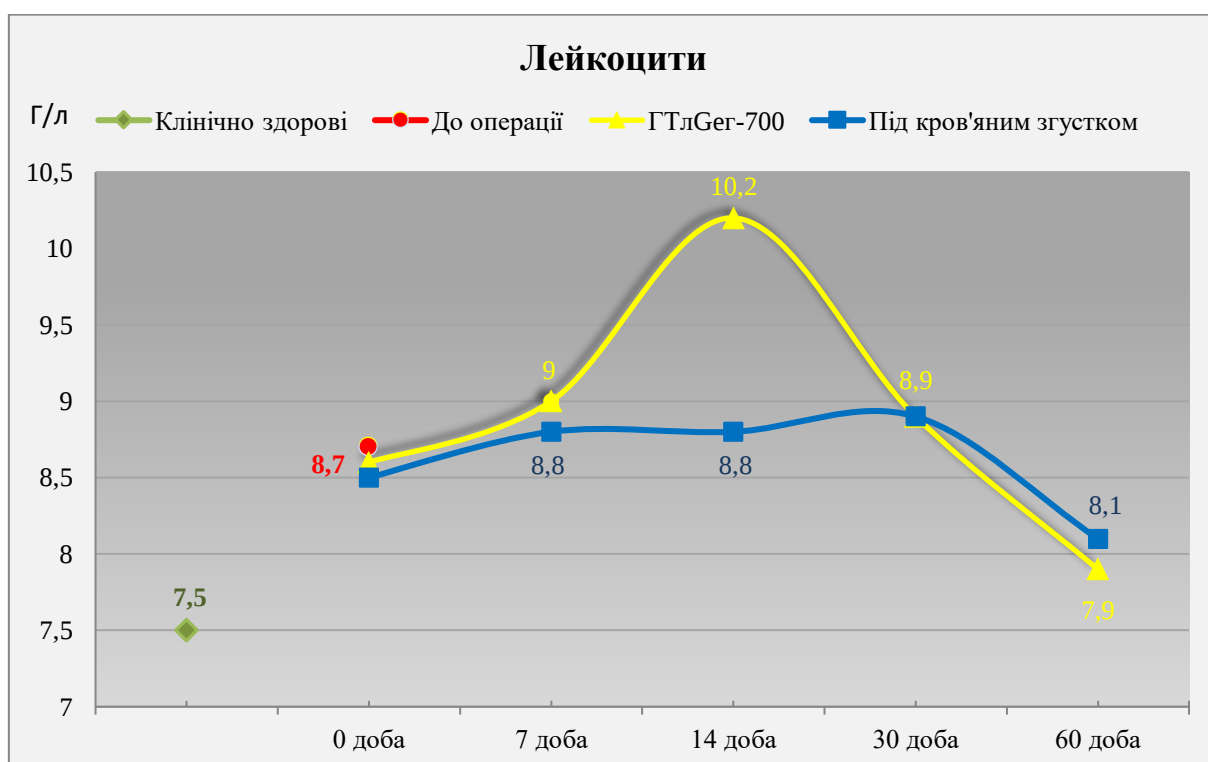


Рис. 4.19. Динаміка кількості лейкоцитів у крові за репаративного остеогенезу в кролів з остеопорозом

Її пік у тварин дослідної групи встановили на 14-у добу – $10,2 \pm 0,21$ Г/л, що у 1,2 раза було більше, ніж у контрольній групі. Поряд з цим максимальний рівень лейкоцитів у контрольній групі не перевищував до 30-ї доби $8,9 \pm 0,21$ Г/л. Тобто остеозаміщення ГТлГег-700 у кролів з остеопорозом супроводжується більш вираженою лейкоцитарною реакцією, ніж у контрольній групі, що засвідчує більш інтенсивний перебіг запально-резорбтивної фази репаративного остеогенезу.

Динаміка кількості тромбоцитів у периферичній крові кролів за репаративного остеогенезу відбувалися у межах показників клінічно здорових тварин – 125–250 Г/л, хоча з достовірною різницею між групами до 30-ї доби. Так, з 7-ї до 30-ї доби в дослідній групі рівень тромбоцитів був вищим в 1,1 раза ($p < 0,01$ – $0,001$), порівняно з контрольною групою. Натомість на 60-у добу дослідження у тварин обох груп він наближався до показників фізіологічно здорових кролів.

За індукованого остеопорозу в кролів відмічали помірну олігохромемію на рівні нижньої межі фізіологічної норми (рис. 4.20), яка поглиблювалася на 7-у добу репаративного остеогенезу. Проте в групі, де проводили остеозаміщення ГТлГег-700, вона була менш вираженою – в 1,1 раза ($p < 0,001$), ніж у контрольних кролів. Достовірна різниця між групами зберігалася і у подальші терміни дослідження. Так, уже з 14-ої доби дослідження відмічали збільшення концентрації гемоглобіну в обох групах, однак у дослідній на 14-у добу вона була в 1,2 раза ($p < 0,001$) більшою, на 30-у добу – в 1,1 раза ($p < 0,001$), порівняно з контрольною групою, а на 60-у рівень гемоглобіну в цій групі досягав піку – $117 \pm 1,04$ г/л. Заразом у контрольній групі олігохромемія на 7-му добу – $91 \pm 1,86$ г/л, усувалася лише на 60-у добу – $110 \pm 0,58$ г/л.

Отже, остеозаміщення ГТлГег-700 в умовах остеопорозу супроводжується помірним підвищенням у периферичній крові кролів кількості тромбоцитів і динамічним усуненням олігохромемії.

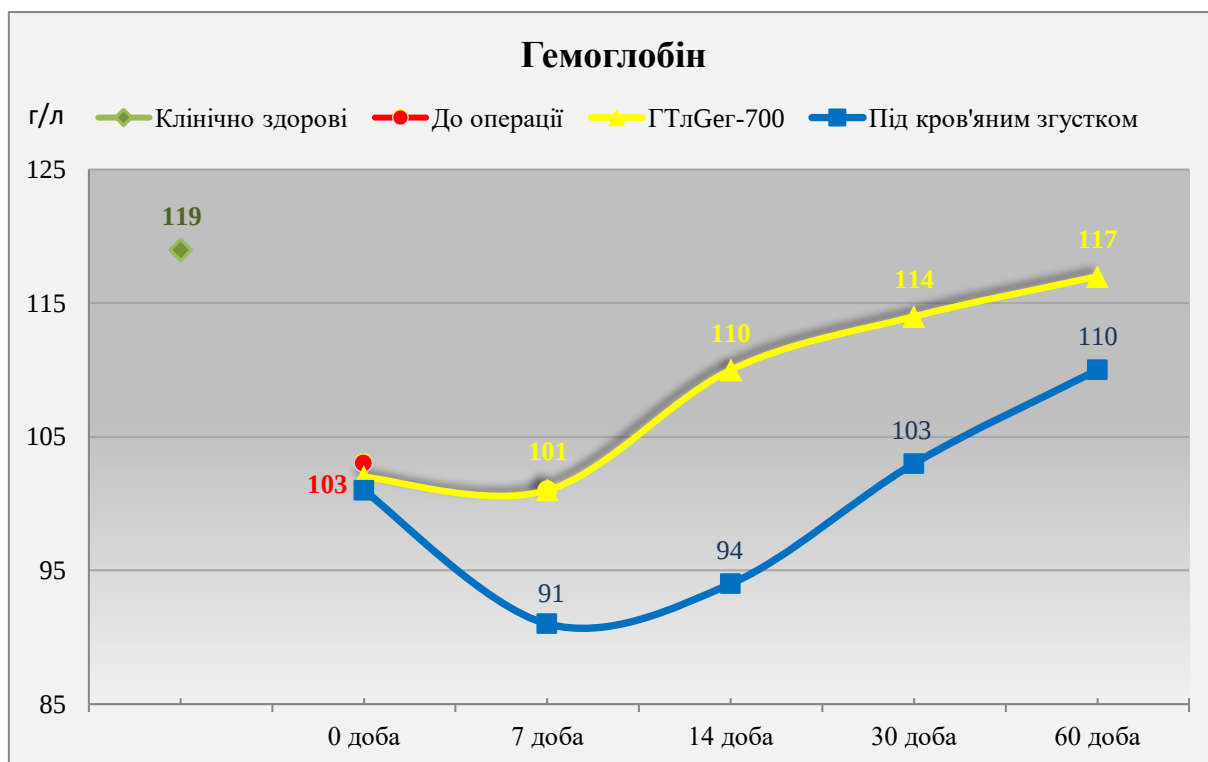


Рис. 4.20. Динаміка вмісту в крові гемоглобіну за репаративного остеогенезу в кролів з остеопорозом

Досить показовою за остеозаміщення ГТлГер-700 виявилася і динаміка вмісту в сироватці крові Ca і P та їх співвідношення. Нагадаємо, що у кролів у наслідок кортикостероїд-індукованого остеопорозу розвивалася глибока гіпокальціємія та гіперфосфатемія зі зниженням Ca:P до $0,5 \pm 0,02$.

Натомість в умовах остеозаміщення вміст загального кальцію (табл. 4.6) у сироватці крові кролів уже на 7-у добу репаративного остеогенезу становив $1,41 \pm 0,02$ ммоль/л, що в 1,1 раза ($p < 0,001$) було більше за показник контрольних тварин. Саме в цей період він досягав нижньої межі фізіологічної норми (1,4–3,1 ммоль/л). На 14-у добу дослідження рівень Ca виявився ще більш вищим – у 1,3 раза ($p < 0,001$), а на 30-у і 60-у добу – в 1,2 раза ($p < 0,001$).

Таблиця 4.6

**Динаміка біохімічних показників крові за репаративного остеогенезу
у кролів з остеопорозом**

Термін дослідження, доба		Са, ммоль/л	Р, ммоль/л	Са:Р	ЗЛФ, од./л	КіЛФ, од./л	ТрКФ, од./л	КіЛФ:ТрКФ
Клінічно здорові (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
0	до операції (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
7	ГТлГе (n=9) під кров'яним згустком (n=9)	$\frac{1,41 \pm 0,02^{***}}{1,25 \pm 0,02}$	$\frac{2,5 \pm 0,05^{***}}{2,56 \pm 0,05^{***}}$	$\frac{0,57 \pm 0,02^{***}}{0,49 \pm 0,01^{***}}$	$\frac{74,58 \pm 0,31^{***}}{70,32 \pm 0,23}$	$\frac{50,76 \pm 0,52^{***}}{44,56 \pm 0,31^{***}}$	$\frac{34,91 \pm 0,32^{\bullet}}{33,8 \pm 0,47^{***}}$	$\frac{1,44 \pm 0,17}{1,3 \pm 0,05}$
14	ГТлГе (n=9) під кров'яним згустком (n=9)	$\frac{1,68 \pm 0,06^{***}}{1,3 \pm 0,02}$	$\frac{2,3 \pm 0,08^{***}}{2,51 \pm 0,03^{***}}$	$\frac{0,74 \pm 0,02^{***}}{0,52 \pm 0,01^{***}}$	$\frac{79,82 \pm 0,29^{***}}{70,56 \pm 0,47}$	$\frac{58,47 \pm 0,37^{***}}{44,37 \pm 0,25^{***}}$	$\frac{41,53 \pm 0,24^{***}}{34,0 \pm 0,36}$	$\frac{1,4 \pm 0,12}{1,31 \pm 0,18}$
30	ГТлГе (n=6) під кров'яним згустком (n=6)	$\frac{1,57 \pm 0,03^{***}}{1,26 \pm 0,04^{***}}$	$\frac{2,14 \pm 0,04^{***}}{2,37 \pm 0,04^{***}}$	$\frac{0,74 \pm 0,02^{***}}{0,53 \pm 0,02^{***}}$	$\frac{75,69 \pm 0,25^{***}}{73,68 \pm 0,21^{***}}$	$\frac{53,46 \pm 0,64^{***}}{46,71 \pm 0,53^{***}}$	$\frac{37,83 \pm 0,29^{***}}{34,13 \pm 0,35^{***}}$	$\frac{1,42 \pm 0,07}{1,34 \pm 0,14}$
60	ГТлГе (n=3) під кров'яним згустком (n=3)	$\frac{1,5 \pm 0,04^{***}}{1,26 \pm 0,02^{***}}$	$\frac{1,7 \pm 0,03^{***}}{2,31 \pm 0,03^{***}}$	$\frac{0,88 \pm 0,03^{***}}{0,54 \pm 0,02^{***}}$	$\frac{67,37 \pm 0,43^{***}}{71,53 \pm 0,38^{***}}$	$\frac{46,0 \pm 0,18^{***}}{45,62 \pm 0,44^{***}}$	$\frac{31,71 \pm 0,41^{***}}{39,58 \pm 0,52^{***}}$	$\frac{1,45 \pm 0,17}{1,13 \pm 0,11^{\bullet}}$

Примітки: 1) значення р: * – <0,05; ** – <0,01; *** – <0,001, порівняно з контрольною групою;

2) р: $\bullet$ – <0,05; $\bullet\bullet$ – <0,01; $\bullet\bullet\bullet$ – <0,001, порівняно з дооперативними показниками;

3) значення р: $\diamond$ – <0,05; $\diamond\diamond$ – <0,01; $\diamond\diamond\diamond$ – р<0,001 – відносно клінічно здорових тварин.

При цьому в контрольних тварин в умовах загоювання кісткових дефектів під кров'яним згустком рівень загального Са суттєво не змінювався протягом усіх термінів дослідження (рис. 4.21).

Концентрація неорганічного Р в сироватці крові на 7-у добу репаративного остеогенезу в обох групах суттєво не змінювалася. Проте, вже на 14-у і 30-у добу в тварин дослідної групи його рівень був нижчим у 1,1 раза ($p < 0,05$ – $0,01$) та на 30-у добу – в 1,1 раза ($p < 0,01$), ніж у контрольних кролів та в 1,2 раза ($p < 0,01$) за показник до формування кісткового дефекту. В період 30-ої доби репаративного остеогенезу вміст Р в крові дослідних тварин знижувався до верхньої межі фізіологічної норми (1,3– 2,2 ммоль/л) – $2,14 \pm 0,04$ ммоль/л. Водночас у контрольних тварин на 60-у добу він у 1,4 раза ($p < 0,01$) залишався ще більшим, ніж у дослідних (рис. 4.22).

Заразом протягом дослідження суттєвих змін Са:Р індекса (рис. 4.23) в тварин контрольної групи не відмічали. Він мав тенденцію до повільного підвищення з $0,49 \pm 0,01$ на 7-у добу до $0,54 \pm 0,02$ на 60-у. Проте в дослідній, починаючи з 7-ї доби, встановлено достовірну його різницю ($p < 0,001$) щодо індекса контрольних тварин. На 7-у добу Са:Р співвідношення було більшим у дослідних тварин, ніж у контрольних, в 1,2 раза, на 14-у та 30-у добу – в 1,4 раза, а на 60-у добу – в 1,6 раза (табл. 4.6).

Отже, остеозаміщення кісткових дефектів за умов остеопорозу в кролів супроводжується усуненням гіпокальціємії на 7-у, а гіперфосфатемії на 30-у добу репаративного остеогенезу з поступовим підвищенням індекса Петерсона на 60-у добу. Хоча, як було встановлено вище, за формування остеопорозу відбувається помірне підвищення в сироватці крові активності різних форм фосфатаз, проте більшою мірою це стосується активності тартрат-резистентної кислої фосфатази, що відображає посилення процесів остеорезорбції.

На цьому фоні за остеозаміщення активність загальної лужної фосфатази (ЗЛФ) збільшувалася з 7-ї доби у 1,1 раза ($p < 0,001$) з піком на 14-у добу – $79,82 \pm 0,29$ од./л, порівняно з контрольною групою та вихідними показниками (рис. 4.24).

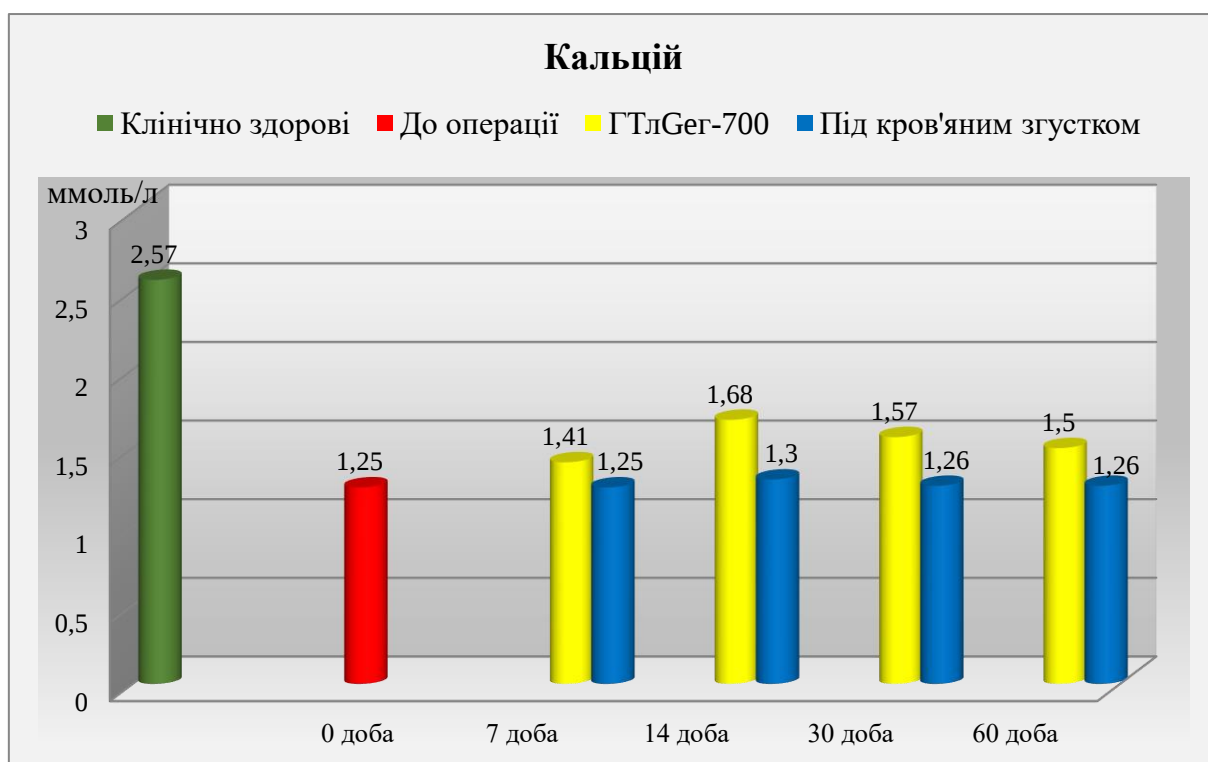


Рис. 4.21. Динаміка вмісту в сироватці крові загального кальцію за репаративного остеогенезу в кролів з остеопорозом

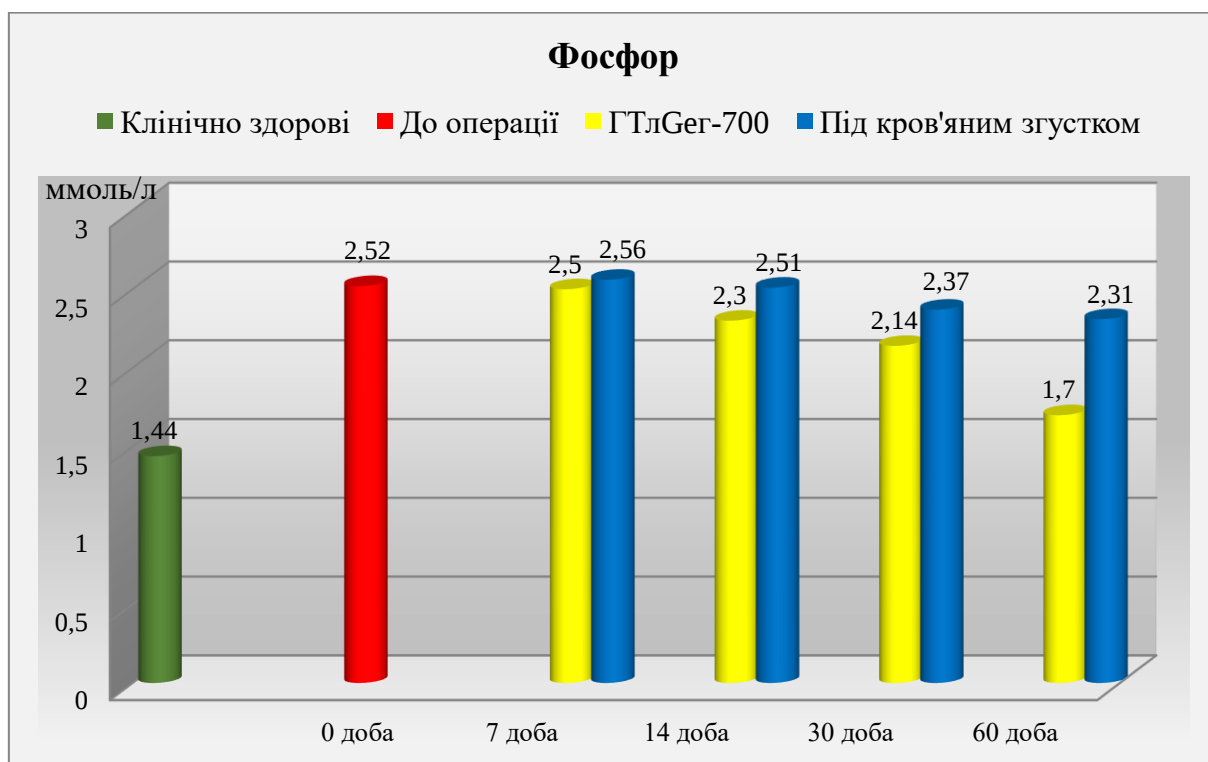


Рис. 4.22. Динаміка вмісту в сироватці крові фосфору за репаративного остеогенезу в кролів з остеопорозом

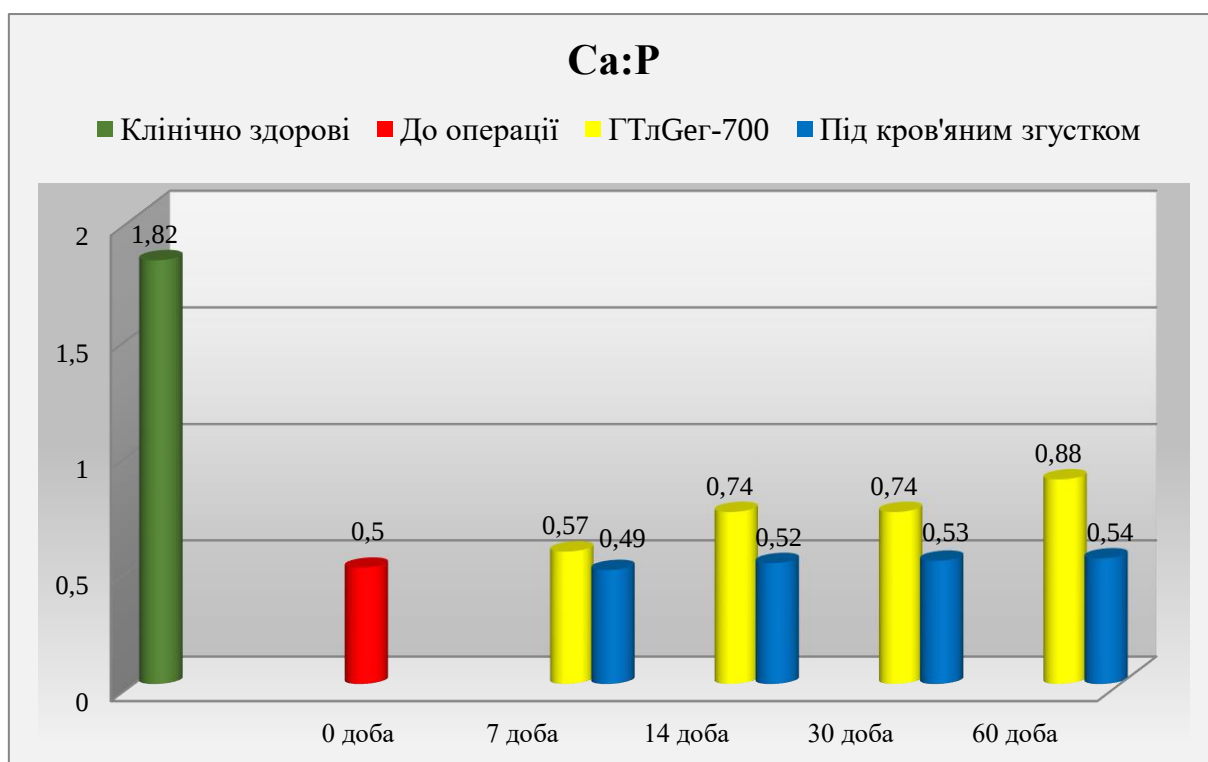


Рис. 4.23. Динаміка рівня Са:Р співвідношення за репаративного остеогенезу в кролів з остеопорозом

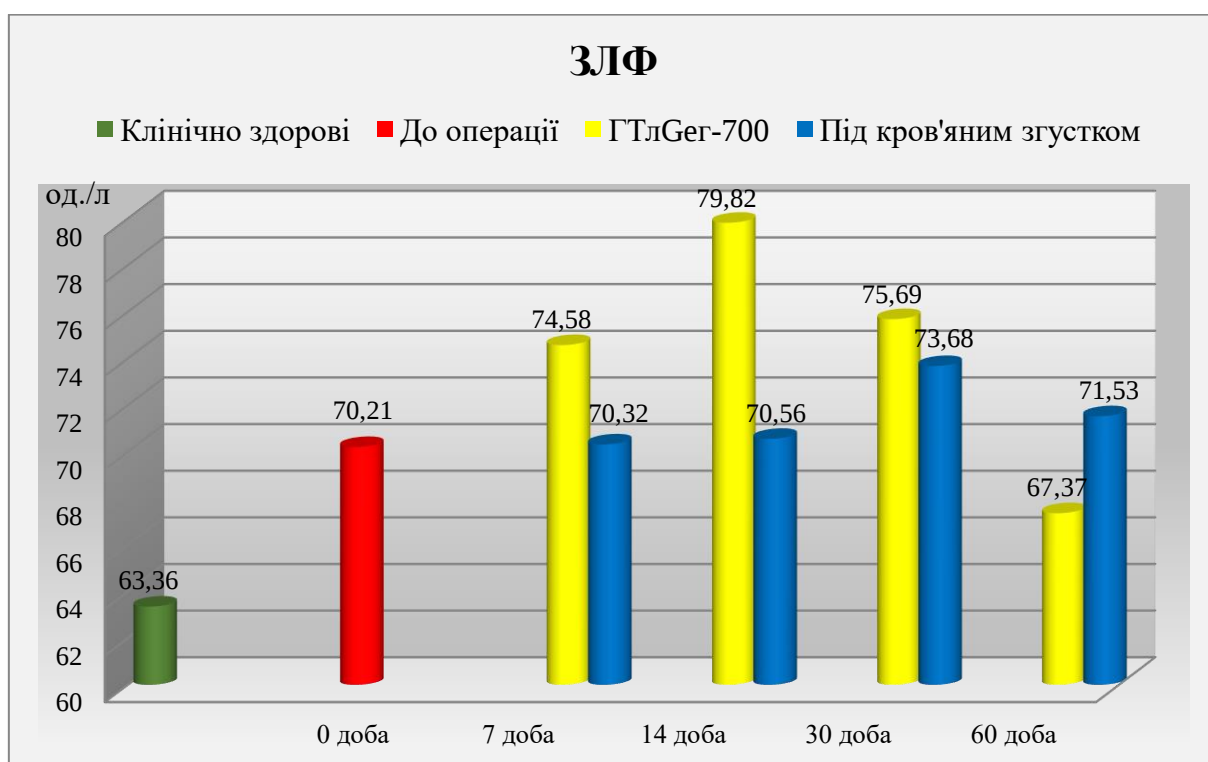


Рис. 4.24. Динаміка рівня активності в сироватці крові ЗЛФ за репаративного остеогенезу в кролів з остеопорозом

В групі без остеозаміщення показники ЗЛФ на 7-у та 14-у добу дослідження залишалися на рівні доопераційних, а свого піку вони досягали на 30-у добу – $73,68 \pm 0,21$ од./л, що було достовірно нижчим за показник дослідних тварин. До 60-ї доби репаративного остеогенезу рівень ЗЛФ у дослідній групі знижувався до рівня фізіологічно здорових тварин більш динамічно.

Тобто, встановлена динаміка активності ЗЛФ в умовах остеозаміщення за остеопорозу подібна до такої у кролів без втрати кісткової маси.

Динаміка активності у сироватці крові загальноновизнаного маркера остеогенезу кісткового ізоферменту лужної фосфатази (КіЛФ) мала ще більш суттєві відмінності. Так, рівень активності КіЛФ у дослідній групі на 7-у добу був вищим у 1,1 раза ($p < 0,001$), на 14-у добу – в 1,3 раза ($p < 0,001$), а на 30-у добу – в 1,1 раза ($p < 0,001$), порівняно з контрольною групою. Проте у тварин, у яких кісткові дефекти залишали загоюватися під кров'яним згустком, динаміка рівня активності КіЛФ була менш вираженою, а свого піку вона досягала лише на 30-у добу репаративного остеогенезу (рис. 4.25).

Отже, за рівнем активності КіЛФ остеозаміщення ГТлGer-700 зумовлює суттєвий вплив на інтенсивність процесів остеогенезу також і в умовах остеопорозу, що свідчить про остеоіндуктивні властивості легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки.

Ступінь резорбції кісткової тканини відображає активність у сироватці крові тартрат-резистентної кислої фосфатази (ТрКФ), збільшення рівня якої відмічали за індукції остеопорозу, порівняно з клінічно здоровими тваринами (рис. 4.26). Також вірогідно вищими ($p < 0,001$), порівняно з клінічно здоровими тваринами, були показники ТрКФ в обох групах протягом усіх термінів дослідження. Проте збільшення рівня активності ТрКФ у тварин дослідної групи відмічали з 7-ї доби, а на 14-у вона була вищою в 1,2 раза ($p < 0,001$), ніж у контрольних тварин. Надалі з 30-ї доби встановлено її динамічне зниження з нормалізацією показників на 60-у добу дослідження до рівня клінічно здорових тварин.

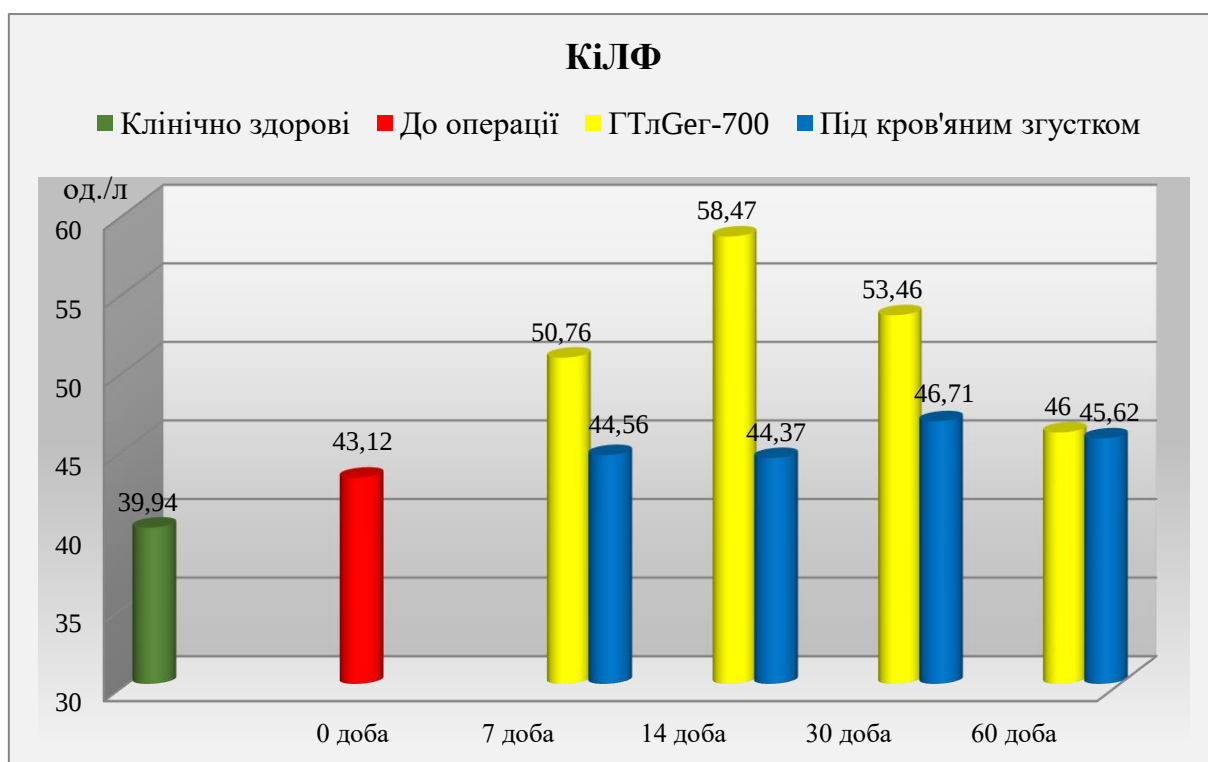


Рис. 4.25. Динаміка рівня КіЛФ за репаративного остеогенезу в кролів з остеопорозом

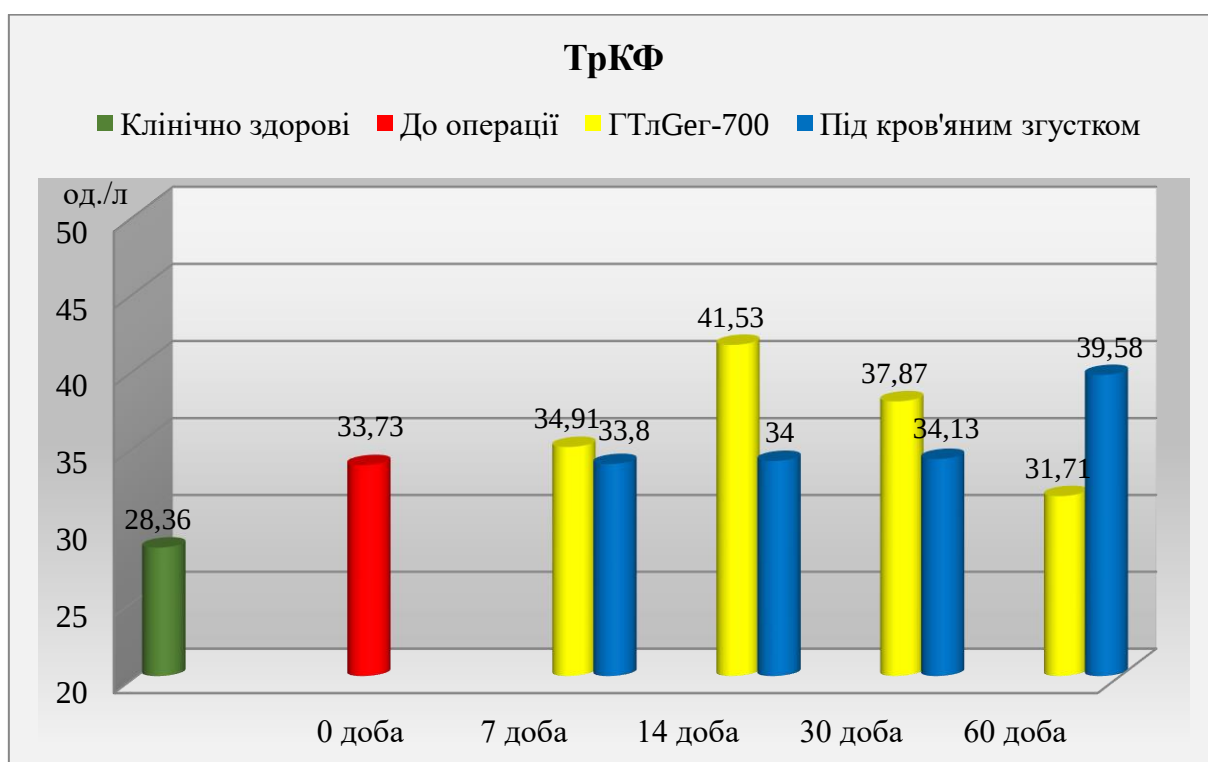


Рис. 4.26. Динаміка рівня активності в сироватці крові ТрКФ за репаративного остеогенезу в кролів з остеопорозом

Натомість у контрольних тварин протягом усього терміну досліджень динамічних змін рівня ТрКФ не відмічали, але пікового значення він досяг на 60-у добу, коли був вищим у 1,2 раза ($p < 0,001$) щодо дослідної групи та 1,4 раза порівняно з клінічно здоровими тваринами.

Отже, зважаючи на динаміку рівня активності ТрКФ у дослідній групі з піком на 14-у добу та його суттєве підвищення лише на 60-у добу в контрольній групі, остеозаміщення біоактивною керамікою, легованою германієм, супроводжується швидкоплинною запальною остеорезорбцією з ранньою та інтенсивною остеогенною реакцією остеобластів.

За репаративного остеогенезу кісткових дефектів у кролів в умовах остеопорозу встановлена чітка закономірність збільшення концентрації загального білку в сироватці крові з досягненням її піку в дослідній групі на 14-у добу, а в контрольній – на 30-у. При чому це відбувалося в межах фізіологічної норми (54–80 г/л). Рівень загального білку (табл. 4.7) починав збільшуватися вже на 7-у добу дослідження, але без достовірної різниці між групами. З 14-ї до 60-ї діб в дослідній групі він був нижчим у 1,1 раза ($p < 0,001$), ніж у контрольній, і на 60-у добу не мав достовірної різниці з його рівнем у клінічно здорових тварин, тоді як у контрольній групі він залишався достовірно вищим у 1,1 раза ($p < 0,001$) (рис. 4.27). Тобто, відсутність остеозаміщення потребує більшого і тривалого напруження білок-синтезуючих процесів у печінці для забезпечення репаративного остеогенезу.

Підтвердженням цьому є і динаміка в сироватці крові транспортного білку альбуміну, піки концентрації якого в обох групах зареєстровані протягом 7–14-ї діб. При цьому зміни рівня альбуміну протягом усіх термінів дослідження відбувалися в межах фізіологічної норми (31–45 г/л), але з вірогідною різницею між групами. Так, на 7-у та 14-у добу його рівень у контрольній групі був вищим у 1,2 раза ($p < 0,001$), а на 30-у добу – в 1,1 раза ($p < 0,001$), порівняно з дослідними тваринами (рис. 4.28).

Таблиця 4.7

**Динаміка біохімічних показників крові за репаративного остеогенезу
у кролів з остеопорозом**

Термін дослідження, доба		Загальний білок, г/л	Альбумін, г/л	Глобулін, г/л	А:Г
Норма (n=9)		67,6±0,37	38,15±0,31	29,45±0,27	1,27±0,15
до операції, (n=18)		69,83±0,38***	36,78±0,61	33,03±0,28***	1,12±0,09
7	ГТлГеґ-700 (n=9)	<u>70,27±0,52***</u>	<u>37,54±0,26***</u>	<u>33,21±0,45***</u>	<u>1,12±0,07</u>
	під кров'яним згустком (n=9)	72,18±0,81***♦	44,89±0,31***♦♦	31,52±0,37***♦♦	1,41±0,18
14	ГТлГеґ-700 (n=9)	<u>72,14±0,37***♦♦♦</u>	<u>38,53±0,36***♦</u>	<u>35,44±0,53***♦♦♦</u>	<u>1,09±0,02*</u>
	під кров'яним згустком (n=9)	77,43±0,67***♦♦♦	44,8±0,5***	31,87±0,28***	1,4±0,11
30	ГТлГеґ-700 (n=6)	<u>71,64±0,52***♦♦♦♦</u>	<u>36,97±0,54***</u>	<u>34,21±0,32***♦♦♦♦</u>	<u>1,08±0,06</u>
	під кров'яним згустком (n=6)	79,47±0,63***♦♦♦	40,86±0,49***♦♦	37,38±0,43***♦♦♦	1,1±0,14
60	ГТлГеґ-700 (n=3)	<u>68,73±0,47***</u>	<u>37,75±0,57*</u>	<u>30,53±0,27***♦♦♦</u>	<u>1,23±0,1</u>
	під кров'яним згустком (n=3)	76,59±0,72***♦♦♦	39,53±0,44**	36,28±0,45***♦♦♦	1,1±0,13

Примітки: 1) значення p: * – <0,05; ** – <0,01; *** – <0,001, порівняно з контрольною групою;
 2) p: ♦ – <0,05; ♦♦ – <0,01; ♦♦♦ – <0,001, порівняно з дооперативними показниками;
 3) значення p: ♦ – <0,05; ♦♦ – <0,01; ♦♦♦ p<0,001 – відносно клінічно здорових тварин.

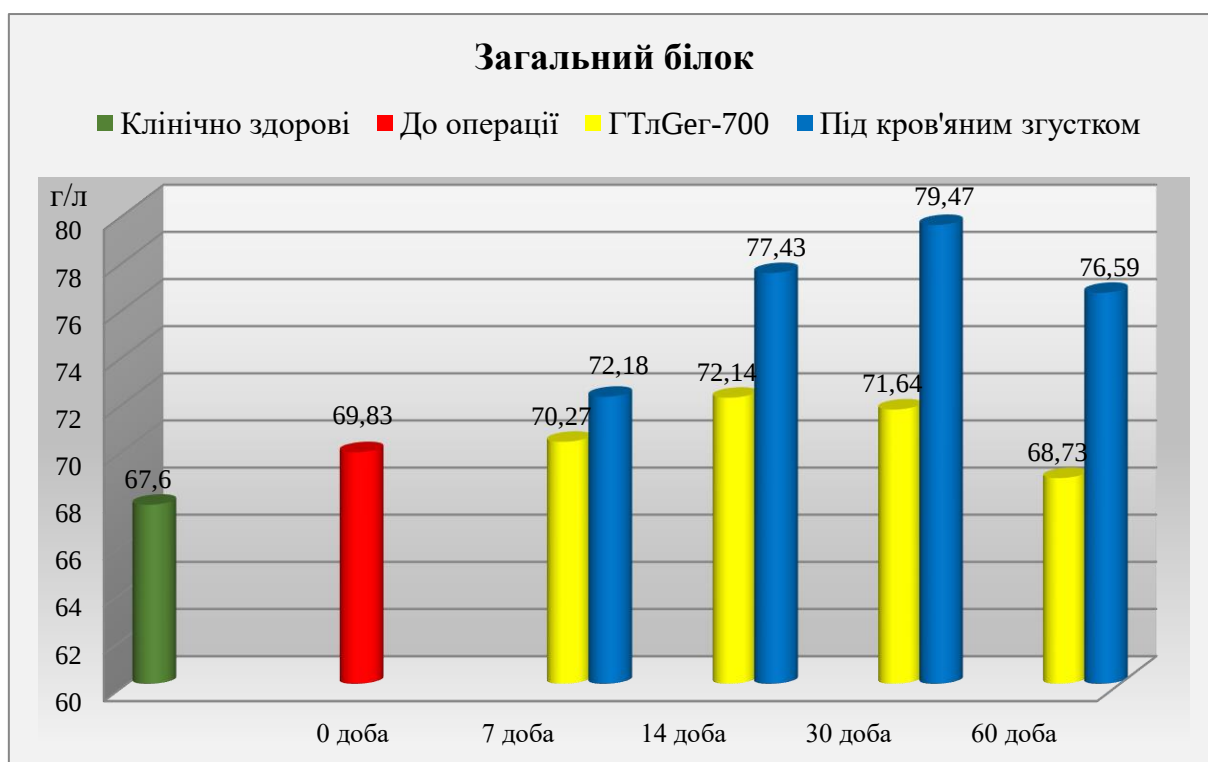


Рис. 4.27. Динаміка вмісту загального білку в сироватці крові за репаративного остеогенезу в кролів з остеопорозом

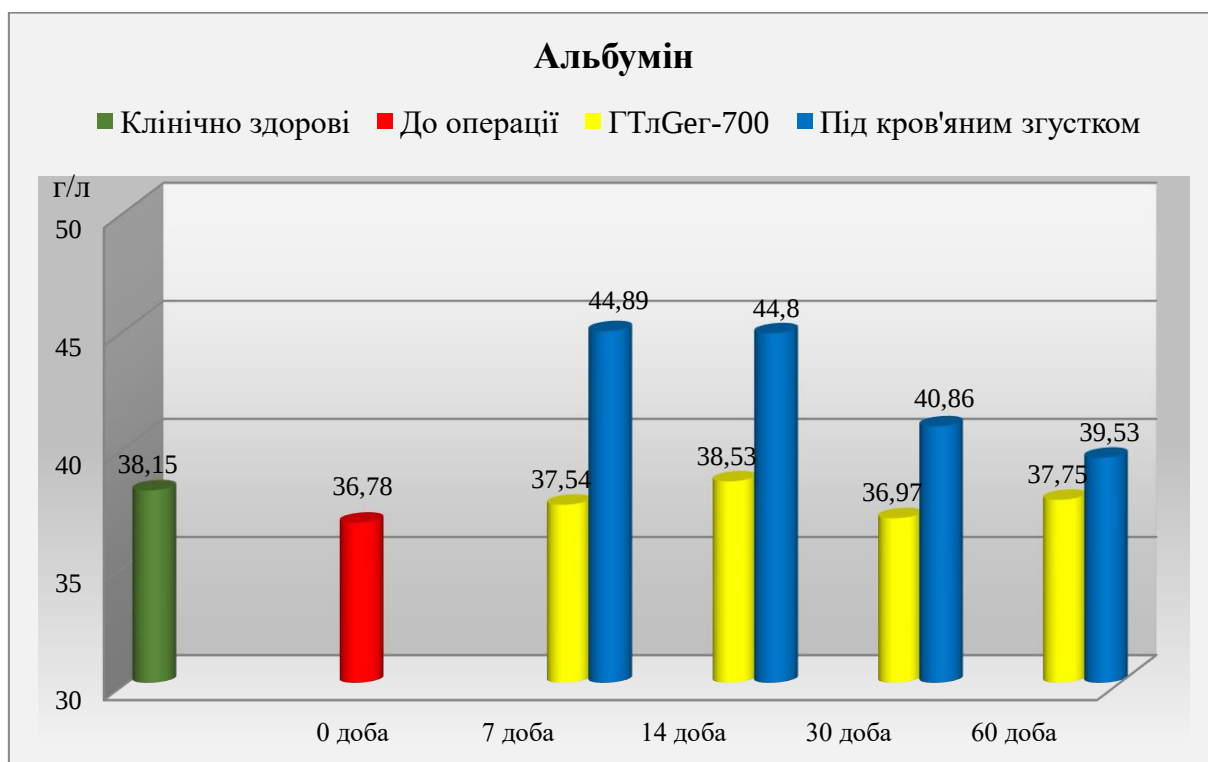


Рис. 4.28. Динаміка рівня альбуміну за репаративного остеогенезу в кролів з остеопорозом

Заразом динаміка вмісту в сироватці крові білків глобулінової фракції дещо відрізнялася від альбумінової. У цьому разі, навпаки, пік рівня глобулінової фракції у дослідній групі встановлено на 14-у добу, а у контрольній – на 30-у з його подовженням до 60-ї доби. Так, рівень глобулінів на 7-у добу репаративного остеогенезу у групі з остеозаміщенням залишався на рівні доопераційних показників, а у контрольних тварин він був нижчим у 1,1 раза ($p < 0,01$), порівняно з дослідною групою. На 14-у добу відмічали пік показника глобулінів у групі ГТлGeg-700 з подальшим його зниженням на 30-у добу і нормалізацією на 60-у добу до рівня клінічно здорових тварин. Пік рівня глобулінів у тварин контрольної групи відмічали лише на 30-у добу, який залишався приблизно таким же і на 60-у добу та був вищим в 1,2 раза ($p < 0,001$), порівняно з показником як дослідних, так і клінічно здорових тварин (рис. 4.29).

Динаміка альбумін-глобулінового співвідношення виявилася без достовірних змін у обох групах кролів, за виключенням 14-ї доби репаративного остеогенезу, коли показники дослідної групи були нижчими у 1,3 раза ($p < 0,05$) порівняно з контрольними тваринами (рис. 4.30). Це, відповідно пояснює і динаміку А:Г співвідношення, яке у контрольній групі мало піки на 7-у і 14-у добу, а у дослідній – дещо менший на 60-у.

Зміни рівня в сироватці крові велико- та дрібномолекулярних ЦІК, які відображають osteoімунологічні процеси, протягом усього терміну дослідження у тварин обох груп мали дещо схожу динаміку, проте у дослідних тварин вона була менш вираженою. Спочатку відмічали динамічне збільшення їх концентрації з піком на 14-у добу, а надалі – подальше зниження. Однак, при цьому на 7-у добу репаративного остеогенезу рівень великомолекулярних ЦІК у контрольній групі виявився більшим у 1,3 раза ($p < 0,05$), на 14-у добу – в 1,6 ($p < 0,001$), на 30-у добу – в 1,7 ($p < 0,001$), а на 60-у добу – в 1,4 раза ($p < 0,01$), порівняно з дослідною групою та клінічно здоровими тваринами. Водночас достовірної різниці між показниками цієї фракції ЦІК у тварин дослідної групи та клінічно здорових не відмічали.

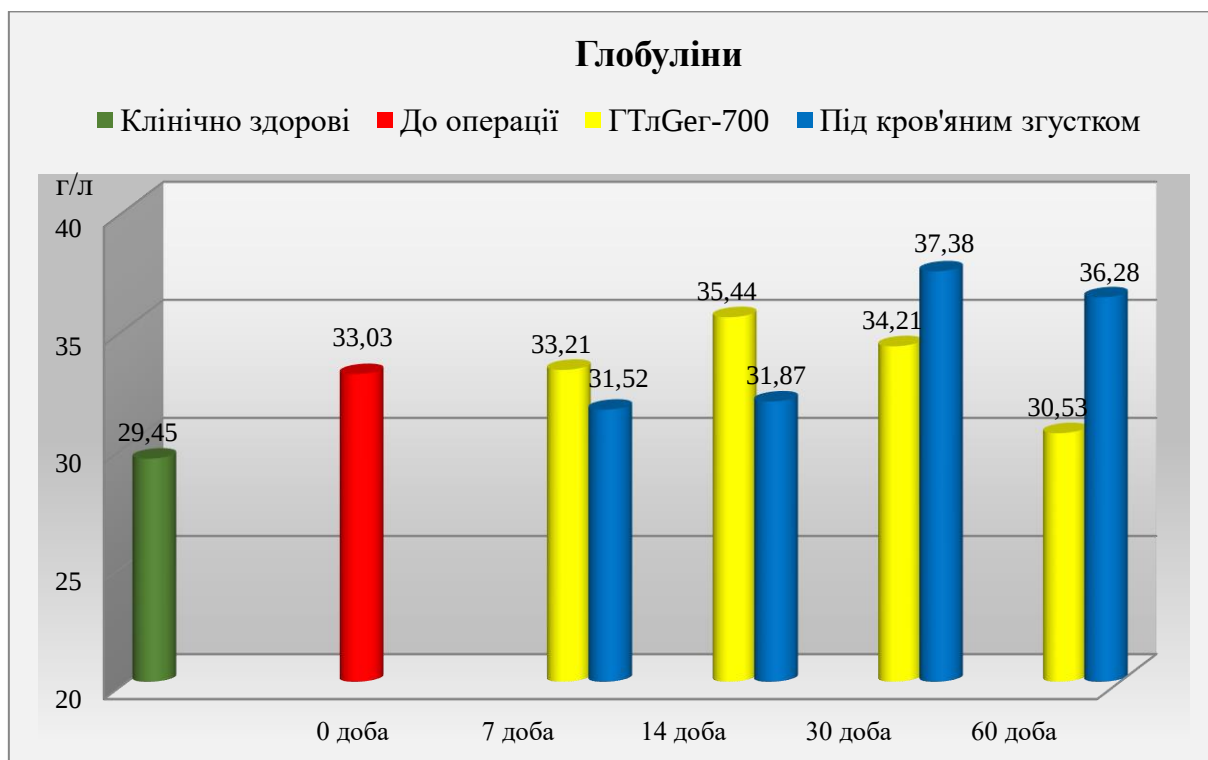


Рис. 4.29. Динаміка рівня глобулінів за репаративного остеогенезу в кролів з остеопорозом

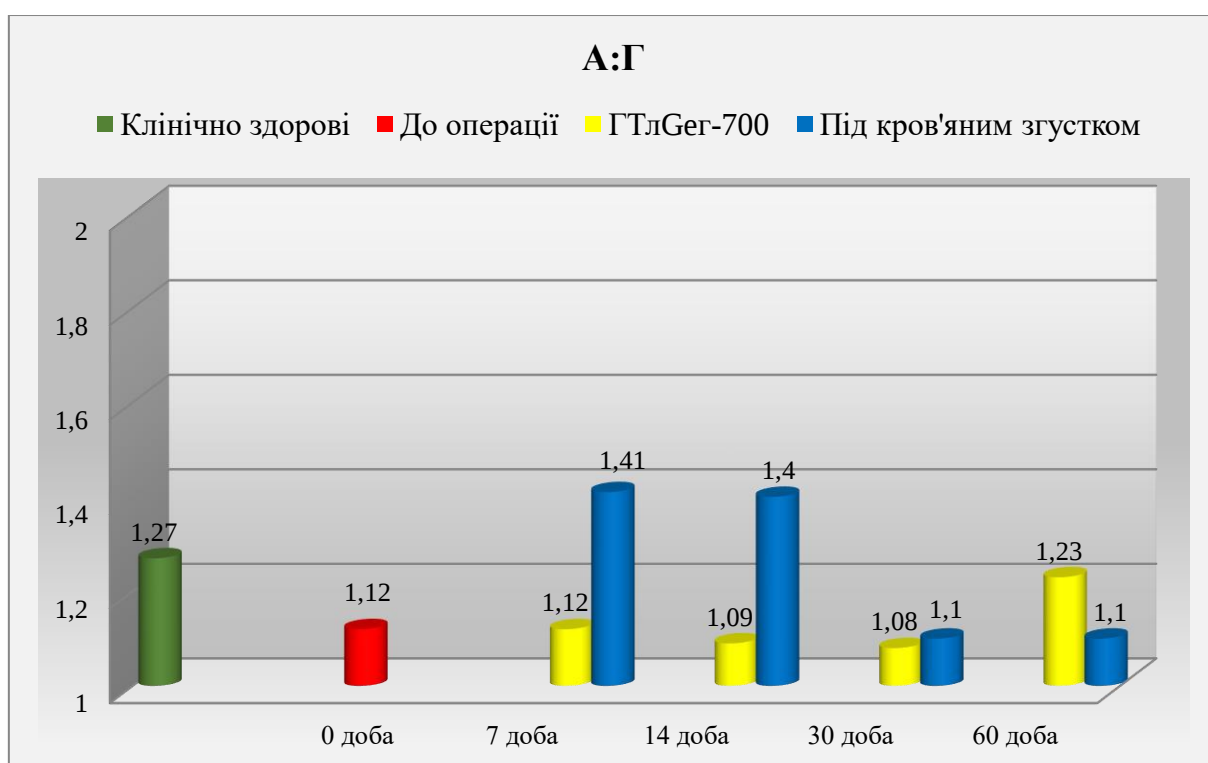


Рис. 4.30. Динаміка рівня А:Г співвідношення за репаративного остеогенезу в кролів з остеопорозом

Достовірні зміни рівня дрібномолекулярних ЦІК встановлені в обох групах кролів. Протягом дослідження у контрольній групі він виявився в 1,2–1,6 ($p<0,05$ – $p<0,001$) разів більшим, ніж у дослідній групі, з його поверненням у останній до показників клінічно здорових тварин ($5,71\pm0,36$ ум.од.) на 60-у добу. Свого піку концентрація цього класу ЦІК у контрольній групі, як і у дослідній, досягала на 14-у добу, але була більшою в 1,5 разів ($p<0,001$), а на 60-у – в 1,6 разів ($p<0,01$).

Отже, за репаративного остеогенезу в умовах остеопорозу посилюється як комплемент-залежне, так і комплемент-незалежне імунокомплексотворення, що зумовлює більш інтенсивну продукцію різних класів медіаторів запально-резорбтивної фази репаративного остеогенезу. Водночас за остеозаміщення вона суттєво менша.

Підтвердженням цьому є динаміка вмісту в сироватці крові церулоплазміну. Так, більш динамічними та показовими виявилися його зміни (табл. 4.8) у тварин контрольної групи. Вже на 7-у добу рівень церулоплазміну в них був вищим у 1,2 разів ($p<0,001$), порівняно з дослідними тваринами, з піком на 14-у добу (збільшення у 1,3 разів, $p<0,001$) та поступовим зниженням починаючи з 30-ї доби. У дослідних тварин пік концентрації церулоплазміну спостерігали вже на 7-у добу репаративного остеогенезу з подальшим її зниженням з 14-ї доби і наближенням до показників клінічно здорових тварин на 60-у добу дослідження ($315,8\pm6,47$ мг/л, $p<0,001$).

Водночас на 60-у добу рівень церулоплазміну в контрольних тварин залишався вищим у 1,2 разів ($p<0,001$), порівняно з показниками дослідних та клінічно здорових тварин. Тобто менш інтенсивне збільшення його рівня за остеозаміщення свідчить і про меншу інтенсивність запально-остеорезорбтивних процесів під час репаративного остеогенезу.

Таблиця 4.8

**Динаміка біохімічних показників крові за репаративного остеогенезу
у кролів з остеопорозом**

Термін дослідження, доба		Церулоплазмін, мг/л	ЦІК, ум.од.		Протеїн С, НВ	НО, мкмоль/л
			велико- молекулярні	дрібно- молекулярні		
Клінічно здорові (n=27)		313,3±6,82	3,17±0,14	5,73±0,48	2,07±0,16	28,93±0,32
0	до операції, (n=18)	314,8±5,26	3,18±0,31	5,67±0,39	2,08±0,03	26,55±0,42 ^{♦♦}
7	<u>ГТлGe (n=9)</u> під кров'яним згустком (n=9)	<u>381,4±9,54^{♦♦♦♦♦}</u> ^{•••} 453,7±10,42 ^{♦♦♦} ^{•••}	<u>3,34±0,31*</u> 4,31±0,23 ^{♦♦♦} [•]	<u>6,28±0,21*</u> 7,45±0,36 ^{♦♦} ^{••}	<u>1,67±0,17***</u> [•] 0,79±0,03 ^{♦♦♦♦♦}	<u>26,58±0,37^{♦♦}</u> 26,56±0,29 ^{♦♦}
14	<u>ГТлGe (n=9)</u> під кров'яним згустком (n=9)	<u>364,3±5,62^{♦♦♦♦♦}</u> ^{•••} 457,8±7,57 ^{♦♦♦} ^{•••}	<u>3,59±0,24***</u> 5,62±0,18 ^{♦♦♦} ^{•••}	<u>7,95±0,26^{♦♦♦♦♦}</u> ^{•••} 11,83±0,47 ^{♦♦♦} ^{•••}	<u>1,89±0,14***</u> 0,8±0,12 ^{♦♦♦} ^{•••}	<u>38,74±0,62***^{♦♦♦}</u> ^{•••} 29,41±0,48
30	<u>ГТлGe (n=6)</u> під кров'яним згустком (n=6)	<u>327,6±3,89***</u> 405,8±7,74 ^{♦♦♦} ^{•••}	<u>3,39±0,16***</u> 5,6±0,37 ^{♦♦♦} ^{•••}	<u>5,98±0,19***</u> 9,46±0,41 ^{♦♦♦} ^{•••}	<u>2,17±0,2</u> 1,69±0,18 [•]	<u>38,0±0,36***^{♦♦♦}</u> ^{•••} 30,78±0,56 ^{♦♦♦} ^{•••}
60	<u>ГТлGe (n=3)</u> під кров'яним згустком (n=3)	<u>315,8±6,47***</u> 368,7±5,37 ^{♦♦♦} ^{•••}	<u>3,19±0,13**</u> 4,46±0,38 ^{♦♦} [•]	<u>5,71±0,36**</u> 7,13±0,29 ^{♦♦} ^{••}	<u>2,15±0,06</u> 2,07±0,03	<u>28,75±0,41***</u> ^{•••} 33,32±0,25 ^{♦♦♦} ^{•••}

Примітки: 1) значення p: * – <0,05; ** – <0,01; *** – <0,001, порівняно з контрольною групою;

2) p: • – <0,05; ♦ – <0,01; ♦♦ – <0,001, порівняно з дооперативними показниками;

3) значення p: ♦ – <0,05; ♦♦ – <0,01; ♦♦♦ p<0,001, відносно клінічно здорових тварин.

Натомість антикоагулянтний потенціал плазми крові за рівнем протейна С в умовах остеозаміщення виявився істотно більшим. Спочатку, на 7-у добу, в обох випадках він зменшувався в 1,2 раза ($p<0,05$) в дослідній групі та значно більше, у 2,6 раза ($p<0,001$) – в контрольній. Однак на 14-у добу за остеозаміщення активність протейну С не мала достовірної різниці з показником клінічно здорових кролів.

Заразом на 7-у та 14-у добу дослідження відмічали подальше динамічне зниження активності в крові протейну С у контрольній групі, що була меншою в 2,1 раза ($p<0,001$) та 2,4 раза ($p<0,001$), відповідно, порівняно з тваринами дослідної групи. На 30-у добу репаративного остеогенезу рівень протейну С у контрольних тварин залишався дещо нижчим, проте без достовірної різниці щодо дослідної групи. На 60-у добу відмічали нормалізацію показників до рівня клінічно здорових тварин як у дослідній, так і в контрольній групах (рис. 4.31).

Як було встановлено, в умовах кортикоїд-індукованого остеопорозу помірно знижується ендотеліальна реакція, що проявляється зменшенням рівня NO (рис. 4.32). На 7-у добу репаративного остеогенезу вміст оксиду азоту в сироватці крові тварин обох груп не відрізнявся від доопераційних показників. Проте вже на 14-у добу репаративного остеогенезу у групі тварин, у якій проводили остеозаміщення ГТлGег-700, встановили пік рівня оксиду азоту, який утримувався і на 30-у добу та був у 1,3 раза ($p<0,001$) було вищим за показники контрольної групи. На 60-у добу він сягав рівня клінічно здорових тварин ($28,75\pm0,41$ мкмоль/л). У тварин контрольної групи на 30-у добу дослідження рівень NO продовжував зростати, проте був достовірно нижчим у 1,2 раза ($p<0,001$) за показники тварин дослідної групи. Пік активності оксиду азоту в контрольних тварин відмічали лише на 60-у добу дослідження, що у 1,2 раза ($p<0,001$) було більше за показники дослідної групи і клінічно здорових тварин.

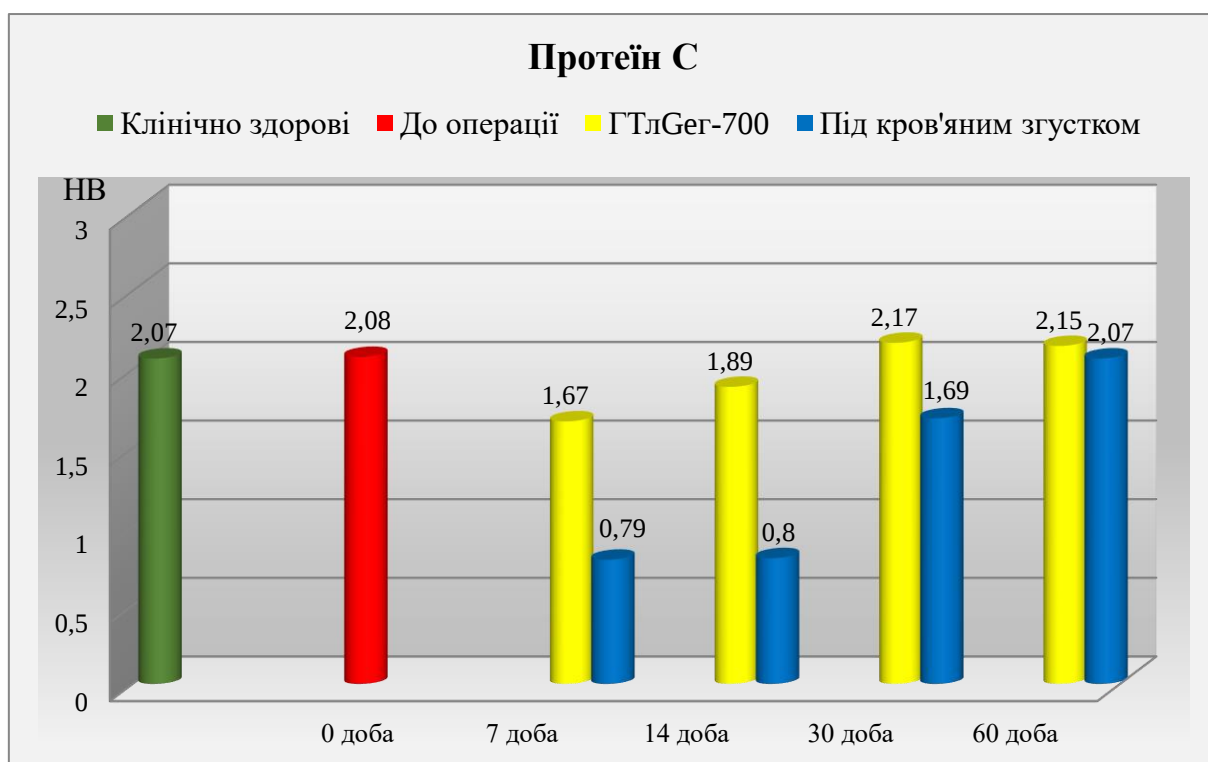


Рис. 4.31. Динаміка рівня протеїну С за репаративного остеогенезу в кролів з остеопорозом

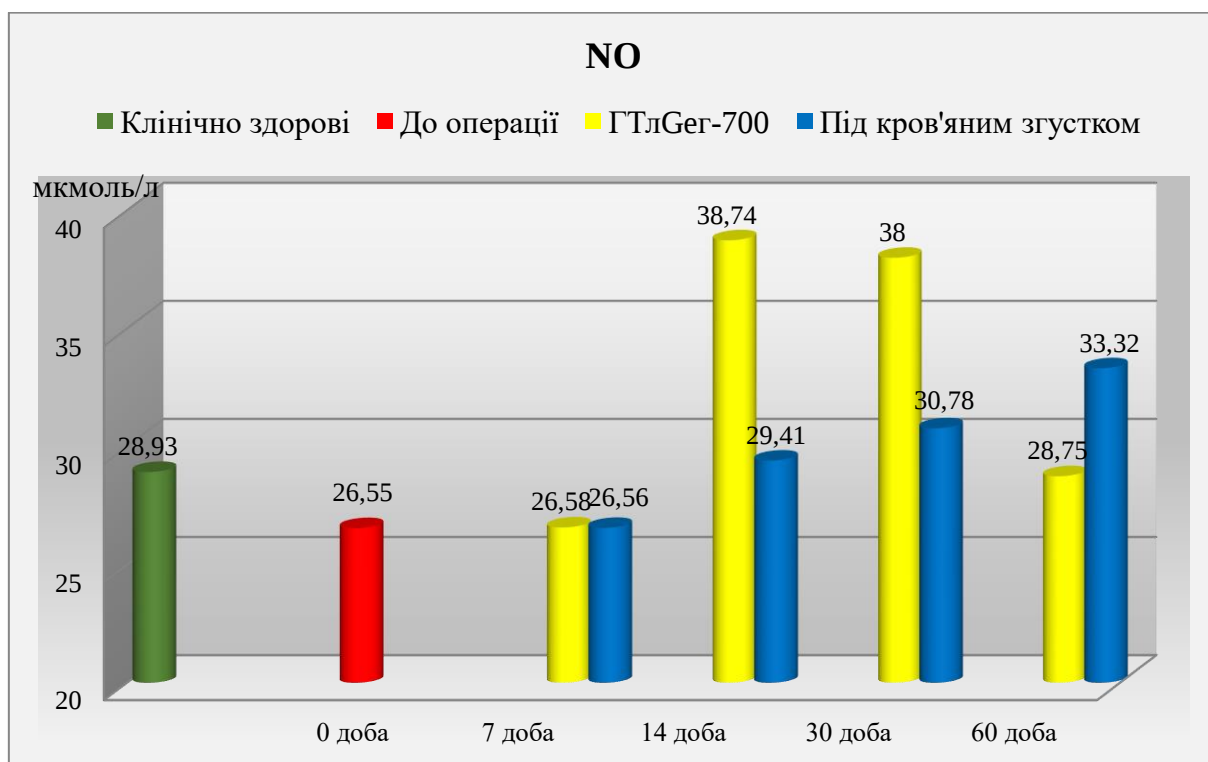


Рис. 4.32. Динаміка рівня оксиду азоту за репаративного остеогенезу в кролів з остеопорозом

Отже, остеозаміщення леговою керамікою сприяє посиленню ендотеліальної функції та більш ранньому та інтенсивному неоангіогенезу і в умовах остеопорозу.

Одним із факторів ризику переломів кісток у тварин-компаньйонів є системний остеопороз, який характеризується високим кістковим обміном з інтенсивними процесами кісткової резорбції на тлі нормального або підвищеного кісткоутворення. Такого роду фрактури, внаслідок порушення процесів регенерації кісткової тканини та ризиків нестабільної фіксації уламків, пов'язаних з порушенням структурно-функціонального стану кісткової тканини, погано піддаються лікуванню. Саме тому в даному випадку є необхідність застосування додаткових засобів для створення оптимальних умов перебігу репаративного остеогенезу. З цією метою, як доповнення до хірургічного втручання, поряд із системною терапією, місцево застосовують біоактивні остеозаміщувальні матеріали, які підвищують потенціал загоєння остеопоротичних переломів, зокрема нелеговану та леговану кальцій-фосфатну кераміку з вираженими остеокондуктивними, остеоіндуктивними та остеointegraційними властивостями.

Зокрема остеокондуктивні властивості кераміки забезпечуються безпосередньо гідроксиапатитом та β -трикальційфосфатом. Остеоіндуктивний ефект імплантанта досягається за рахунок легування композитних матеріалів різноманітними мікроелементами (Si, Ge, Na, K, Zn, Al, Ag, Cu), що володіють вираженими остеоіндуктивними властивостями.

Одним із таких матеріалів є кальцій-фосфатна кераміка, легована германієм, іони якого впливають на структурно-функціональний зв'язок між материнською кісткою та імплантом.

За результатами представленого дослідження використання ГТлGeG-700, зумовлює більш динамічний перебіг репаративного остеогенезу і рентгенологічно характеризується високою щільністю кісткової тканини в місці дефекту, помірною періостальною та ранньою появою ендоостальної реакції.

В умовах системного остеопорозу набувають розвитку гіпокальціємія і гіперфосфатемія, що ускладнюють репаративний остеогенез. Проте за остеозаміщення гідроксиапатитною керамікою, легованою германієм, достовірно відбувається процес поступового вирівнювання Са:Р індекса, що швидше за все, свідчить про задіювання для цього мікроелементів із композитного матеріалу.

Отже, за комплексною клініко-рентгенологічною, макро- і гістоморфологічною та біохімічною оцінкою кальцій-фосфатна кераміка, легована германієм, може бути перспективним у травматології та ортопедії тварин-компаньйонів як за травматичних, так і за низькоенергетичних переломів кісток, зумовлених системними остеопоротичними змінами кісткової тканини безпосередньо у тварин-компаньйонів.

Матеріали розділу опубліковані в наступних працях [276, 325].

РОЗДІЛ 5

КЛІНІКО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ОСТЕОЗАМІЩЕННЯ КАЛЬЦІЙ-ФОСФАТНОЮ КЕРАМІКОЮ, ЛЕГОВАНОЮ ГЕРМАНІЄМ, ЗА ОСКОЛКОВИХ ПЕРЕЛОМІВ ТРУБЧАСТИХ КІСТОК У СОБАК

Попередньо в розділі 3 були представлені обґрунтовані докази щодо [239, 324] позитивного впливу легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки на репаративний остеогенез за модельних переломів у кролів, підтверджені її остеокондуктивні та остеоінтеграційні, і встановлені остеоіндуктивні властивості, що стало підставою для обґрунтування остеозаміщення ГТлGeg-700 у собак, у першу чергу з осколковими переломами.

5.1. Клініко-рентгенологічна характеристика консолідації переломів

Як було зазначено вище (див. Розділ 2), у собак зі складними осколковими переломами кісток спочатку проводили екстракортикальний остеосинтез, далі заміщення кісткових дефектів у дослідній групі ГТлGeg-700, а у контрольній – нелегованою керамікою (ГТг-700). Зазначений тип перелому кісток характеризується не тільки порушенням цілісності кістки, а й утворенням багатоплощинних ліній переломів, великих за розміром осколків і дрібних окремих фрагментів (уламків) зі значним пошкодженням навколишніх тканин – м'язів, судин і нервів, зокрема і магістральних, а за відкритого типу і шкіри. Об'єм кісткових дефектів, що формувалися за видалення нежиттєздатних осколків, у тварин обох груп коливався в межах $2,7 \pm 0,07 \text{ см}^3$.

Впродовж перших 3-х діб після проведення остеосинтезу в тварин обох груп у ділянці операційної рани відмічали ознаки помірної запальної реакції, що супроводжувалася невеликим набряком навколишніх тканин, підвищенням їх місцевої температури та виділенням серозного ексудату з пасивного дренажу. Починаючи з 4-го дня дослідження, ознаки запального процесу поступово зникали, виділення серозного ексудату припинялося, тому дренаж видаляли.

Тварини дослідної групи, кісткові дефекти у яких заміщували ГТлGeg-700, починали опиратися на травмовану кінцівку вже на 6–10 добу після оперативного втручання, що в 1,3 раза ($p<0,001$) відбувалося швидше, ніж у контрольній групі. 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 ГТлGeg-700, рентгенологічно встановлено більш ранню – у 1,5 раза ($p<0,001$) консолідацію переломів, порівняно із тваринами контрольної групи (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

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

Клінічні критерії	Групи	
	ГТлGeg-700 (дослід), доба, n=10	ГТГ-700 (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*
Консолідація перелому	58,7±0,47	89,9±0,82**

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

За рентгенологічного дослідження в тварин обох груп діагностували складні осколкові діафізарні переломи кісток гомілки (рис. 5.1). Нежиттєздатні осколки, тобто за відсутності їх зв'язку з м'якими тканинами, видаляли.

Після репозиції кісткових уламків, проведення екстракортикального остеосинтезу з використанням пластини з нержавіючої сталі та остеозаміщення кісткових дефектів гранулами кальцій-фосфатних матеріалів на 14-у добу (рис. 5.2) репаративного остеогенезу в тварин контрольної групи рентгенологічно ще чітко візуалізувалося місце дефекту. Проксимально та дистально від нього відмічали досить інтенсивні пері- та ендоостальну реакції, ділянки зі зниженою рентгенщільністю, що свідчило про перебіг запально-остеорезорбтивної стадії в процесі консолідації перелому.

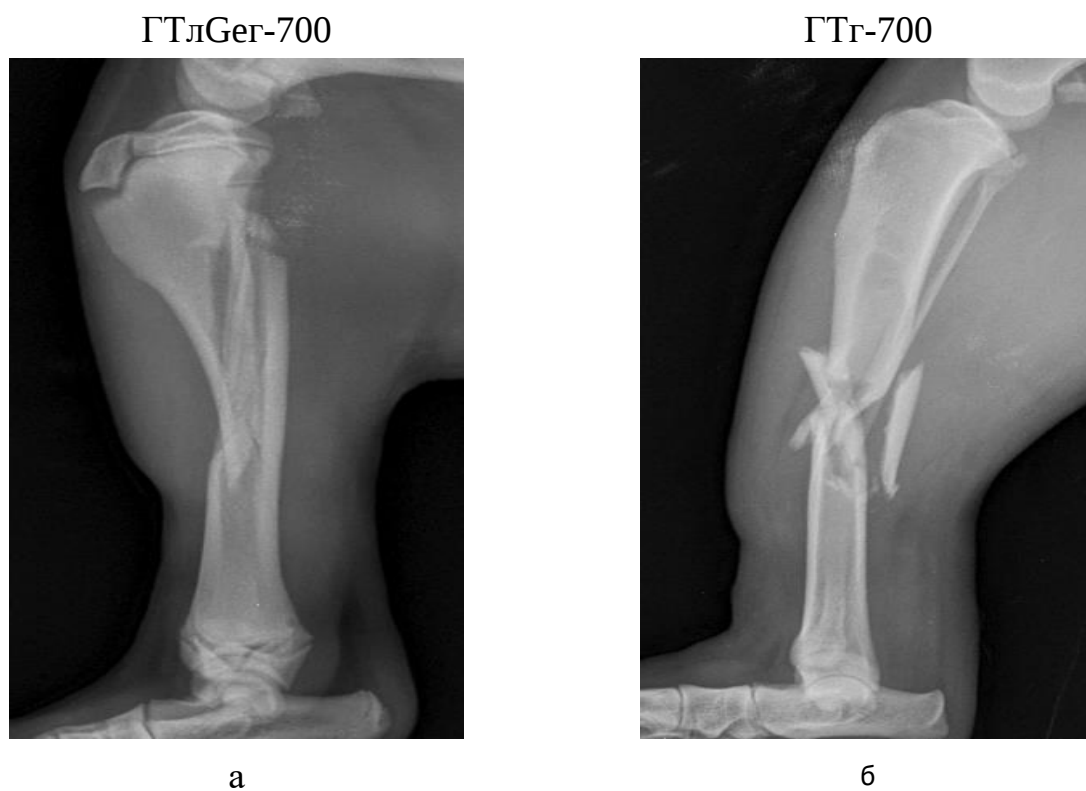


Рис. 5.1. **Осколковий діафізарний перелом кісток гомілки:**
а – дослідна група; б – контрольна група

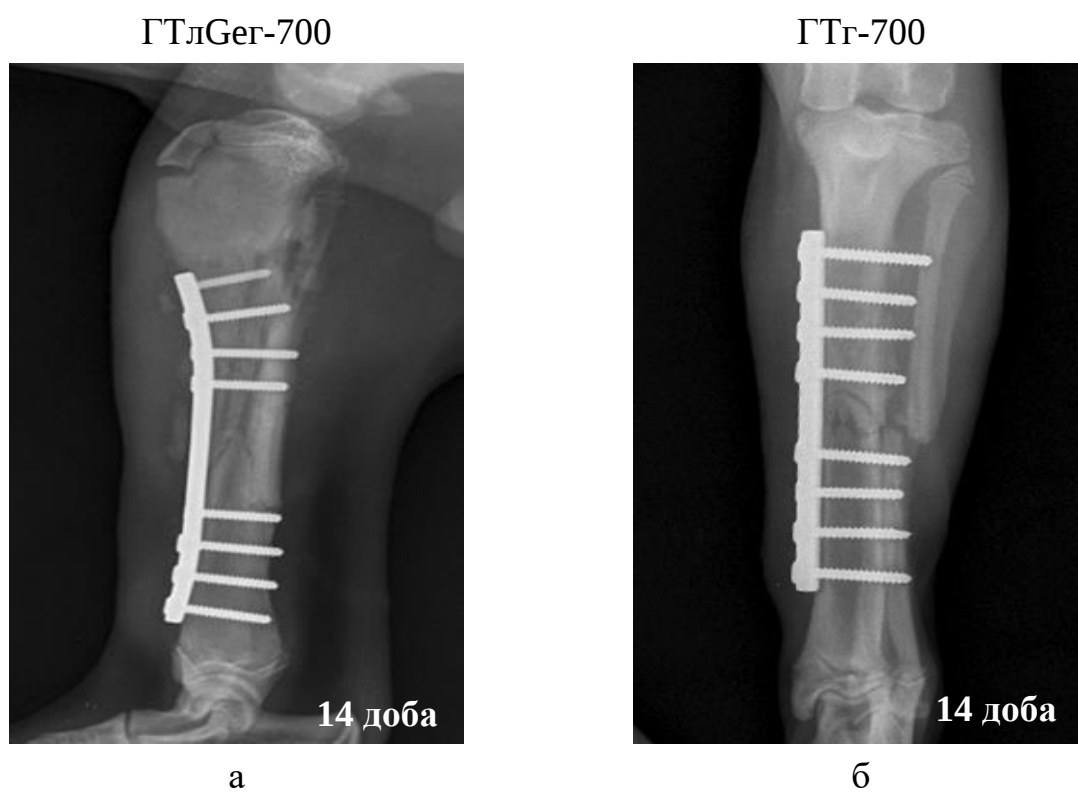


Рис. 5.2. Рентгенограми кісток гомілки собак на 14-у добу консолідації переломів: а – дослідна група; б – контрольна група

У дослідній групі періостальна реакція виявилася більш помірною, регенерат був неоднорідним з ділянками різної рентгенщільності, місце дефекту дещо візуалізувалося.

На 30-у добу (рис. 5.3) в тварин контрольної групи все ще чітко візуалізувалося місце дефекту, що свідчить про відсутність консолидації перелому. Періостальна реакція мала вигляд неоднорідного хмароподібного утворення над поверхнею ділянки кісткової травми. Місце дефекту чітко окреслене. У дослідній групі воно не візуалізувалося, а було виповнене кістковим регенератом з досить високою рентгенщільністю, проксимально від місця кісткової травми відмічали реакцію періосту.

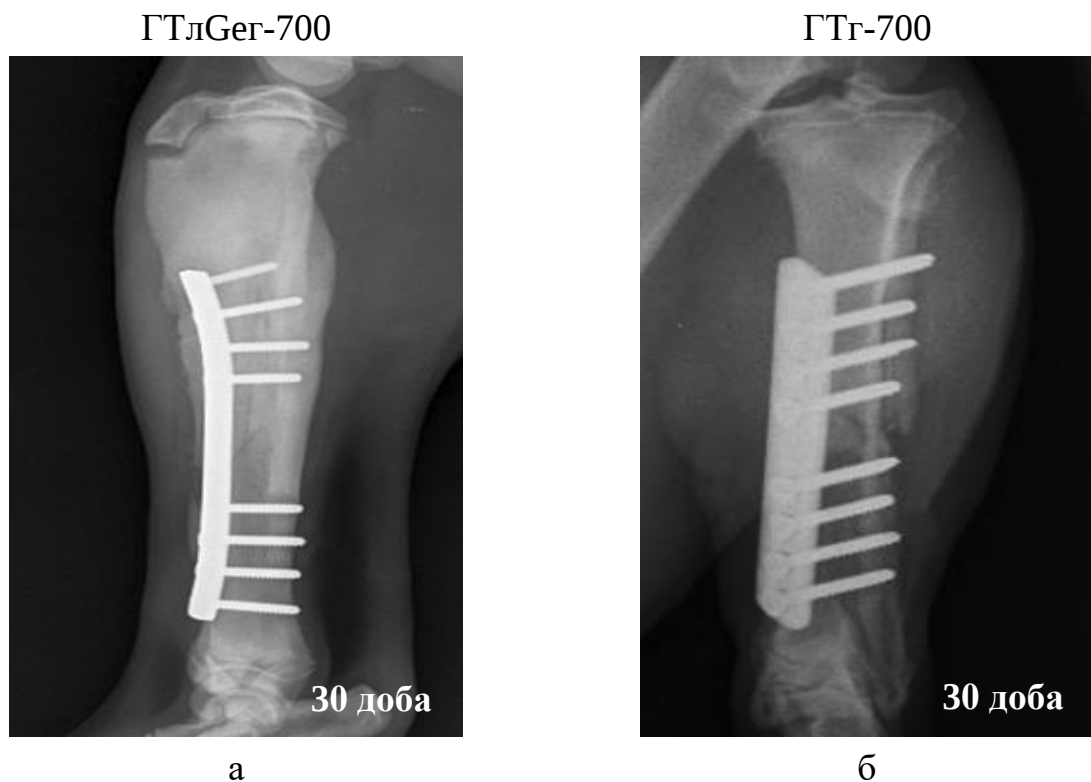
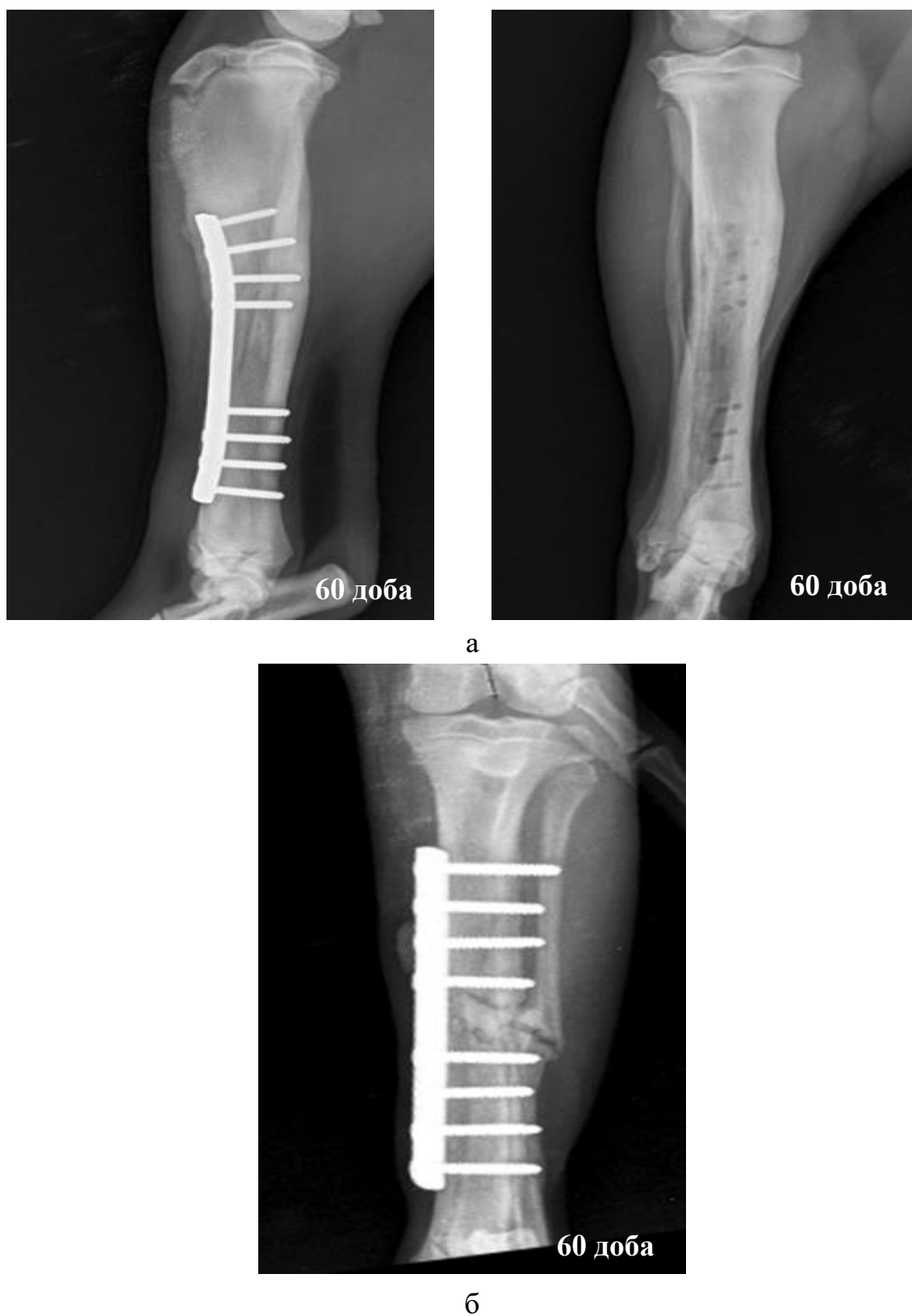


Рис. 5.3. Рентгенограми кісток гомілки собак на 30-у добу консолидації переломів: а – дослідна група; б – контрольна група

На 60-у (рис. 5.4) добу репаративного остеогенезу в тварин дослідної групи відмічали виповнення кісткового дефекту регенератом високої рентгенщільності з відсутньою реакцією періосту, що свідчило про повну консолидацію перелому і було підставою для видалення засобів фіксації.



**Рис. 5.4. Рентгенограми кісток гомілки собак на 60-у добу консолідації переломів: а – дослідна група (ГТлGer-700);
б – контрольна група (ГТГ-700)**

У контрольних тварин у цей термін дослідження в місці травми відмічали кістковий регенерат неоднорідної структури з відносно низькою рентгенщільністю і значним поширенням періостальної реакції проксимально і дистально від місця травми як на великогомілковій, так і малоомілковій кістках. Також чітко візуалізувалася ще не повністю виповнена регенератом ділянка дефекту кісткової тканини.

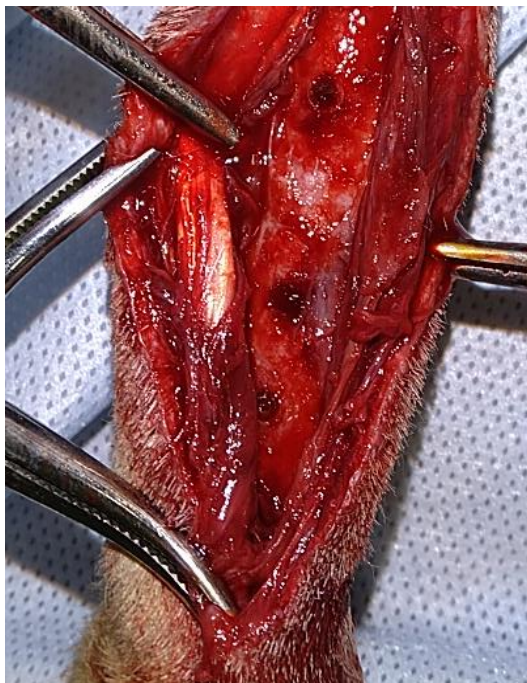
Тваринам контрольної групи, кістковий дефект у яких заміщували нелегованою кальцій-фосфатною керамікою, зняття пластини проводили на 90-у добу дослідження (рис. 5.5).



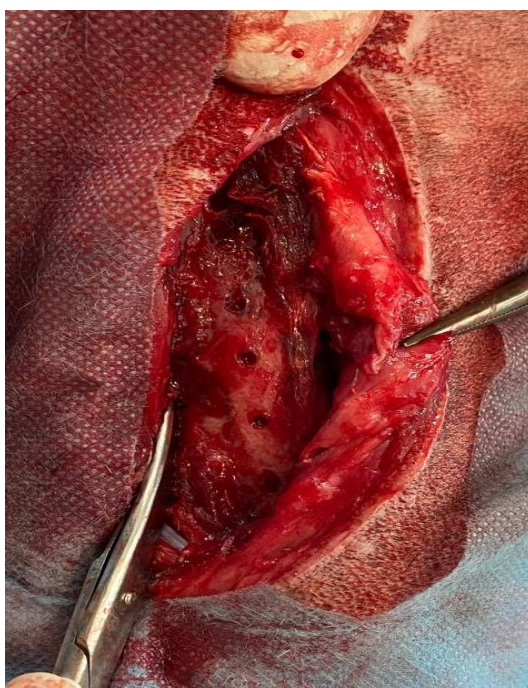
Рис. 5.5. Рентгенограми кісток гомілки собаки контрольної групи (ГТг-700) на 90-у добу консолідації перелому:

а – пряма (дорсо-плантарна) проекція; б – бокова (медіа-латеральна)

Під час оперативного втручання та видалення засобів фіксації у тварин дослідної групи, яким проводили остеозаміщення ГТлГег-700, візуалізували ділянку консолідованого перелому. Вона була повністю монолітною з материнською кісткою (рис. 5.6), а в товщі регенерату проглядалися залишки гранул кераміки. Подібну картину у тварин контрольної групи відмічали лише на 90-у добу. (рис. 5.7).



**Рис. 5.6. Макрокартина ділянки консолидованого перелому кісток
гомілки у собаки дослідної групи на 60-удобу
репаративного остеогенезу**



**Рис. 5.7. Макрокартина ділянки консолидованого перелому кісток
гомілки у собаки контрольної групи на 90-у добу
репаративного остеогенезу**

Отже, у разі використання остеозаміщення ГТлGег-700 за складних осколкових переломів довгих трубчастих кісток у собак рентгенологічно верифіковане повне заміщення кісткових дефектів регенератом встановлене в період 30-ї доби, що супроводжується менш інтенсивним проявом запально-резорбтивних процесів. Це пояснює скорочення в 1,2 раза терміну відновлення функції кінцівки та відображає динамічність репаративного остеогенезу завдяки реалізації встановленим властивостям ГТлGег-700, що в цілому прискорює термін консолідації навіть складних осколкових переломів у 1,5 раза.

5.2. Динаміка гематологічних показників

Встановлення змін гематологічного профілю в динаміці консолідації переломів кісток важливе з кількох позицій. У першу чергу, це передбачає оцінку реакції крові залежно від складності перелому, величини кісткових дефектів, використаних матеріалів і способів остеосинтезу, і на кінець фізико-хімічних характеристик та біологічних властивостей остеозаміщувальних матеріалів. Встановлена динаміка гематологічних показників за модельних переломів і остеозаміщення у кролів не завжди може бути ідентичною, особливо у випадках первинних осколкових переломів, оскільки істотною мірою втрачається архітектоніка кровопостачання не тільки ділянки кісткової травми, а й кісткового сегменту в цілому, можуть бути різними об'єми крововтрати і гематоми, ступінь і характер пошкоджень м'яких тканин, а відповідно інтенсивність запальної та стресс-індукованих реакцій організму.

В зв'язку з цим у ранній посттравматичний період, до 48 год., відмічали (табл. 5.2) зменшення у периферичній крові кількості еритроцитів у 1,2 раза ($p < 0,001$) та гемоглобіну в 1,1 раза ($p < 0,001$), показники яких досягали нижньої межі фізіологічної норми, що, швидше за все, зумовлене в першу чергу посттравматичною кровотечею чи формуванням гематоми. Поряд з цим кількість лейкоцитів, збільшуючись у 1,2 раза ($p < 0,001$), навпаки, досягала верхньої межі фізіологічної норми.

Таблиця 5.2

**Динаміка гематологічних показників у собак за остеозаміщення
кальцій-фосфатною керамікою з різними властивостями**

Доба		Еритроцити, Т/л	Лейкоцити, Г/л	Тромбоцити, Г/л	Гемоглобін, г/л
Норма		5–8,5	8,5–10,5	250–550	110–170
Клінічно здорові, (n=20)		6,7±0,06	8,75±0,09	275±7,81	137±0,8
Після травми, (n=10)		5,5±0,09***	10,51±0,21***	259±3,26	123±1,2***
3	ГТг (n=10)	4,6±0,09***	12,76±0,25****	238±3,19***	110±1,14***
	ГТлГег (n=10)	5,0±0,1****	11,2±0,31***	251±4,37*	125±1,02****
7	ГТг (n=10)	4,7±0,17***	13,32±0,24****	239±5,79***	115±0,93***
	ГТлГег (n=10)	5,2±0,11***	11,79±0,36***	269±7,93**	127±1,29****
14	ГТг (n=10)	5,0±0,11***	13,84±0,11****	261±4,92	119±0,62***
	ГТлГег (n=10)	6,0±0,07****	10,45±0,19***	282±8,41*	130±1,52****
30	ГТг (n=10)	5,4±0,09***	12,51±0,37****	279±4,64	129±0,87***
	ГТлГег (n=10)	6,3±0,11****	9,61±0,26**	280±6,74	137±0,98***
60	ГТг (n=10)	6,0±0,1***	10,42±0,41****	280±9,34	135±0,92
	ГТлГег (n=10)	6,8±0,14***	8,71±0,25	278±6,32	138±0,7**

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

Протягом наступних 7-ми діб ці процеси поглиблювалися в обох групах, але меншою мірою в дослідній. Найбільш виражену еритроцитопенію встановили на 3-ю добу після проведення остеосинтезу та остеозаміщення різною керамікою. При цьому в контрольній групі вона тривала до 30-ї доби – 5,4±0,09 Т/л, а в дослідній уже на 14-у добу кількість еритроцитів 6,0±0,07 Т/л досягала меж фізіологічної норми (5–8,5 Т/л). Протягом усіх термінів дослідження вміст еритроцитів у крові дослідних тварин був у 1,1–1,2 раза (p<0,05–0,001) більшим, ніж у контрольних. Остання закономірність була ідентичною і у разі динаміки концентрації гемоглобіну, яка зменшувалася у контрольній групі. Заразом після травми за остеозаміщення ГТлГег-700 вона не продовжувала зменшуватися, а вже з

3-ої доби динамічно підвищувалася і на 30-у добу досягала рівня клінічно здорових тварин. У контрольній групі, навпаки, олігохромемія поглиблювалася та досягала рівня клінічно здорових тварин лише на 60-у добу.

Досить вираженою у контрольних тварин виявилася і лейкоцитарна реакція (рис. 5.8), яка досягала піку в період 7–14-ої доби, коли кількість лейкоцитів у них була більшою в 1,6 раза ($p < 0,001$), ніж у клінічно здорових тварин. Надалі цей показник мав тенденцію до зниження і на 60-у добу сягав верхньої межі фізіологічної норми ($10,42 \pm 0,41$ Г/л), що однак було в 1,2 раза більше, ніж у дослідних тварин. У групі остеозаміщення ГТлГег-700 зміни лейкоцитарної реакції виявилися менш динамічними з піком на 7-у добу ($11,79 \pm 0,36$ Г/л), досягненням фізіологічних меж на 30-у добу, а рівня клінічно здорових тварин на 60-у добу репаративного остеогенезу. При цьому кількість лейкоцитів у дослідних тварин у всі терміни дослідження виявилася меншою в 1,1–1,3 раза ($p < 0,001$), ніж у контрольних.

Хоча зміни кількості тромбоцитів (рис. 5.9) в обох групах відбувалися в межах фізіологічної норми, однак і тут прослідковувалася певна закономірність. Після остеосинтезу та остеозаміщення в контрольній групі вона зменшувалася в 1,2 раза ($p < 0,001$) в період 3-ої і 7-ої діб, порівняно з клінічно здоровими тваринами, а в дослідній, навпаки, на 7-у добу збільшувалася і вже не мала з останніми достовірної різниці. Заразом у період до 14-ої доби кількість тромбоцитів у дослідній групі в 1,1 раза ($p < 0,05$ – $p < 0,01$) була більшою, ніж у контрольній.

Отже, остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою супроводжується динамічним усуненням еритроцитопенії на 14-у добу, більшим рівнем гемоглобіну з його нормалізацією на 30-у добу та меншою інтенсивністю лейкоцитарної реакції, яка триває лише перші 14 діб репаративного остеогенезу. Водночас певною мірою прослідковується в його ранній період, до 14-ої доби, посилення тромбоцитогенезу.

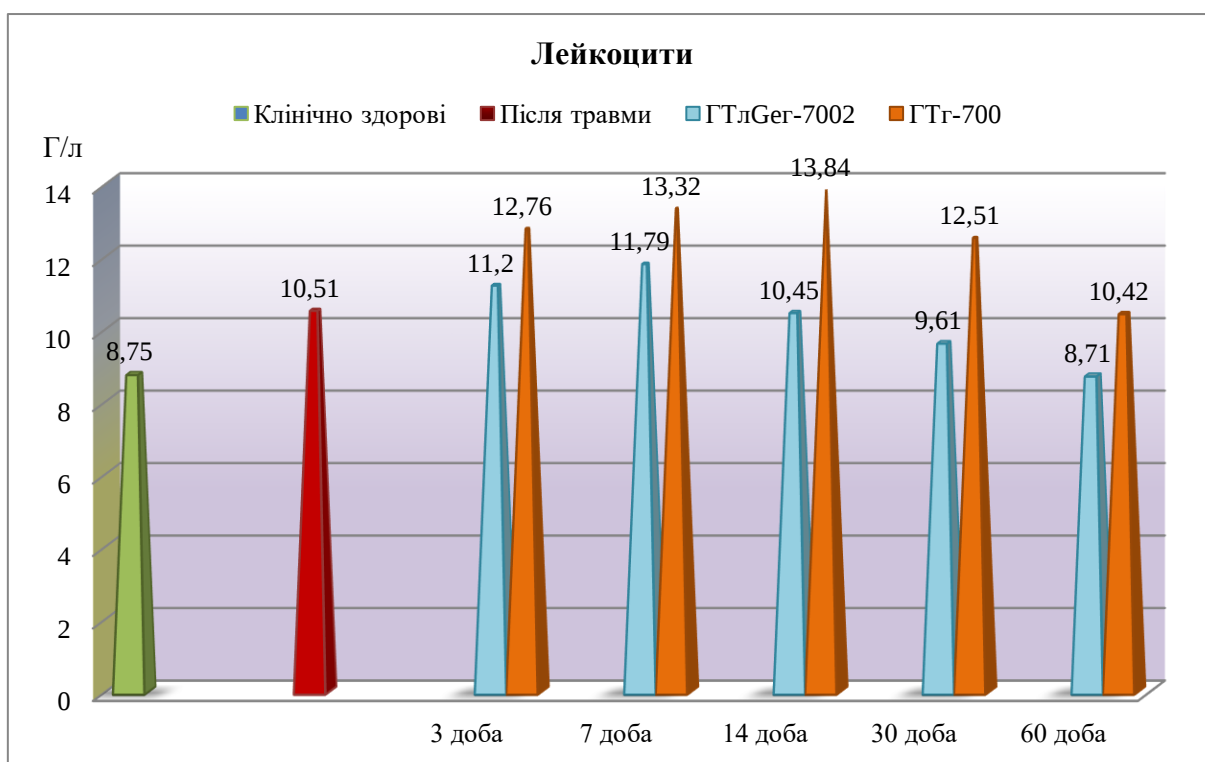


Рис. 5.8. Динаміка кількості лейкоцитів у периферичній крові собак за репаративного остеогенезу

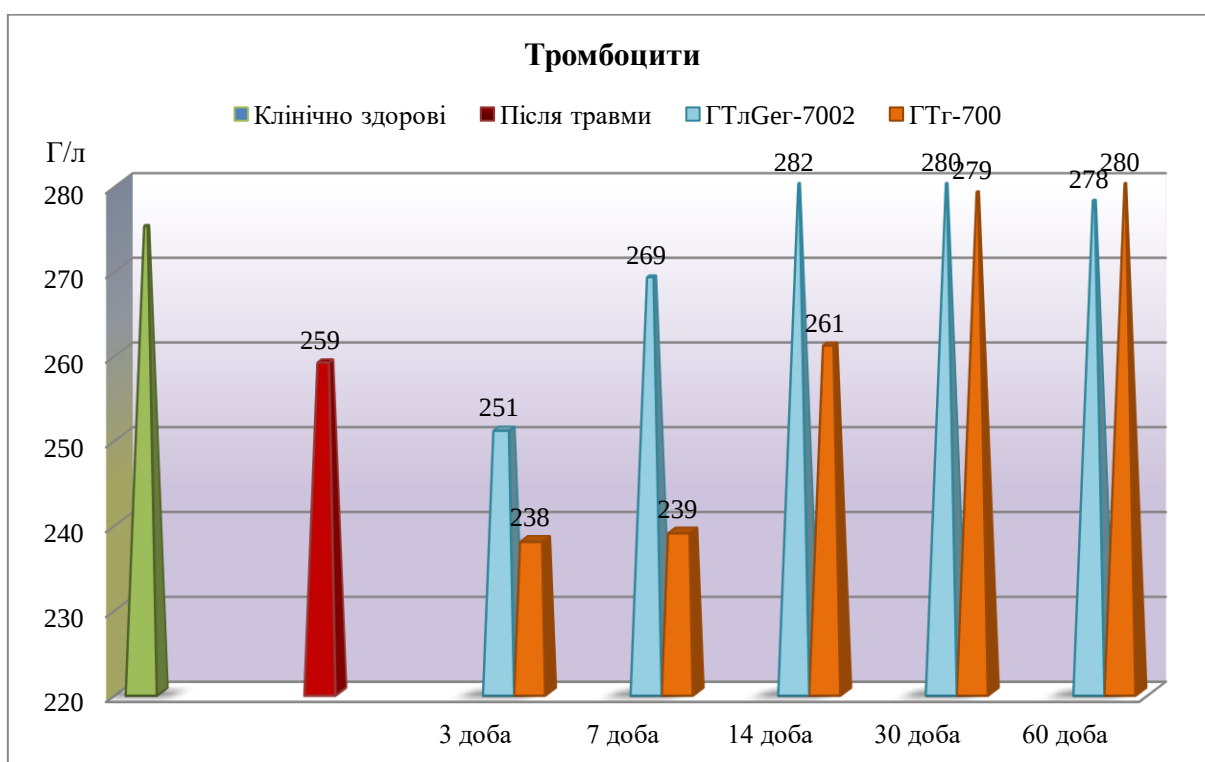


Рис. 5.9. Динаміка кількості тромбоцитів у периферичній крові собак за репаративного остеогенезу

5.3. Динаміка біохімічних показників

Динаміка рівня в сироватці крові собак Са та Р за репаративного остеогенезу виявилася мало інформативною, що узгоджується з результатами попередніх дослідників. Зміни їх рівня протягом усіх термінів дослідження відбувалися у межах фізіологічної норми (Са – 2,3–3,0 ммоль/л; Р – 1,3–1,9 ммоль/л), проте мали деякі відмінності.

Так, уміст Са у сироватці крові собак обох груп після кісткової травми та до 7-ої доби мав тенденцію до зменшення, яке виявилось достовірним у контрольній групі на 7-у добу. В наступному він поступово збільшувався в обох групах. При цьому на 14-у та 30-у добу консолідації переломів у дослідних собак рівень Са був достовірно вищим, ніж у контрольних, у 1,2 ($p<0,05$) та 1,1 рази ($p<0,05$), відповідно. У останніх його вміст з 7-ї по 30-у добу був достовірно нижчим ($p<0,05$ – $p<0,001$) за показники клінічно здорових тварин. Заразом у дослідних тварин у будь-якому разі достовірної різниці з показниками вмісту Са в сироватці крові клінічно здорових тварин не встановлено.

Не було достовірних змін і між показниками вмісту Р протягом усього періоду досліджень. Лише на 14-у добу в контрольній групі його рівень виявився достовірно вищим ($p<0,05$) за показник у клінічно здорових собак.

Водночас досить показовим і схожим до динаміки вмісту Са був індекс Петерсона (рис. 5.10). У клінічно здорових собак він складав 1,9:1, а після кісткової травми – 1,8:1. В подальшому відмічали його зниження в обох групах, але на 7- і 14-у добу в контрольній групі він виявився достовірно меншим у 1,3 рази ($p<0,05$), ніж у клінічно здорових тварин. На 14- і 30-у добу цей показник у дослідній групі досягав рівня клінічно здорових тварин і був більшим, ніж у контрольній, у 1,3 та 1,2 рази ($p<0,001$; $p<0,05$), відповідно.

Отже, в цілому встановлена динаміка вмісту макроелементів та їх співвідношення в сироватці крові свідчить про перерозподіл Са і Р у межах кісткової системи та його більшу інтенсивність за остеозаміщення нелегованою керамікою.

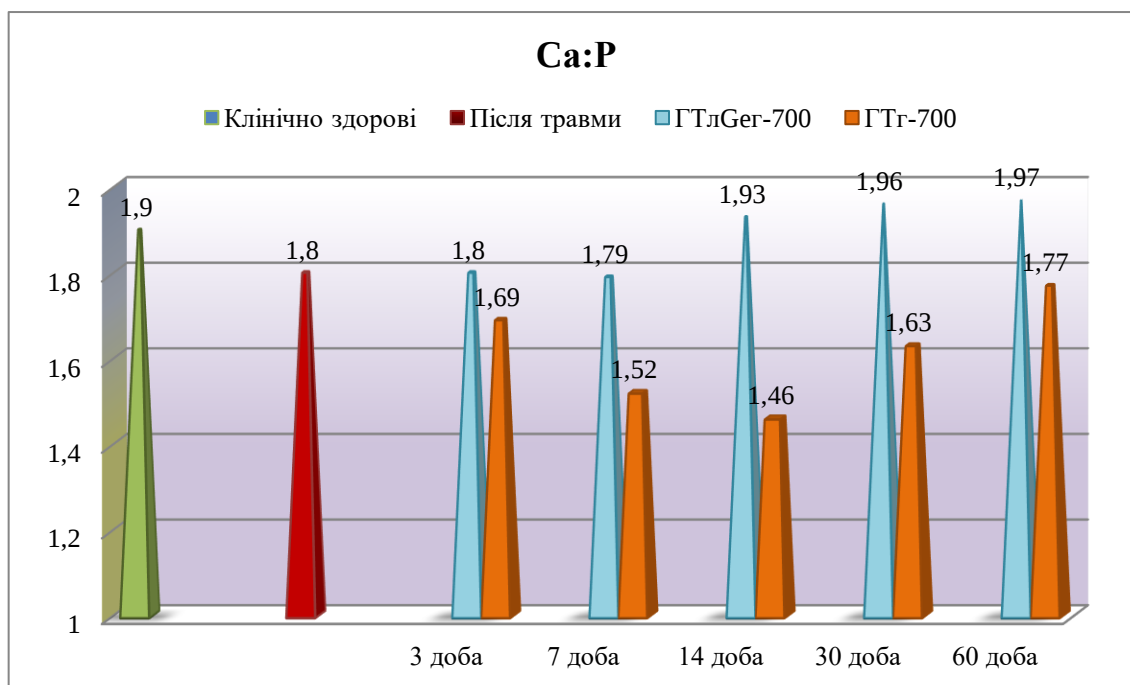


Рис. 5.10. Динаміка індекса Петерсона у собак за остеозаміщення різними кальцій-фосфатними матеріалами

У контрольній і дослідній групах уміст у сироватці крові загального білка знаходився в межах фізіологічної норми. Ні в один із термінів дослідження у дослідних тварин він не має достовірної різниці із показником клінічно здорових тварин. Водночас у тварин контрольної групи з 14-ої по 60-у добу мало місце збільшення концентрації загального білка у порівнянні як з дослідною групою, так і клінічно здоровими тваринами, яке однак не перевищувало 7 % (табл. 5.3).

При цьому зміни рівня альбуміну в сироватці крові травмованих тварин, як негативного реактанта гострої фази, протягом усіх термінів дослідження також відбувалися у межах фізіологічної норми. Спочатку на 3-ю добу консолідації переломів він зменшувався в контрольній групі в 1,2 раза ($p < 0,001$), а у дослідній – в 1,1 раза ($p < 0,001$) за достовірної різниці між групами ($p < 0,05$). Проте далі, на 7-у добу в контрольних тварин його рівень продовжував знижуватися і сягав $33,05 \pm 0,37$ г/л, що було в 1,2 раза нижче, ніж у дослідних собак ($p < 0,001$). У період 14-ї доби концентрація альбуміну в тварин дослідної групи вже не мала достовірної різниці з показником клінічно здорових собак, тоді як у контрольній це мало місце лише на 30-у добу (рис. 5.11).

Таблиця 5.3

Динаміка біохімічних показників за остеозаміщення у собак різними видами кальцій-фосфатної кераміки

Термін дослідження		Са, ммоль/л	Р, ммоль/л	Са:Р	Загальний білок, г/л	Альбумін, г/л	Глобуліни, г/л	А:Г
Клінічно здорові, (n=10)		2,51±0,03	1,32±0,03	1,9±0,16	73,14±0,51	40,74±0,58	32,4±0,21	1,26±0,11
Після травми, (n=10)		2,47±0,14	1,37±0,06	1,8±0,09	73,91±0,6	39,27±0,59	34,64±0,09***	1,13±0,16
3	ГТГ, (n=10)	2,36±0,13	1,4±0,03	1,69±0,18	74,33±0,45	34,18±0,39***	40,15±0,35***	0,85±0,01***
	ГТлGeГ-700, (n=10)	2,47±0,11	1,37±0,1	1,8±0,12	73,95±0,65	37,0±0,69****	36,95±0,19****	1,0±0,11
7	ГТГ, (n=10)	2,25±0,1*	1,48±0,12	1,52±0,06*	74,72±0,46	33,05±0,37***	41,67±0,18***	0,79±0,02***
	ГТлGeГ-700, (n=10)	2,42±0,09	1,35±0,07	1,79±0,14	74,12±0,56	38,92±0,57***	35,2±0,34***	1,11±0,07***
14	ГТГ, (n=10)	2,2±0,07***	1,51±0,07*	1,46±0,04*	77,3±0,63***	35,69±0,61***	41,61±0,28***	0,86±0,15*
	ГТлGeГ-700, (n=10)	2,57±0,14*	1,33±0,11	1,93±0,07***	74,75±0,65*	39,14±0,78**	35,61±0,3***	1,1±0,09
30	ГТГ, (n=10)	2,34±0,05**	1,44±0,09	1,63±0,14	79,11±0,67***	39,22±0,41	39,89±0,41***	0,98±0,2
	ГТлGeГ-700, (n=10)	2,61±0,11*	1,33±0,05	1,96±0,06*	74,0±0,35***	40,32±0,48	33,68±0,26****	1,19±0,02
60	ГТГ, (n=10)	2,48±0,13	1,4±0,07	1,77±0,03	76,0±0,53***	41,0±0,59	35,0±0,16***	1,17±0,12
	ГТлGeГ-700, (n=10)	2,65±0,05	1,34±0,07	1,97±0,11	72,83±0,53***	40,63±0,6*	32,2±0,25***	1,26±0,14

Примітки: 1) значення р: * – <0,05; ** – <0,01; *** – <0,001, порівняно з показниками контрольної групи;

2) р: • – <0,05; •• – <0,01; ••• – <0,001, порівняно з показниками клінічно здорових тварин.

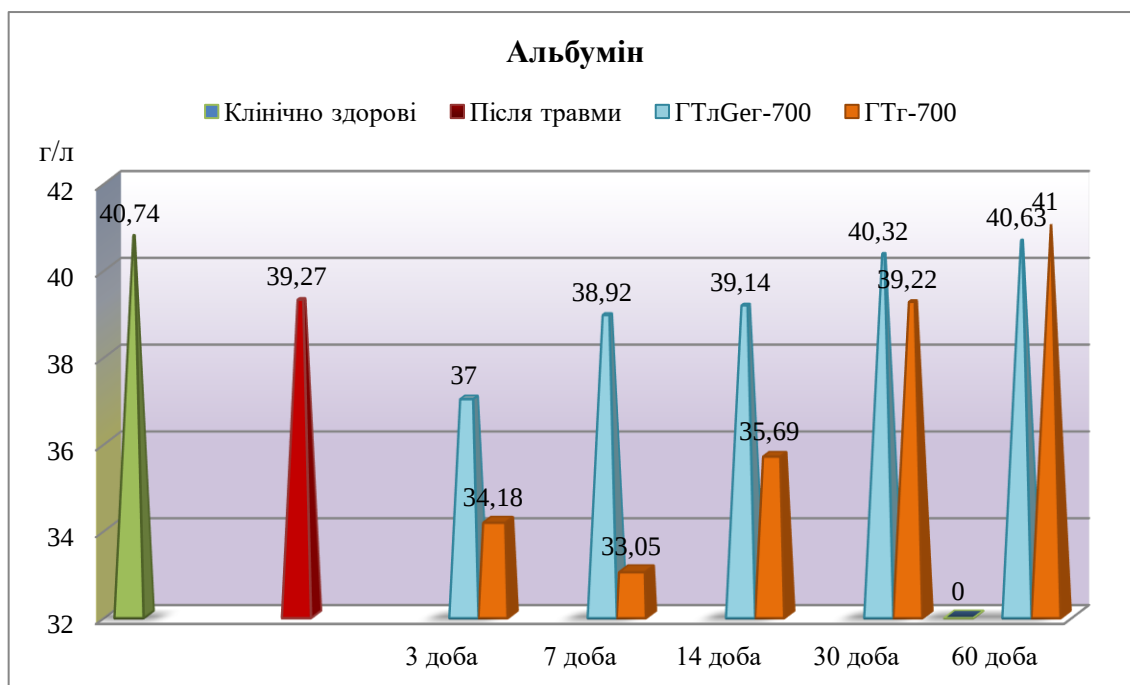


Рис. 5.11. Динаміка рівня альбуміну у периферичній крові собак за остеозаміщення різними кальцій-фосфатними матеріалами

Динаміка вмісту в сироватці крові білків глобулінових фракцій у групах виявилася оберненою до змін рівня альбуміна. Спочатку, за виникнення переломів у тварин рівень глобулінів збільшувався в 1,1 раза ($p < 0,001$) порівняно з показниками клінічно здорових тварин (рис. 5.12). На 3-ю добу після остеосинтезу і остеозаміщення в дослідних тварин він досягав пікового значення – $36,95 \pm 0,19$ г/л, тоді як у контрольних виявився більшим у 1,1 раза ($p < 0,001$). Надалі, якщо у дослідній групі концентрація глобулінів динамічно зменшувалася і на 60-у добу не мала достовірної різниці з показником клінічно здорових тварин, то у контрольній, навпаки, вона збільшувалася і досягала на 7-у добу піку – $41,67 \pm 0,18$ г/л, який утримувався фактично до 30-ї доби. При цьому в усі терміни з 7-ої до 30-ої доби рівень глобулінів у контрольній групі був вищим у 1,2 раза ($p < 0,001$) ніж у дослідній. Навіть на 60-у добу він був більшим у 1,1 раза ($p < 0,001$), ніж у клінічно здорових тварин.

У зв'язку з цим зміни А:Г коефіцієнту (рис. 5.13) виявилися достовірними лише в контрольній групі, в якій у період з 3-ї по 14-у добу він був зменшеним відносно показника клінічно здорових тварин у 1,5–1,6 раза ($p < 0,05$ – $0,001$), а щодо дослідних – у 1,4 раза ($p < 0,001$) на 7-у добу.

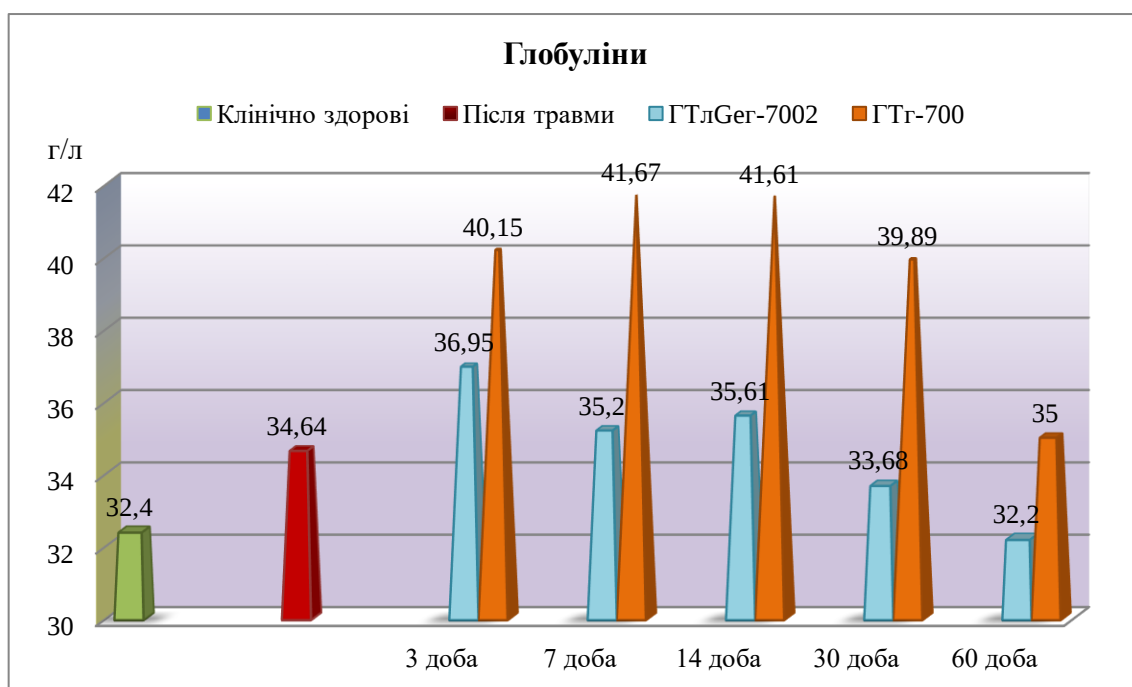


Рис. 5.12. Динаміка рівня глобулінів у периферичній крові собак за остеозаміщення різними кальцій-фосфатними матеріалами

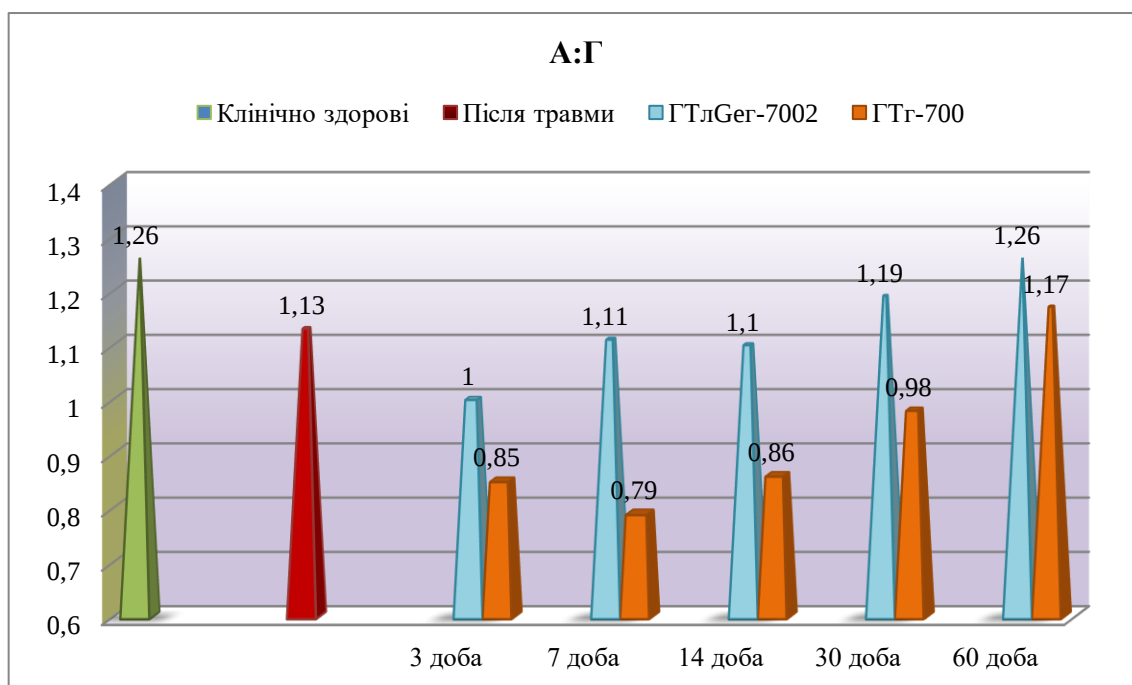


Рис. 5.13. Динаміка А:Г співвідношення у периферичній крові собак за остеозаміщення різними кальцій-фосфатними матеріалами

Отже, за сукупністю змін показників білкової картини крові остеозаміщення ГТЛГег-700 супроводжується переважно посиленням синтезу транспортного білка альбуміну, що забезпечує інтенсивність метаболічних процесів в умовах репаративного остеогенезу.

Активність протеїну С (рис. 5.14), як провідного природного антикоагулянта, мала тенденцію до зниження вже у ранній посттравматичний період. Далі вона поглиблювалася, досягаючи в контрольній групі мінімального значення щодо рівня здорових собак на 7-у добу (зменшення в 2,1 раза, $p < 0,001$), а у дослідній – лише на 3-ю добу (зменшення в 1,4 раза, $p < 0,001$) (табл. 5.4). При цьому на 3-ю добу його активність у дослідній групі була вищою в 1,3 раза ($p < 0,001$), а на 7-у добу – вдвічі ($p < 0,001$), порівняно з контрольною. В наступному, на 14-у добу в дослідних тварин активність протеїну С нормалізувалася, що у контрольних тварин набувало тенденцію лише з 30-ої доби, і тільки на 60-у добу вона не мала достовірної різниці з клінічно здоровими тваринами.

Отже, за остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою має місце лише короткочасна, в ранньому післяопераційному періоді, помірна втрата антикоагулянтного потенціалу крові, який відновлюється вже на 14-у добу.

Зміни концентрації в сироватці крові білка гострої фази і одночасно антиоксиданта церулоплазміну (рис. 5.15) виявилися односпрямованими і достовірними протягом усіх термінів дослідження. При чому в дослідній групі підвищення його вмісту було більш помірним. Так, загалом у всіх тварин він збільшився після травми в 1,1 раза ($p < 0,001$) щодо показника клінічно здорових тварин. На 3-тю добу репаративного остеогенезу концентрація церулоплазміну в контрольних собак досягала пікових значень і була збільшеною в 1,2 раза ($p < 0,001$). У наступні терміни його концентрація в сироватці крові виявилася більшою в 1,1 раза ($p < 0,001$) у контрольних тварин, ніж у дослідних, у яких вона нормалізувалася до 60-ї доби. Тобто реакція гострої фази за імплантації ГТЛГег-700 більш помірна і суттєво коротша у часі.

Таблиця 5.4

**Динаміка біохімічних показників за остеозаміщення у собак
різними видами кальцій-фосфатної кераміки**

Термін дослідження		Протеїн С, НВ	НО, ммоль/л	Церулоплазмін, мг/л	ЦІК, ум.од.	
					великомолекулярні	дрібномолекулярні
Клінічно здорові, (n=10)		1,38±0,05	26,11±0,54	87,72±0,33	8,1±0,48	18,3±0,42
Після травми, (n=10)		1,32±0,08	30,0±0,41 ^{***}	95,35±0,68 ^{***}	8,7±0,45	20,1±0,46 ^{**}
3	ГТг, (n=10)	<u>0,76±0,04^{***}</u>	<u>30,31±0,4^{***}</u>	<u>115,41±0,8^{***}</u>	<u>9,0±0,37</u>	<u>31,7±0,78^{***}</u>
	ГТлGeг, (n=10)	1,0±0,04 ^{****}	33,58±0,29 ^{****}	100,34±0,6 ^{****}	8,7±0,42	24,8±0,61 ^{****}
7	ГТг, (n=10)	<u>0,65±0,04^{***}</u>	<u>32,73±0,37^{***}</u>	<u>112,14±0,94^{***}</u>	<u>9,6±0,45[*]</u>	<u>33,4±0,58^{***}</u>
	ГТлGeг, (n=10)	1,27±0,07 ^{***}	38,98±0,26 ^{****}	100,91±0,8 ^{****}	9,0±0,47	25,6±0,69 ^{****}
14	ГТг, (n=10)	<u>0,85±0,06^{***}</u>	<u>34,64±0,42^{***}</u>	<u>110,23±1,05^{***}</u>	<u>9,4±0,52</u>	<u>37,8±0,61^{***}</u>
	ГТлGeг, (n=10)	1,4±0,03 ^{***}	36,11±0,26 ^{****}	101,85±1,08 ^{****}	8,5±0,54	26,0±0,31 ^{****}
30	ГТг, (n=10)	<u>1,11±0,05^{***}</u>	<u>37,47±0,79^{***}</u>	<u>102,64±1,06^{***}</u>	<u>9,3±0,47</u>	<u>34,8±0,76^{***}</u>
	ГТлGeг, (n=10)	1,34±0,05 ^{**}	34,16±0,38 ^{****}	93,41±0,79 ^{****}	8,0±0,39 ^{**}	22,1±0,72 ^{****}
60	ГТг, (n=10)	<u>1,22±0,07</u>	<u>35,01±0,51^{***}</u>	<u>97,53±0,629^{***}</u>	<u>8,3±0,45</u>	<u>21,4±0,56^{***}</u>
	ГТлGeг, (n=10)	1,39±0,05	27,07±0,55 ^{***}	88,09±0,7 ^{***}	8,1±0,41	17,9±0,48 ^{***}

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

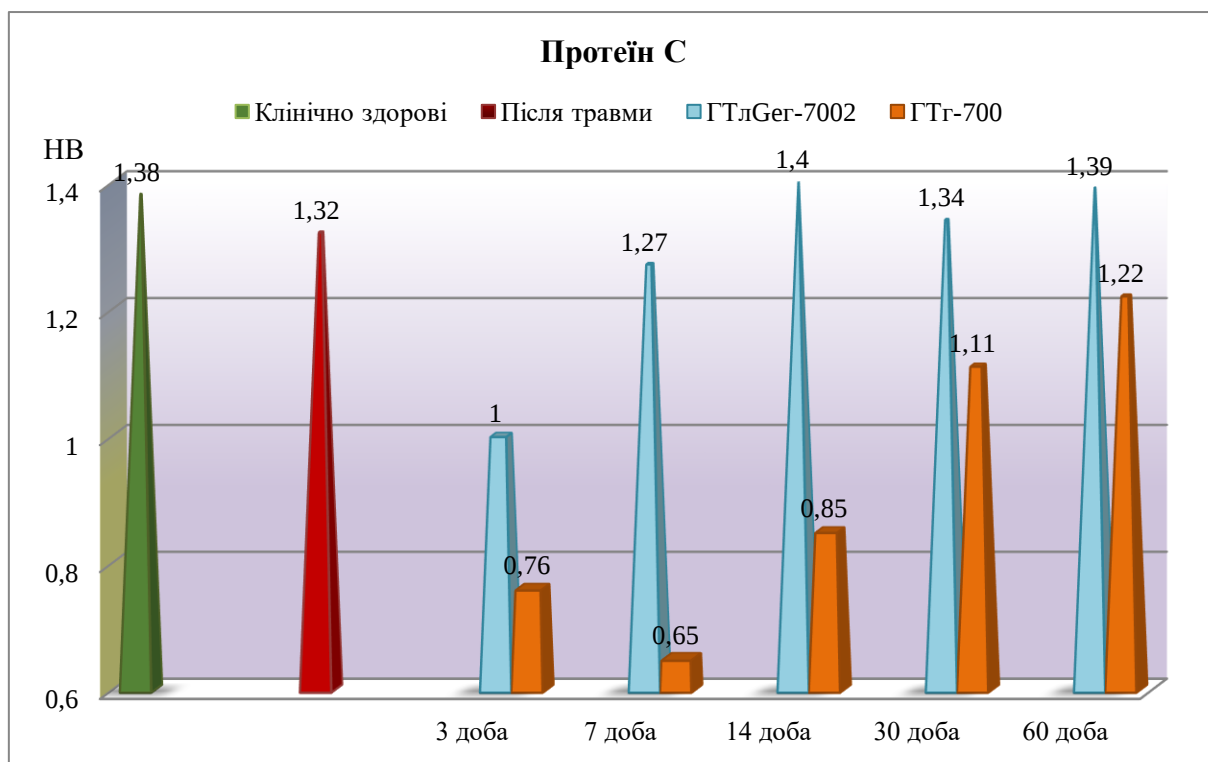


Рис. 5.14. Динаміка рівня протеїну С у периферичній крові собак за остеозаміщення різними кальцій-фосфатними матеріалами

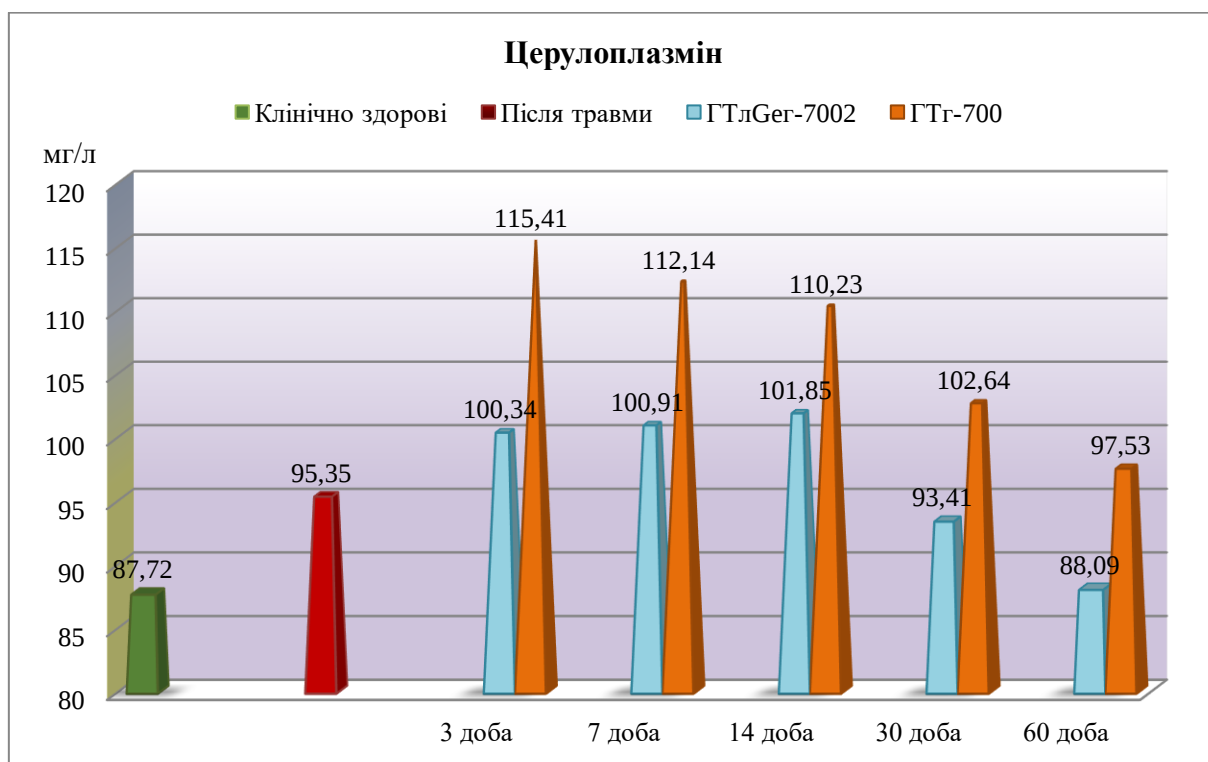


Рис. 5.15. Динаміка концентрації церулоплазміну у периферичній крові собак за остеозаміщення різними кальцій-фосфатними матеріалами

Зміни рівня в сироватці крові великомолекулярних ЦІК протягом усього терміну досліджень у тварин обох груп не мали достовірної різниці, за виключенням 30-ї доби після остеосинтезу та остеозаміщення ГТг-700, коли його показник у контрольних тварин виявився у 1,2 раза ($p < 0,001$) вищим, ніж у дослідних тварин. Проте рівень дрібномолекулярних ЦІК динамічно змінювався. Так, після травми він збільшувався в 1,1 раза ($p < 0,001$), а у подальшому досягав піку в контрольній і дослідній групах на 14-у добу за збільшення їх показників у 2,1 та в 1,4 раза ($p < 0,001$), відповідно, з нормалізацією рівня дрібномолекулярних ЦІК у дослідній групі на 60-у добу. При чому в решти термінів у контрольній групі він виявився в 1,2–1,6 раза ($p < 0,001$) більшим, ніж у дослідній групі (рис. 5.16).

Отже, за репаративного остеогенезу довгих трубчастих кісток за умов остеосинтезу та остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою має місце посилена реакція імунокомплексоутворення, певним чином за рахунок дрібно молекулярних ЦІК, але у випадку використання легованої германієм кераміки вона більш помірна.

Рівень оксиду азоту, як біохімічного маркера ендотеліальної функції, динамічно підвищувався в обох групах уже на 3-ю добу після перелому в 1,1 раза ($p < 0,001$). Водночас з 3-ої доби (рис. 5.17) репаративного остеогенезу в дослідній групі його концентрація була збільшеною вже в 1,3 раза ($p < 0,001$) щодо рівня NO в клінічно здорових тварин, досягаючи пікового значення на 7-му добу із його достовірним коливанням (підвищення в 1,5 раза) на 14-у та 30-у добу і нормалізацією на 60-у. У контрольних тварин максимальну концентрацію NO реєстрували лише на 30-у добу досліджень з її збільшенням у 1,4 раза ($p < 0,001$) щодо його рівня у клінічно здорових тварин.

Отже, за остеозаміщення ГТг-700 в контрольній групі спостерігається певна закономірність щодо підвищення рівня в крові NO з 7-ї до 60-ої доби з піком на 30-у добу, а за остеозаміщення ГТлGег-700 – з 3-ої до 30-ої з піком на 7-у добу, що свідчить про ранню та більш інтенсивну ендотеліальну реакцію і, відповідно, про формування умов для неоангіогенезу.

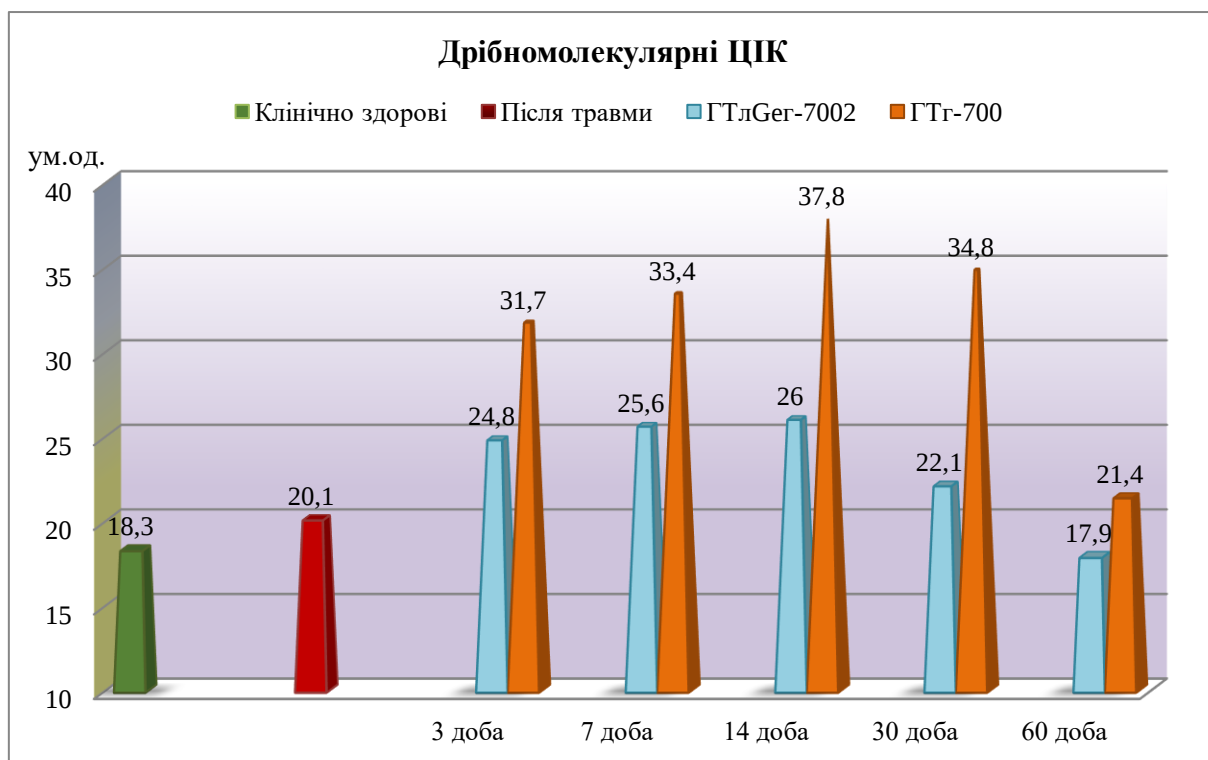


Рис. 5.16. Динаміка рівня дрібномолекулярних ЦІК у периферичній крові собак за остеозаміщення різними кальцій-фосфатними матеріалами

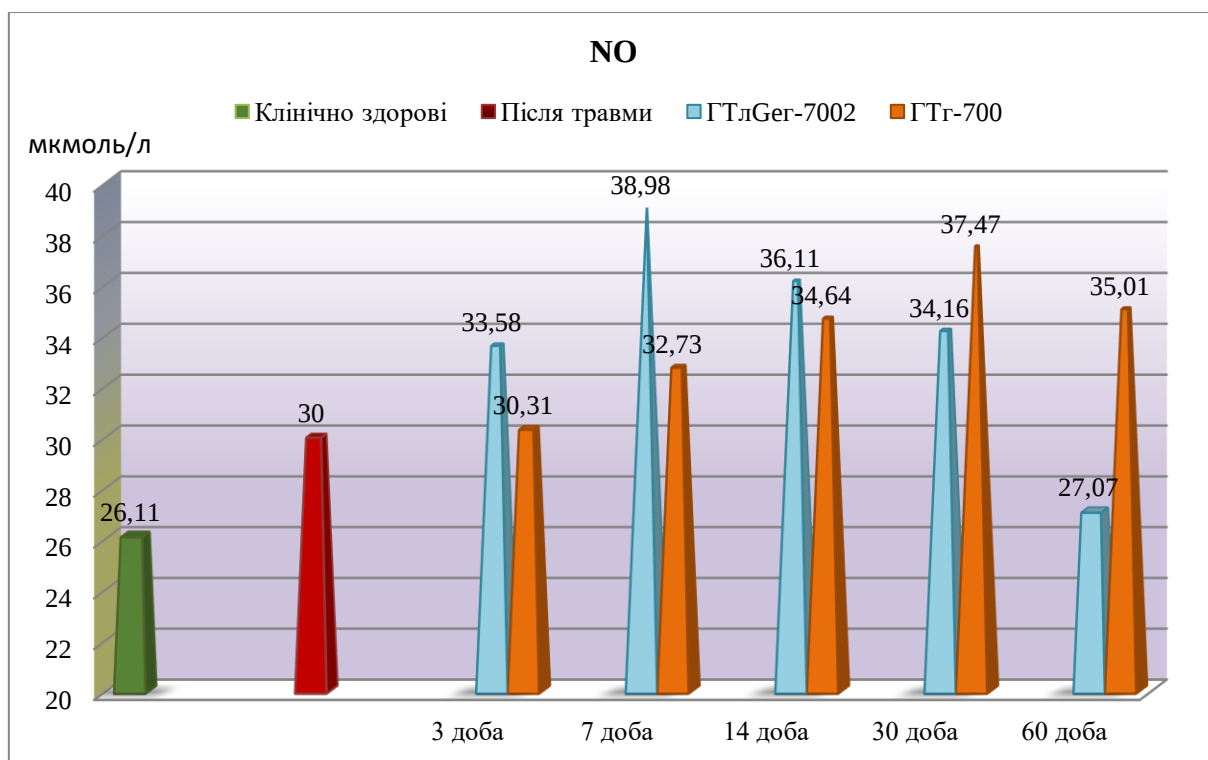


Рис. 5.17. Динаміка рівня оксиду азоту у периферичній крові собак за остеозаміщення різними кальцій-фосфатними матеріалами

5.4. Динаміка біохімічних маркерів кісткового метаболізму

Встановлено динамічні зміни маркерів кісткового метаболізму відповідно до стадій репаративного остеогенезу. Зокрема, рівень загальної лужної фосфатази у дослідній групі, починаючи із 3-ї доби, різко підвищувався з піком на 14-у, а далі знижувався та наближався до норми на 60-у добу репаративного остеогенезу. В контрольній групі її активність повільно підвищувалася з піком на 30-у добу репаративного остеогенезу. При цьому на 14-у добу показник ЗЛФ у дослідних тварин складав $58,3 \pm 0,33$ од./л, що у 1,2 раза ($p < 0,001$) було вищим за показник у тварин контрольної групи та у 1,3 раза ($p < 0,001$) відносно клінічно здорових тварин. На 60-у добу репаративного остеогенезу рівень ЗЛФ у дослідних тварин сягав $44,1 \pm 0,83$ од./л, що у 1,1 раза ($p < 0,001$) нижче за показник контрольних тварин (табл. 5.5).

Таблиця 5.5

Динаміка біохімічних маркерів кісткового метаболізму за остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою у собак

Термін дослідження, доба		Маркери кісткового метаболізму		
		ЗЛФ, од./л	КіЛФ, од./л	ТрКФ, од./л
Клінічно здорові, (n=10)		$43,7 \pm 0,21$	$25,7 \pm 0,6$	$22,1 \pm 0,36$
Після травми, (n=10)		$47,0 \pm 0,49 \dots$	$27,1 \pm 0,42$	$24,0 \pm 0,49 \dots$
3	$\frac{\Gamma\text{Тг (n=10)}}{\Gamma\text{ТлGer (n=10)}}$	$\frac{49,1 \pm 0,26 \dots}{50,4 \pm 0,42^{*} \dots}$	$\frac{33,6 \pm 0,35 \dots}{35,9 \pm 0,24^{***} \dots}$	$\frac{24,9 \pm 0,69 \dots}{26,7 \pm 0,46^{*} \dots}$
7	$\frac{\Gamma\text{Тг (n=10)}}{\Gamma\text{ТлGer (n=10)}}$	$\frac{50,3 \pm 0,36 \dots}{53,5 \pm 0,24^{***} \dots}$	$\frac{34,0 \pm 0,46 \dots}{38,7 \pm 0,19^{***} \dots}$	$\frac{25,3 \pm 0,27 \dots}{29,5 \pm 0,43^{***} \dots}$
14	$\frac{\Gamma\text{Тг (n=10)}}{\Gamma\text{ТлGer (n=10)}}$	$\frac{50,9 \pm 0,49 \dots}{58,3 \pm 0,33^{***} \dots}$	$\frac{34,7 \pm 0,35 \dots}{41,7 \pm 0,43^{***} \dots}$	$\frac{26,4 \pm 0,45 \dots}{33,8 \pm 0,31^{***} \dots}$
30	$\frac{\Gamma\text{Тг (n=10)}}{\Gamma\text{ТлGer (n=10)}}$	$\frac{56,2 \pm 0,55 \dots}{54,7 \pm 0,64 \dots}$	$\frac{40,9 \pm 0,48 \dots}{33,5 \pm 0,39^{***} \dots}$	$\frac{34,9 \pm 0,25 \dots}{28,5 \pm 0,37^{***} \dots}$
60	$\frac{\Gamma\text{Тг (n=10)}}{\Gamma\text{ТлGer (n=10)}}$	$\frac{50,3 \pm 0,49 \dots}{44,1 \pm 0,83^{***}}$	$\frac{32,6 \pm 0,49 \dots}{26,3 \pm 0,37^{***}}$	$\frac{30,0 \pm 0,21 \dots}{23,4 \pm 0,35^{***}}$

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

Починаючи з 7-ї доби після проведення накісткового остеосинтезу, відмічали достовірне підвищення активності кісткового ізоферменту лужної фосфатази (рис. 5.18) як у дослідній, так і в контрольній групах. Проте максимальна активність КіЛФ у дослідній групі спостерігалася на 14-у добу репаративного остеогенезу і складала $41,7 \pm 0,43$ од./л, що в 1,2 раза ($p < 0,001$) було вищим за показник контрольної групи. Натомість, у останній групі пік активності кісткового ізоферменту відмічали лише на 30-у добу ($40,9 \pm 0,48$ од./л), тоді як показник дослідних тварин у цей термін динамічно зменшувався ($33,5 \pm 0,39$ од./л) з нормалізацією до 60-ї доби досліджень.

Водночас активність тартрат-резистентної кислої фосфатази (рис. 5.19), як маркера резорбції кісткової тканини, в обох групах починаючи з 3-ї доби мала тенденцію до збільшення. Вже на 14-у добу дослідження у тварин дослідної групи спостерігали пік активності ТрКФ ($33,8 \pm 0,31$), що у 1,3 раза ($p < 0,001$) було вищим за її рівень у контрольних та у 1,5 раза ($p < 0,001$) – у клінічно здорових тварин. На 30-у добу досліджень відмічали зниження рівня ТрКФ у дослідній групі в 1,2 раза ($p < 0,001$) порівняно з контрольною, у якій у цей термін цей показник досягав пікових значень і складав $34,9 \pm 0,25$ од./л. На 60-у добу досліджень в обох групах спостерігали достовірне зниження рівня ТрКФ.

В додатку подано розширену кількість клінічних результатів використання остеозаміщення ГТлГеґ-700 за травматичних (додаток А1–А2) і вторинних (остеопоротичних) (додаток Б1–Б8) переломів довгих трубчастих кісток у собак.

Легування кальцій-фосфатної кераміки іонами германію може надати їй нових властивостей, змінити характер молекулярно-біологічної взаємодії з кістковою тканиною та надати керамічним імплантам остеоіндуктивних, антибактеріальних, імуномодельючих і протипухлинних властивостей.

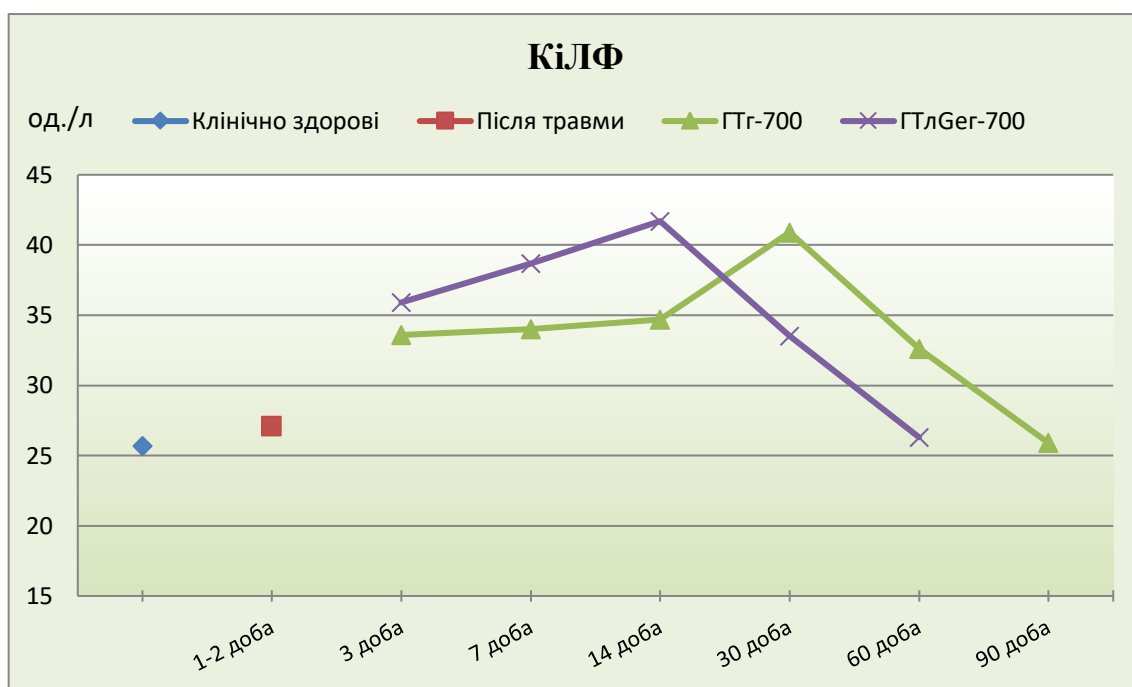


Рис. 5.18. Активність кісткового ізоферменту лужної фосфатази в динаміці репаративного остеогенезу в собак дослідної та контрольної груп

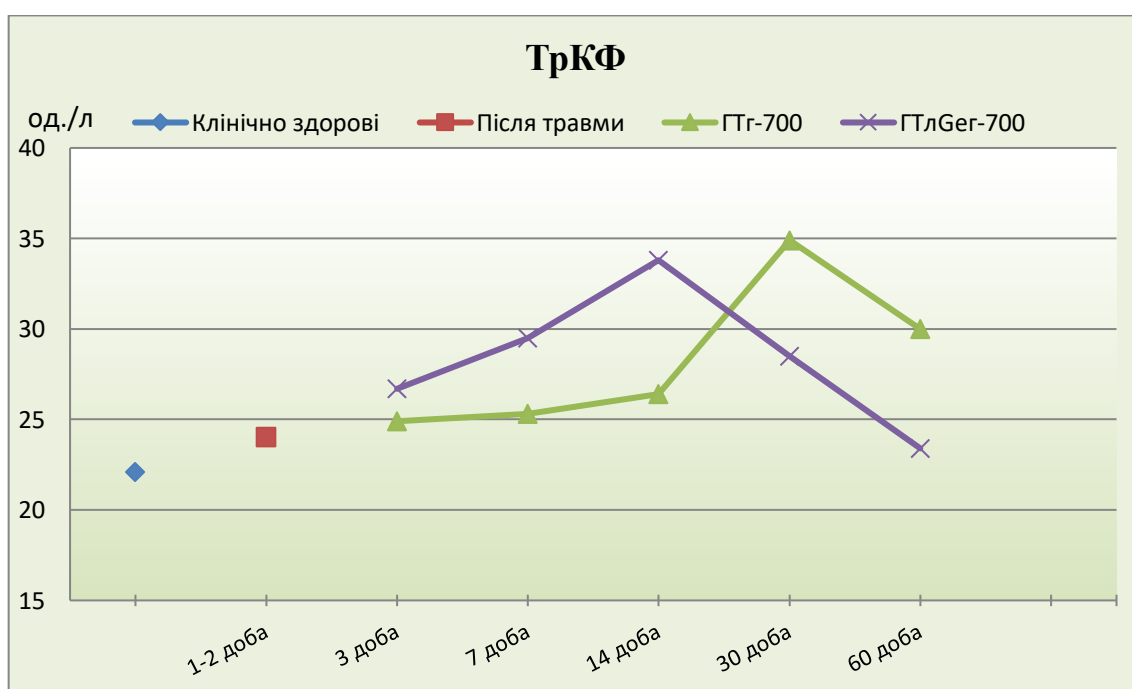


Рис. 5.19. Активність тартрат-резистентної кислій фосфатази в динаміці репаративного остеогенезу в собак дослідної та контрольної груп

За результатами представлених досліджень використання гідроксиапатитної кераміки, легованої германієм, супроводжується помірним перебігом запально-резорбтивної фази репаративного остеогенезу. Зокрема, в тварин дослідної групи на 30-у добу відмічали наявність сформованого регенерату високої щільності і незначну реакцію періосту. Водночас у цей період композитний матеріал починає резорбуватися, тобто втрачає свою структурованість і щільність. Більш ранніми за використання гідроксиапатитних імплантів, легованих германієм, виявилися і процеси посттравматичного ремоделювання кісткової тканини.

За використання легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки репаративний остеогенез максимально наближається до фізіологічної регенерації за первинним натягом. Підтвердженням цьому є динаміка біохімічних маркерів кісткового метаболізму, яка відображає ранню та інтенсивну остеобластичну реакцію і швидкоплинну запально-резорбтивну.

Отже, вперше клініко-експериментально обгрунтоване остеозаміщення ГТлГег-700 за складних осколкових переломів у собак, встановлена динаміка низки біохімічних показників, що характеризують реакцію гострої фази, ендотеліальну та антикоагулянтну функції, ступінь імунно-комплексоутворення, які певною мірою відображають встановлену клініко-рентгенологічну ефективність остеозаміщення леговою германієм кальцій-фосфатною керамікою за переломів кісток у собак.

Матеріали розділу опубліковані в наступних працях [240, 319].

РОЗДІЛ 6

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Складними та найбільш частими наслідками травм опорно-рухового апарату вважаються переломи кісток, основною причиною яких є дія різного роду травмуючих факторів, а їх лікування залежно від анатомо-функціональних особливостей травмованої ділянки, типу перелому та його біомеханічних характеристик, стану кісткового метаболізму. У тварин-компаньйонів найчастіше – це травматичні переломи чи навіть спонтанні переломи ідіопатичного походження. Сприяючими факторами цьому є метаболічні, гормональні і генетичні порушення та патологічні процеси у кістковій тканині (остеомієліт, карієс, неоплазії кісток) [2, 37, 49]. Зменшення міцності кісток і збільшення ризиків їх переломів може бути пов'язане з атрофічними змінами кісткової тканини внаслідок порушення нервової трофіки (парези, паралічі нервів тощо) [6]. Одним із факторів ризику зазначеної патології також є і системний остеопороз [31, 32, 56, 109, 190, 228]. Порушення процесів регенерації кісткової тканини та ризики нестабільної фіксації уламків, пов'язані зі змінами структурно-функціонального стану кісткової тканини нерідко призводять до уповільненої консолидації з подальшим стійким незрощенням кісток, утворенням несправжнього суглоба тощо [9, 126].

Серед травм локомоторного апарату в тварин-компаньйонів досить велику частку – 25–60 %, займають осколкові переломи довгих трубчастих кісток, які є найбільш складними і потребують комплексного підходу в лікуванні, оскільки їх консолидація у 7–32 % випадків ускладнюється різними формами незрощень, псевдосуглобами, контрактурами чи остеомієлітами. Заразом у 16,8 % собак етіологічним чинником переломів трубчастих кісток є остеопоротичні зміни кісткової тканини [2, 40–42, 44, 45, 48–50].

Кісткові дефекти, які виникають за складних осколкових переломів, зумовлюють збільшення кількості післяопераційних ускладнень, розлади

статико-динамічної функції травмованої кінцівки і навіть зміни загального стану організму тварини в цілому. У разі наявності значного діастазу між кістковими уламками ні один із способів остеосинтезу не може відновити регенеративний потенціал кісткової тканини. Як наслідок, у низці клінічних випадків для повноцінного відновлення структури і функції кістки виникає необхідність у застосуванні додаткових засобів для стимуляції репаративного остеогенезу [9, 48, 176]. При цьому активація остеогенезу може бути досягнута шляхами остеобластного, остеоіндуктивного, стимульованого чи остеокондуктивного остеосинтезу [2]. З цією метою, у першу чергу, використовують остеозаміщувальні матеріали, кожен із яких має певні механічні, біологічні та фізико-хімічні характеристики і особливості взаємодії з кістковою тканиною [2, 5, 69, 72–75]. Ці матеріали повинні володіти наступними характеристиками: ідеальною біологічною сумісністю, здатністю до поступової резорбції та заміщення кістковою тканиною, безпосередньою остеointegraцією та остеоіндукцією. Вони не повинні викликати імунну відповідь організму [2, 73, 272, 273].

Поряд з хірургічними методами оптимізації консолідації переломів кісток для усунення травматичного ендотоксикозу, надмірного рівня продукції медіаторів запального процесу та гіперкоагуляційного стану, особливо за ускладнених переломів і остеосинтезу, як додаткового травмуючого фактора, для раннього відновлення мікроциркуляції та гемодинаміки в зоні пошкодження, покращення енергетичного обміну, нейроендокринної та імунологічної регуляції, забезпечення прискорення процесів мінералізації кісткового регенерату та його ремоделювання важливе значення має фармакологічна та фізіотерапевтична корекція. Однак вони не можуть компенсувати дефіцит кісткової тканини у разі осколкових переломів.

Консолідація як високоенергетичних переломів, так і остеопоротичних (спонтанних) фрактур перебігає в умовах дисрегенерації.

Ключовими ланцюгами остеорепаративного процесу є резорбція через запалення пошкодженої тканини, диференціювання клітин, їх проліферація та утворення нової кістки (ідентичної неушкодженій ділянці) з її ремоделюванням під дією біомеханічних факторів, формування органічного позаклітинного матриксу, його мінералізація [2, 83, 320].

Дисбаланс у взаємозв'язку цих ланцюгів на одній чи одразу кількох стадіях репаративного остеогенезу призводить до порушення загоєння кісткової травми. Більшість причин сповільнення зрощення чи незрощення переломів пов'язані з початковою стадією регенерації, під час якої можливий «біологічний збій» генетично закладеної програми відновлення тканин, але й на подальших стадіях можливе виникнення порушень формування кісткового регенерату.

На морфофункціональний стан кісткової тканини до та після травми суттєвий вплив мають вікові зміни, особливості годівлі, нестача вітамінів, макро- і мікроелементів тощо. Сповільнення репаративних процесів із віковими змінами пов'язане зі зменшенням кількості клітин-попередників у кістковому мозку та зниженням їх проліферативної й остеобластичної активності. Як наслідок, знижується біосинтез колагену та порушується процес утворення колагенових волокон у міжклітинному середовищі. Також уповільнюється синтез протеогліканів, змінюється кристалічна та аморфна структура кісткової тканини, знижується рівень кісткового метаболізму – Gla-білка та лужної фосфатази, що, у свою чергу, значно впливає на швидкість утворення компонентів кісткового регенерату [75, 108, 132].

На швидкість формування регенерату та його мінералізацію впливають дефіцит кальцію, фосфору та білків. Дефіцит вітаміну А призводить до сповільнення формування остеїду остеобластами, вітаміну С – до порушення формування колагену та утворення міжклітинної речовини. Дефіцит вітаміну D₃ має прямий вплив на метаболічні процеси та диференціювання остеобластів, а дефіцит вітаміну К лімітує біосинтез білків у печінці та неколагенових кісткових білків – остеокальцину та Gla-білка, що

продукуються остеобластами та беруть участь у формуванні матриксу регенерату та його мінералізації.

Системно на стан кісткової тканини впливає низка гормонів і гормоноподібних речовин. Так, соматотропний гормон та гормони щитоподібної залози стимулюють проліферацію та диференціацію остеобластів, паратиреоїдний гормон стимулює формування кісткового матриксу, кальцитонін прискорює початок мінералізації, паратгормон регулює гомеостаз іонів кальцію, статеві гормони сприяють осифікації кісток. І навпаки, глюкокортикоїди пригнічують проліферацію остеобластів, порушують формування структур регенерату, пригнічують всмоктування Ca^{2+} і підвищують його екскрецію із сечею [2, 323].

Початок репаративного процесу стає можливим лише після того, як у пошкоджених клітинних джерелах репарації відбудеться нормалізація процесів енергопродукції та з'являться можливості для надлишкового анаболізму. На часові критерії цього стану впливає ступінь порушення кровопостачання, що у разі травми призводить до зниження оксигенації тканин. Дистрофічні процеси, що прогресують після травми значною мірою залежать від післятравматичних мікроангіопатій. В результаті цих змін виникають порушення транскапілярного обміну, наростає гіпоксія та погіршується трофічне забезпечення тканин кінцівки, що сприяє прогресуванню дистрофічних процесів та, як наслідок, сповільненню або редукції перебігу першої стадії репаративного процесу [9–12, 17, 27, 289, 320].

Серед причин, що впливають на перебіг репаративного остеогенезу під час лікування найбільше значення має невідповідність методів лікування та способів фіксації характеру травматичного пошкодження, дефекти тканин у ділянці перелому, порушення метаболізму кісткової тканини, сповільнена васкуляризація та кісткова атрофія, невідповідність навантажень травмованої ділянки (недостатнє або зовелике навантаження) перебігу репаративних процесів [2, 320].

За наявності великого діастазу між уламками досить часто застосовують позавогнищевий дистракційно-компресійний остеосинтез. Проте, не зважаючи на його позитивні сторони (стабільна фіксація ділянки перелому, зменшення ризику травми м'яких тканин, нервів), є певні недоліки: досить тривалий у часі, наявність воріт для інфекції протягом усього терміну репаративного остеогенезу з подальшим ускладненням у вигляді остеомієліту, складність у догляді за пацієнтом.

В зв'язку з цим за наявності великого розміру діастазів або посттравматичних кісткових дефектів для повноцінного відновлення структури і функції кістки виникає необхідність у стимуляції її репаративного потенціалу шляхом остеозаміщення різноманітними імплантатами, що може бути перспективним у вирішенні проблем оптимізації консолідації переломів та зниження рівня ускладнень консолідації переломів із кістковими дефектами різної етіології (високоенергетичні переломи, патологічні переломи на підґрунті остеопорозу чи кісткових неоплазій, кісткова пластика за патології суглобів).

Одним із таких матеріалів є кальцій-фосфатна кераміка, яка складається з двох біосумісних фаз: гідроксиапатиту та β -трикальційфосфату [5, 69, 72, 73, 77, 226]. Гідроксиапатит є природною мінеральною формою апатиту кальцію і є подібним до елементного фазового складу мінерального компоненту кісткової тканини. β -ТКФ за взаємодії із внутрішнім середовищем організму швидко піддається резорбції і перетворюються на біологічний гідроксиапатит. Даний матеріал пропонується як для заповнення кісткових дефектів, так і для покриття металевих фіксаційних імплантів для остеосинтезу чи ендопротезування.

Головними аргументами у використанні біоактивної кераміки є висока її спорідненість з мінеральним компонентом кістки, остеоіндуктивні властивості як матриці для остеогенних клітин і факторів росту, що значною мірою залежить від ступеня пористості кераміки. Зокрема, було встановлено [72, 78, 90,], що за підвищення пористості двофазної кераміки у складі 72 %

гідроксиapatиту і 28 % β -трикальційфосфату збільшується її адсорбційна активність і, відповідно, посилюються osteointegraційні властивості.

Важливою перевагою гідроксиapatитної кераміки є можливість регулювання її властивостей безпосередньо через зміну пористості, співвідношення Ca:P, хімічного та фазового складу, мікроструктури, стану поверхні. Завдяки цьому з'являється можливість створювати різні параметри osteokondukтивності та osteointegraції кальцій-фосфатних матеріалів і швидкості біодеградації в кістковому регенераті [2, 69, 72, 73, 90, 267].

Для посилення osteoіндуктивних властивостей кальцій-фосфатну кераміку легують іонами мікроелементів, які відіграють певну роль у кістковому метаболізмі – Na, K, Zn, Al, Si, Ge, Ag, Cu [6, 69, 96, 312, 314].

Зокрема, іони міді відомі своєю антибактеріальною активністю та ангіогенним потенціалом. Вони не тільки зменшують частоту інфекційно-запальних процесів, пов'язані із імплантатами, але й збільшують її мінеральну щільність і сприяють формуванню нової судинної сітки [27, 211].

Своєю чергою, цинк активує ферменти окиснення та володіє подвійною дією, а саме підтримує osteoblastогенез і пригнічує osteoklastогенез, стимулює синтез колагену та підвищує активність кісткового ізофермента лужної фосфатази [204–206].

Проте, унікальними за впливом на кістковий метаболізм виявилися елементи IV групи періодичної системи хімічних елементів – силіційум (кремній, Si) та германій (Ge). Наявність у біоактивних матеріалах іонів кремнію забезпечує утворення досить тісного хімічного зв'язку з кісткою. Кремній пришвидшує процеси osteогенезу за рахунок індукування ангіогенезу, стимуляції продукування колагену 1 типу та диференціювання osteобластів, а під час ранньої кальцифікації осаджує гідроксиapatит в органічну матрицю, запобігає надмірній резорбції кісткової тканини [23, 36, 74, 235].

Попередньо було встановлено [66, 79, 227], що легування йонами Si двофазної кераміки у складі гідроксиapatиту та β -трикальційфосфату

забезпечує ранню ендотеліальну реакцію з індукцією ангіогенезу і ранню остеобластичну реакцію з прискоренням у 1,5 раза консолідації модельних дірчастих переломів у кролів і травматичних осколкових переломів у собак. При цьому [79, 320], скорочується запально-резорбтивна стадія та прискорюється проліферативна, головним чином, з боку ендоосту з ранньою мінералізацією кісткового регенерату. Заразом відсутня виражена загальна реакція організму на імплантацію гідроксиапатитної кераміки, легованої кремнієм.

В свою чергу, германій [95, 96, 235, 237] володіє 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 для цілей остеоіндукції, а і для плані остеозаміщення у випадках остеомієлітів та неоплазій. Загалом передбачається його вплив на остеобласти, їх проліферацію та активізацію і пригнічує активність остеокластів. Заразом мінеральні солі Ge можуть протидіяти деяким ефектам кремнієвого виснаження. При цьому їх концентрації, які мають позитивні та шкідливі впливи, досить подібні [7, 217]. В представленому дослідженні використовувалася неорганічна сполука германію.

В зв'язку з цим відділом фізики міцності і пластичності матеріалів, Інституту проблем матеріалознавства ім. І.М. Францевича НАН України [239, 276] було розроблено кальцій-фосфатну кераміку, до складу якої входить гідроксиапатит з β -трикальційфосфатом, легований германієм. Гранули двофазної кальцій-фосфатної кераміки (ГТГ-700) розміром 700 мкм склалися з 65 мас.% фази гідроксиапатиту (ГАП) і 35 мас.% β -трикальційфосфату (β -ТКФ). Матеріал був отриманий розкладанням нестехіометричного гідроксиапатиту при температурі 800 °С і адсорбційною активністю 120,3 мг/г.

Попередньо відомі приклади використання германієвих сполук, а саме нанесення на пластини, в результаті чого відбувалася стимуляція проліферації фібробластів [326].

У ряді досліджень [235, 327] встановлено, що органічні сполуки германію за експериментального остеопорозу гальмують резорбцію кісткової тканини і запобігають зниженню міцності кісток.

В зв'язку з цим провели дослідження впливу легованої германієм та не легованої кальцій-фосфатної кераміки на репаративний остеогенез. Стандартними моделями в медико-біологічних дослідженнях для вивчення діагностично-прогностичних критеріїв, гістоморфологічних і молекулярно-біологічних механізмів репаративного остеогенезу є білі миші, лабораторні щурі, кролі, вівці, кози, свині [103–105]. Виходячи з принципів біоетики та потребі значної кількості матеріалу для досліджень в якості експериментальної моделі обрали кролів породи Каліфорнійський білий. Дірчасті модельні переломи формували у губчастій (латеральна поверхня дистальної ділянки метафіза стегнової кістки) та у компактній (дорсо-латеральна поверхня діафіза променевої кістки) кістковій тканині, оскільки відомі морфофункціональні їх відмінності та певні особливості у репаративному остеогенезі.

Клініко-рентгенологічно імплантація в кісткові дефекти легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки прискорює їх виповнення регенератом за помірної запальної реакції періосту з майже одночасною реакцією ендоосту та наявністю остеосклеротичних тіней і поступовою резорбцією імплантата. У зв'язку з значно більшим ступенем кровозабезпечення ці явища більш динамічні за остеозаміщення у губчастій кістці, оскільки вже на 30-у добу візуалізується обмежена остеосклеротична реакція ендоосту метаепіфізарної ділянки. При цьому опосередкованим свідченням посилення остеокондуктивності германієвого керамічного імплантата завдяки його остеоіндуктивності та посилення остеointegraції є менш виражений

компенсаторний біомеханічний ефект у ліктьовій кістці за травми променевої.

Підтвердженням цього є макроморфологічно встановлені розростання періосту та динамічне виповнення кісткових дефектів у формі моноліту з материнською кісткою і з глибинним розташуванням фрагментів імплантату, а гістоморфологічними механізмами цього є ранній та інтенсивний неоангіогенез з формуванням одночасно потужної остеобластичної реакції як на поверхні, так і у порах остеозаміщувального матеріалу.

Отже, кальцій-фосфатна кераміка, легована германієм, набуває виражених остеоіндуктивних властивостей, швидше за все, зумовлених вираженою здатністю іонів германію індукувати інтерфероногенез. Своєю чергою інтерферон з одного боку інгібує резорбцію кістки, опосередковану інтерлейкіном-1 та фактором некрозу пухлин, а з другого – стимулює диференціацію остеобластів [95, 96].

При цьому менш вираженою (за кількістю остеокластів) є остеорезорбція як у період запально-резорбтивної стадії репаративного остеогенезу (14-а доба), так і стадії ремоделювання кісткового регенерату (30–60-а доба). Більш динамічно ці процеси перебігали за регенерації кісткових дефектів у губчастій кістці, що зумовлено її інтенсивнішою васкуляризацією. В цілому остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою, як біоактивного скаффолда, забезпечує у міжфрагментарному діастазі умови для адгезії, проліферації та диференціювання ендотеліальних клітин і мезенхімальних стовбурових клітин, та одночасно індукує ці процеси. Надалі це зумовлює формування грубоволокнистої кісткової тканини в усьому об'ємі кісткового дефекта з раннім її заміщенням пластинчастою кістковою тканиною. Тобто репаративна регенерація (загоєння кісткового дефекту за вторинним натягом) максимально наближається до фізіологічної регенерації за первинним натягом.

Представлене дослідження також засвідчує, що легування германієм гідроксиапатитної кераміки в цілому не змінюючи динаміки ключових гематологічних показників в умовах за репаративного остеогенезу, однак характеризується швидким усуненням посттравматичної анемії із фізіологічним лейкоцитозом і досить вираженим тромбоцитозом протягом перших 7–14 діб консолідації кісткових дефектів. При цьому у відповідності до динаміки лейкоцитарних інтегральних індексів, які відображають зміни співвідношення між популяціями клітин крові протягом репаративного остеогенезу, запальна реакція не змінюється, вона лише швидкоплинна, а це зумовлює ранній розвиток остеогенних процесів.

Зміни вмісту макроелементів Са і Р у сироватці крові кролів протягом усіх термінів репаративного остеогенезу відбувалися в межах фізіологічної норми, оскільки таких вони мають перерозподільний характер, як це було встановлено раніше. Проте досить інформативним щодо змін кісткового метаболізму виявився індекс Петерсона, динамічні зміни якого у дослідних тварин з підвищенням у 1,2–1,3 раза відмічали протягом дослідження, а у контрольних – лише на 14-у добу. Це вказує на інтенсивність перерозподілу макроелементів у кістковій тканині після травми відповідно до стадій репаративного остеогенезу та залежно від способу остеозаміщення.

Заразом динамічне підвищення рівня загального білку, хоча і в межах фізіологічної норми, у контрольній групі відбувалося протягом усіх 60-ти діб, а у дослідній – лише на 14-у та 30-у добу, тобто в період переходу стадії запальної остеорезорбції у фазу остеогенної проліферації, яка потребує посилення анаболічних ефектів. Зменшення ж альбумін/глобулінового співвідношення за нормального рівня загального білка відображає посилення активності гуморальних імунологічних реакцій, інтенсивність яких збільшується в період 30–60-ї доби репаративного остеогенезу. Таким чином, остеозаміщення як легованою, так і не легованою кальцій-фосфатною керамікою, обмежує посттравматичні катаболічні процеси за рахунок своїх остеокондуктивних властивостей, що створює умови для виконання білками

їх транспортних та імунологічних функцій. При цьому за використання легованої германієм кераміки це має більш оптимізований характер.

Відомо, [14, 119], що за кісткової травми розвивається гіперкоагуляційний стан, який може набувати перманентного характеру, що ускладнює неоангіогенез у кістковому регенераті та його оксигенацію, надзвичайно важливу для синтезу кісткового колагену I. Своєю чергою за активації гемостазу відбувається додаткове збільшення концентрації прозапальних агентів.

У представленому дослідженні встановлено, що у тварин з кістковою травмою в ранній період остеозаміщення відбувається суттєве, більш ніж удвічі, зменшення антикоагулянтного потенцілу крові, що ускладнює гіперкоагуляційний стан. При цьому відновлення активності природного антикоагулянта протеїна C у випадку остеозаміщення нелегованою керамікою відбувається лише на 60-у добу репаративного остеогенезу, тоді як легованою германієм – на 30-у, за значно меншого попереднього зменшення, що, ймовірно, відображає протизапальні властивості германію у зоні кісткової травми.

Поряд з цим уміст NO у дослідних тварин був достовірно вищим протягом усього терміну дослідження. У проліферативній фазі репаративного остеогенезу продукція NO зумовлюється ендотеліальною ізоформою NO-синтази [156], в такому разі іони германію стимулюють ендотеліальну функцію та, відповідно, неоангіогенез, що є надзвичайно важливим для оксигенації ділянки кісткової травми і синтезу остеобластами кісткового колагену I типу.

На сьогодні доведено [2, 125, 131], що за консолідації переломів відбувається формування адаптивної імунологічної відповіді через запальну реакцію та гранулоцитарно-макрофагальні механізми. При цьому ця імунологічна реакція контролює прозапальну (M_1) і проліферуючу (M_2) популяції макрофагів у зоні кісткової травми, що і визначає характер та ризик ускладнень репаративного остеогенезу.

ЦІК є відображенням стану імунологічної реактивності організму. З огляду на встановлену динаміку ЦІК, іони германію реалізують свою імуномодельюючу дію через популяції макрофагів у кістковій тканині, що зумовлює в цьому разі помірне і нетривале збільшення концентрації ЦІК у сироватці крові за остеозаміщення легованою кальцій-фосфатною керамікою.

Заразом найбільш об'єктивно перебіг репаративного остеогенезу, можливість і тривалість його ускладнень відображають біохімічні маркери кісткового метаболізму, які виявилися динамічними та достовірними. Так, у разі використання ГТлГеґ-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 узгоджується з гістоморфологічною картиною репаративного остеогенезу і відображає ранню та інтенсивну остеобластичну реакцію і швидкоплинну запально-резорбтивну фазу.

У ветеринарній медицині недостатньо дискутуються та мало описані фактори ризику переломів кісток у тварин. Одним із них є системний остеопороз. Як правило, це захворювання розвивається практично безсимптомно, але в результаті призводить до тяжких наслідків – остеопоротичних переломів. У разі порушення структурно-функціонального стану кісткової тканини ризику консолідації переломів зумовлюються дисрегенерацією та нестабільною фіксацією уламків.

У нормі процеси резорбції і утворення кісткової тканини знаходяться у певній рівновазі. Якщо маса кісткової речовини зменшується, розвивається остеопороз [31, 56, 57, 109, 166]. Існує значна кількість індуктивних протоколів, які зазвичай використовуються 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.

Точні механізми впливу глюкокортикоїдів на кісткову тканину залишаються дискусійними. Встановлено, що глюкокортикоїди знижують

абсорбцію кальцію в кишківнику, збільшують екскрецію кальцію з сечею, підвищують секрецію або активність паратгормону, зменшують продукцію гонадотропінів та статевих гормонів, викликають зниження м'язової маси, деградацію колагену. Вище перераховані механізми стимулюють активність остеокластів і збільшують резорбцію кістки, порушують мікроархітектоніку кісткової тканини [2, 13, 20].

Основний вплив кортикостероїдів на кісткову тканину у першу чергу пов'язаний з дією на остеобласти. Встановлено, що в залежності від концентрації вони змінюють проліферативну та метаболічну активність остеобластів [29, 43, 45]. Високі концентрації негативно впливають на експресію генів в остеобластах, які відповідають за біосинтез колагену I типу, остеокальцину та підвищення синтезу тканинних колагеназ, зокрема експресію колагенази, яка сприяє деградації колагену [43, 322].

Глюкокортикоїди можуть пригнічувати остеогенез шляхом спрямування диференціації стромальних клітин-попередників остеобластів, які розташовані в кістковому мозку, у напрямку адипоцитів, зменшуючи таким чином кількість остеобластів для ремоделювання і репарації кістки. Цей механізм може пояснити збільшення об'єму жирового кісткового мозку, яке супроводжує глюкокортикоїдіндукований остеопороз [176, 322].

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

Оскільки остеопороз виникає в зв'язку з демінералізацією кісткових балок у результаті підвищення активності остеокластів або зменшення активності остеобластів, чи з обох причин разом, то доцільним було визначення показників кісткового ізоферменту лужної фосфатази, як маркера остеогенезу, та тартрат-резистентної кислої фосфатази, як показника визначення ступеня резорбції кісткової тканини.

Рентгенологічно встановлено, що зміни в кістковій тканині характерні для остеопорозу з'являються вже на 14-у добу досліджень індукції остеопорозу (великопетлистий рисунок губчастої кістки, розширення кістково-мозкового каналу, стоншення та підкреслення країв кортикального шару), що корелює з біохімічними показниками крові кролів. У першу чергу це гіпокальціємія і гіперфосфатемія та низький рівень Са:Р індекса.

Основою порушення якості кісткової тканини є кальцієвий дисбаланс. Зниження рівня показників Са у дослідній групі відмічали починаючи з 14-ї доби індукції (у 1,4 раза, $p < 0,001$), на 21-у він зменшувався в 2,1 раза. Натомість динаміка вмісту фосфору виявилася протилежною, а саме підвищувалася його концентрація протягом індукції у 1,5–1,8 раза ($p < 0,001$). Також відмічали різке зниження у дослідних тварин Са:Р співвідношення, яке на 21-у добу індукції складало 0,5:1.

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 їх співвідношення, що свідчить про повну перевагу процесів остеорезорбції.

Встановлені зміни гематологічних показників, зокрема, кількості еритроцитів, лейкоцитів, гемоглобіну відбувалися в межах фізіологічної норми. Така їх динаміка є типовим відображенням стимулюючої дії дексаметазона і глюкокортикоїдних препаратів у цілому на гемопоез через посилення синтезу в нирках еритропоетину, що проявляється прискореним виходом еритроцитів і нейтрофілів із кістково-мозкового депо та подовженим терміном їх циркуляції в периферичній крові. Олігохромемія, хоча і в межах фізіологічної норми, швидше за все, зумовлена прискореним виходом еритроцитів із незавершеним синтезом гемоглобіну із кісткового мозку під впливом дексаметазону.

Таким чином, встановлено, що кортикостероїдна модель остеопорозу в кролів повністю патогенетично відповідає його вторинному типу і може бути

використана у дослідженнях з проблеми дисрегенерації кісткової тканини та її остеозаміщення.

Остеопоротичні фрактури, внаслідок порушення структурно-функціонального стану кісткової тканини, погано піддаються лікуванню [9]. Тому є необхідність застосування додаткових засобів для створення оптимальних умов перебігу репаративного остеогенезу, а саме місцеве застосування остеозаміщувальних матеріалів, зокрема легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки.

За результатами представленого дослідження використання гідроксиапатитної кераміки, легованої германієм, зумовлює більш динамічний перебіг репаративного остеогенезу у тварин дослідної групи, порівняно з контрольними. Так, вже на 14-у добу після травми як за рентгенологічних, так і макроморфологічних досліджень, ділянка дефекту характеризується підвищеною рентгенщільністю, помірною періостальною та ранньою ендоостальною реакцією. За напівкількісної оцінки рентгенограм встановлено, що в тварин дослідної групи репаративний остеогенез перебігає з прискореною у 2,7 рази ($p < 0,001$) динамікою рентгенографічних критеріїв консолідації кісткових дефектів. При чому реакція періосту зосереджена безпосередньо в ділянці травми, а відновлення рентгенощільності кісткової тканини поза її межами.

За гістологічної оцінки кісткових регенератів дослідних тварин вже на 14-у добу відмічали наявність новоутворених трабекул зі значною кількістю клітин остеобластичного ряду та велику кількість капілярів і судинних каналів, тоді як у контрольних – лише поодинокі їх формування і, як наслідок, дефіцит кісткової тканини з наявністю значної кількості ділянок резорбції та безклітинних зон. Відмінною особливістю зразків контрольної групи є низька щільність клітин фібробластичного ряду. Відомо [2], що ріст капілярів і судинних каналців у кістковому регенераті відбувається синхронно з проліферацією фібробластів, тому при зменшенні їх кількості у клітинному складі регенерату відбувається порушення ангиогенезу. Як

наслідок, спостерігається відставання процесів диференціювання клітин, відбувається подовження перебігу стадій репаративної регенерації, що призводить до більш пізнього формування остеїду та кісткових трабекул. Як наслідок, відбувається порушення переходу запально-резорбтивної фази у фазу проліферації і диференціювання клітин фібробластичного та остеобластичного диферонів, спостерігається сповільнення ремоделювання кісткового регенерату. Тобто, доведено, що і в умовах глюкокортикоїд-індукованого остеопорозу, за остеозаміщення кісткових дефектів легована германієм кераміка реалізує свої остеокондуктивні, остеоінтеграційні та остеоіндуктивні властивості.

Динаміка вмісту макроелементів у сироватці крові кролів і собак, як правило, за репаративного остеогенезу не є показовою, оскільки зміни відбуваються в межах фізіологічної норми на підставі розподільного механізму їх у системі кісткового скелету [66, 86, 227, 247]. Натомість в умовах системного остеопорозу набувають розвитку гіпокальціємія і гіперфосфатемія, що ускладнюють репаративний остеогенез. Проте за остеозаміщення гідроксиапатитною керамікою, легованою германієм, достовірно відбувається процес поступового вирівнювання Са:Р індекса, що швидше за все, свідчить про задіявання для цього макроелементів із композитного матеріалу. Як результат, остеозаміщення кісткових дефектів за умов остеопорозу в кролів супроводжується усуненням гіпокальціємії на 7-у, а гіперфосфатемії на 30-у добу репаративного остеогенезу з поступовим підвищенням індекса Петерсона на 60-у добу.

Заразом остеозаміщення ГТлГег-700 у кролів з остеопорозом супроводжується тенденцією в бік зменшення кількості еритроцитів в обох групах з дещо достовірно більшим їх умістом у контрольній групі, більш вираженою лейкоцитарною реакцією у дослідних кролів, що засвідчує більш інтенсивний перебіг запально-резорбтивної фази репаративного остеогенезу.

Щодо змін маркерів кісткового метаболізму, то рівень активності КіЛФ за остеозаміщення ГТлГег-700 в період з 7-ї по 30-у добу був вищим за

показники контрольних тварин у 1,1–1,3 раза, що відображає інтенсивність процесів остеогенезу і в умовах остеопорозу та свідчить про остеоіндуктивні властивості легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки. Зважаючи на динаміку рівня активності ТрКФ у дослідній групі з піком на 14-у добу (лише на 60-у добу в контрольній групі), остеозаміщення біоактивною керамікою, леговою германієм, супроводжується швидкоплинною запальною остеорезорбцією з ранньою та інтенсивною остеогенною реакцією остеобластів.

До того ж уміст оксиду азоту в сироватці крові тварин з остеозаміщенням ГТлГеґ-700 на 14-у добу сягав пікових значень, а у контрольних тварин – лише на 60-у добу. Таким чином, остеозаміщення леговою керамікою сприяє посиленню ендотеліальної функції та більш ранньому та інтенсивному неоангіогенезу і в умовах остеопорозу.

Імунна відповідь в умовах остеозаміщення, головним чином, реалізовувалася через формування дрібних ЦІК. При цьому достовірні зміни їх рівня встановлені в обох групах кролів, але у контрольній групі він виявився в 1,2–1,6 ($p < 0,05$ – $p < 0,001$) раза більшим, ніж у дослідній групі. Отже, за репаративного остеогенезу в умовах остеопорозу посилюється переважно комплемент-незалежне імунокомплексоутворення, що зумовлює більш інтенсивну продукцію різних класів медіаторів запально-резорбтивної фази репаративного остеогенезу. Водночас за остеозаміщення ГТлГеґ-700 вона суттєво менша.

На підставі результатів клініко-експериментальних досліджень проведених на модельних дірчастих переломах у кролів вперше було обґрунтовано та доведено позитивний вплив на репаративний остеогенез легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки, її остеокондуктивні, остеоіндуктивні та остеointegraційні властивості за остеозаміщення, що стало підставою для клініко-експериментальне обґрунтування остеозаміщення цим матеріалом осколкових переломів кісток у собак після екстракортикального остеосинтезу.

Кісткові дефекти за складних осколкових переломів кісток у собак мали значний об'єм у межах $2,7 \pm 0,07$ см³. Наявні в ділянці перелому нежиттєздатні уламки видаляли. Як у контрольній, так і у дослідній групах виконували екстракортикальний (накістковий) остеосинтез пластиною із нелегованої нержавіючої сталі. Тваринам дослідної групи кісткові дефекти заміщували ГТлGe-700, контрольної – ГТГ-700.

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-700 рентгенологічно було встановлено більш ранню консолідацію переломів у 1,4 раза, порівняно із тваринами контрольної групи.

За результатами представлених досліджень використання гідроксиапатитної кераміки, легованої германієм, у собак супроводжується помірним перебігом запально-резорбтивної фази репаративного остеогенезу. Зокрема, в тварин дослідної групи на 30-у добу відмічали наявність сформованого регенерату високої щільності за незначної реакції періосту. Водночас у цей період композитний матеріал починає резорбуватися, тобто втрачає свою структурованість і щільність. Більш ранніми за використання гідроксиапатитних імплантів, легованих германієм, виявилися і процеси посттравматичного ремоделювання кісткової тканини.

Осколкові переломи довгих трубчастих кісток у собак супроводжуються еритроцитопенією, яка у дослідній групі усувається до 14-ї доби, незначним зниженням рівня гемоглобіну в межах фізіологічної норми з нормалізацією на 30-у добу та лейкоцитозом, значно вираженим у групі без остеозаміщення.

Малоінформативною та схожою з результатами попередніх дослідників [227, 247] виявилася динаміка вмісту в сироватці крові кальцію та фосфору. Натомість, зміни їх рівня протягом усіх термінів дослідження відбувалися у межах фізіологічної норми.

Зокрема, остеозаміщення гідроксиапатитною керамікою, легованою германієм, зумовлює більш динамічний перебіг репаративного остеогенезу з помірним проявом запально-резорбтивної фази, порівняно з нелегованою керамікою. Це засвідчує динаміка комплексу біохімічних показників, що відображають її перебіг. Так, тільки в період 3-ої доби мало місце зменшення рівня в крові альбуміну, а в подальшому, у дослідній групі спостерігали його підвищення з 7-ї доби, тоді як у контрольній – лише з 14-ї. Концентрація церулоплазміну виявилася помірною і більш короткою, а це є свідченням менш інтенсивної реакції гострої фази і, відповідно, меншого рівня цитокінемії. Звертає на себе увагу динаміка рівня в крові NO, що у випадку остеозаміщення германієвою кальцій-фосфатною керамікою виявилася ранньою, більш інтенсивною з нормалізацією вже на 60-у добу, а саме посилення ендотеліальної функції є відображенням раннього неоангіогенезу як ключового фактора у забезпеченні репарації кісткової тканини.

З динамікою NO певною мірою корелюють зміни активності протеїна С, оскільки він активується на поверхні ендотелія, а далі завдяки антикоагулянтній дії забезпечує його проліферацію в фібриновій матриці та регенераті.

Водночас реакція імунокомплексоутворення виявилася достовірною лише за остеозаміщення нелегованою керамікою на 30-у добу, що є свідченням, швидше за все, додаткового залучення прозапальних факторів за формування кісткового регенерату. В разі тривало персистуючих у тканинах дрібно молекулярних ЦІК їх рівень за остеозаміщення легованою керамікою виявився достовірно помірним, що спонукає до висновку про протизапальні властивості іонів германію. Отже, встановлена динаміка низки біохімічних показників, що характеризує реакцію гострої фази, ендотеліальну та антикоагулянтну функції, ступінь імунокомплексоутворення, певною мірою відображають встановлену клініко-рентгенологічну ефективність остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою за переломів кісток у собак.

Отже, за використання ГТлGег-700 репаративний остеогенез максимально наближається до регенерації за первинним натягом. Це засвідчує динаміка біохімічних маркерів кісткового метаболізму. Так, у дослідній групі збільшення активності КіЛФ та ТрКФ досягало пікових значень у період 7–14-ої доби репаративного остеогенезу з поступовим її зменшенням у наступні терміни дослідження. Водночас, у контрольній групі пік активності маркерів кісткового метаболізму спостерігали лише на 30-у досліджень. Тобто така динаміка активності фосфатаз відображає ранню та інтенсивну остеобластичну реакцію і швидкоплинну запально-резорбтивну.

ВИСНОВКИ

1. У дисертаційній роботі клініко-експериментально обґрунтовано остеозаміщення кісткових дефектів легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою, що є новим у вирішенні проблеми консолідації складних осколкових переломів трубчастих кісток у собак. Доведено, що остеокондуктивний керамічний матеріал у фазовому складі 65 мас.% гідроксиапатиту і 35 мас.% β -трикальційфосфату та вмісту в ньому 0,8 мас.% германію у формі гранул з нано-, мезо- та макропорами і адсорбційною активністю 120,3 мг/г забезпечує його остеоіндуктивні та підвищені остеointegraційні властивості, які зумовлюють ранні неоангіогенез та потужну остеобластичну та ендостальну реакції формування повноцінної кісткової тканини на поверхні та у порах остеозаміщувального матеріалу з поступовою його біодеградацією, відображенням чого є динамічні зміни у сироватці крові біохімічних маркерів кісткового метаболізму, посилення ендотеліальної функції та антикоагулянтного потенціалу крові, урівноважений перебіг гострофазної та остеоімунологічної реакцій. У зв'язку з цим остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою, порівняно з нелегованою, у поєднанні з накістковим остеосинтезом прискорює консолідацію осколкових переломів різного походження у собак в 1,5 раза.

2. Імплантація у дефекти губчастої ділянки стегнової і компактної променевої кісток у кролів легової германієм кальцій-фосфатної кераміки, порівняно з нелегованою, рентгенологічно характеризується помірною, локально обмеженою періостальною реакцією з підвищеною рентгенщільністю чи явищами периостального остеосклерозу в разі губчастої кістки, обмеженою остеосклеротичною реакцією ендосту на 14-у добу та динамічним зменшення структурованості і щільності гранул імплантату на 30-у добу. При цьому макроморфологічно це проявляється меншим розростанням періосту, динамічним виповнення дефектів регенератом у вигляді моноліту з материнською кісткою і глибинним розташуванням

фрагментів керамічних гранул, що в цілому свідчить про їх виражені остеointegraційні властивості та контрольовану біорезорбцію.

3. Іони германію надають кальцій-фосфатній кераміці виражених остеoіндуктивних з посиленням її остеointegraційних властивостей, про що гістоморфологічно свідчать сформовані на 14-у добу мережа капілярів і судинних каналів (неоангіогенез) та остеобластичні ряди (остеобластична реакція), щільний контакт грубоволокнистої кісткової тканини на поверхні і у порах гранул кераміки та невелика кількість остеокластів, посилені остеогенні процеси з формуванням пластинчастих трабекул з потовщеними і ущільненими балками та ремоделювальних остеocитарних лакун на 30-у добу, інтенсивна резорбція гранул за участю остеокластів та їх заміщення кістковою тканиною інтегрованою з материнською на 60-у добу. При цьому особливістю репаративного остеозаміщення у губчастій кістці є велика кількість малодиференційованих остеогенних клітин і формування кісткових балок уже на 14-у добу, чітко сформовані судинні стінки, утворення і ремоделювання кісткової тканини у поверхневих та глибоких шарах гранул кераміки на 30-у добу, що забезпечує високий ступінь остеointegraції та контрольованої остеорезорбції.

4. Імплантація кальцій-фосфатної кераміки, легованої германієм, у кісткові дефекти трубчастих кісток у кролів супроводжується реактивними змінами морфологічних показників крові у межах фізіологічної норми, помірною тромбоцитарною реакцією до 14-ої доби, більшими в 1,1–1,2 раза ($p < 0,001$) піками лейкоцитарних індексів, які відображають зміну фаз репаративного остеогенезу. При цьому рівень гострофазного церулоплазміну в 1,1–1,2 ($p < 0,001$) раза протягом 30-ти діб менший, ніж у разі остеозаміщення нелегованою керамікою.

5. Остеозаміщення леговою германієм кальцій-фосфатною керамікою за модельних переломів трубчастих кісток у кролів супроводжується меншим у 1,6 раза ($p < 0,001$), ніж у разі використання нелегованої кераміки, рівнем втрати антикоагуляційного потенціалу крові з

динамічним відновленням активності протеїна С вже на 30-у добу репаративного остеогенезу, що, ймовірно, зумовлено протизапальними властивостями германію у ділянці кісткової травми. Заразом більший в 1,3 раза ($p < 0,001$) піковий рівень у крові оксиду азоту в період 14-ої доби відображає посилення ендотеліальної функції, що забезпечує інтенсивний неоангіогенез. При цьому короткочасне, лише протягом 14–30-ої діб підвищення в 1,2–1,3 раза ($p < 0,001$) рівня циркулюючих імунних комплексів (у контролі – в 1,2–1,9 раза ($p < 0,001$) у всі терміни дослідження) засвідчує урівноважений перебіг osteoімунологічних реакцій.

6. Динамічний перебіг репаративного остеогенезу в разі остеозаміщення кісткових дефектів трубчастих кісток у кролів леговоною германієм кальцій-фосфатною керамікою засвідчують зміни біохімічних маркерів кісткового метаболізму. Зокрема, збільшення індекса Петерсона в період 7–30-ої діб (у контролі лише на 14-у добу) відображає інтенсивний перерозподіл Са і Р в межах кісткової системи. В свою чергу піки активності кісткового ізоферменту лужної фосфатази на 14-у і 30-у добу вказують на ранню остеобластичну реакцію та інтенсивний остеогенез, а загальної лужної фосфатази та тартрат-резистентної кислої фосфатази на 14-у (в контрольній 60-а та 14–60-а доба, відповідно) свідчать про помірний і швидкоплинний перебіг запально-резорбтивної фази репаративного остеогенезу.

7. Рентгенологічні ознаки остеопорозу в кролів з'являються вже на 14-у добу його індукції дексаметазоном у вигляді великопетлистого рисунка ділянки губчастої речовини проксимального епіфізарно-метафізарного сегмента стегнової кістки з низькою інтенсивністю рентгеноконтрастної тіні, але посиленою рентгенщільністю контурів кортикального шару кістки внаслідок розрідження трабекулярної структури і заразом підкресленості контурів останніх поперекових хребців з підвищеною смугастістю їх губчастої речовини та зменшенням чи зниженням тіней поперечно-реберних відростків. Це супроводжується розвитком гіпокальціємії і гіперфосфатемії, за яких на 14-у та 21-у доби остеопорозного процесу вміст у сироватці крові

загального кальцію зменшується в 1,4 та у 2,1 раза ($p<0,001$), а фосфора, навпаки, збільшується в 1,5 та в 1,8 раза ($p<0,001$), відповідно.

8. Кістковий метаболізм за кортикоїд-індукованого остеопорозу характеризується, порівняно з клінічно здоровими кролями, одночасним збільшенням на 14-у і 21-у добу активності кісткового ізофермента лужної фосфатази та остеорезорбтивної тартратрезистентної кислої фосфатази в 1,1 і в 1,2 раза ($p<0,001$), відповідно, та їх співвідношення – в 1,1 раза ($p<0,001$), що свідчить про перевагу процесів остеорезорбції. При цьому зменшення в 1,1 раза ($p<0,001$) рівня у сироватці крові оксиду азоту відображає зниження ендотеліальної функції, а збільшення в 1,2 раза ($p<0,001$) кількості в крові еритроцитів і лейкоцитів – прискорений їх вихід із кістково-мозкового депо під дією дексаметазону.

9. Остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою кісткових дефектів губчастої і компактної кісток у кролів з остеопорозом за результатами напівкількісної рентгенографічної оцінки ступенів рентгенщільності, поширення періостальної та ендоостальної реакцій прискорює перебіг репаративного остеогенезу в 2,7 раза ($p<0,001$), порівняно із їх загоєнням під кров'яним згустком. При цьому макро- і гістоморфологічна оцінки кісткових регенератів повною мірою підтверджують реалізацію остеокондуктивних, остеointegraційних і остеоіндуктивних властивостей кальцій-фосфатної кераміки, легованої германієм, в умовах остеопорозних переломів трубчастих кісток.

10. Остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою кісткових дефектів губчастої і компактної кісток, порівняно з їх загоєнням під кров'яним згустком, у кролів з остеопорозом супроводжується помірним лейкоцитозом – $10,2\pm0,21$ Г/л, та усуненням посттравматичної олігохромемії – $110\pm1,1$ г/л на 14-у добу, зменшенням рівня гіпокальціємії на 7-у добу ($1,41\pm0,02$ ммоль/л) і гіперфосфатемії на 30-у добу ($2,14\pm0,04$ ммоль/л), помірним підвищенням рівня церулоплазмину в 1,3 раза ($p<0,001$) більшого пікового показника в групі порівняння, меншим в 1,3–1,7 раза

($p < 0,001$) протягом усіх термінів рівнем імунокомплексоутворення, динамічним відновленням активності протеїну С на 14-у добу та більшим в 1,3 раза ($p < 0,001$) у період 14–30-ої доби рівнем у сироватці крові оксиду азоту, що свідчить про помірність запально-резорбтивної фази, компенсаторний перерозподіл макроелементів, посилення ендотеліальної функції та антикоагулянтного потенціалу крові. При цьому в динаміці репаративного остеогенезу активність кісткової лужної фосфатази з піком на 14-у добу більша в 1,1–1,3 раза ($p < 0,001$) за контрольні показники з піком на 30-у добу, а тартратрезистентної кислої фосфатази в 1,2 раза ($p < 0,001$) на 14-у та, навпаки, на 60-у добу в контрольній групі, що відображає ранню та інтенсивну остеогенну реакцію в разі остеозаміщення легованою германієм керамікою.

11. Консолідація складних осколкових переломів довгих трубчастих кісток у собак після остеозаміщення нелегованою кальцій-фосфатною керамікою та накісткового остеосинтезу супроводжується лейкоцитозом (збільшення в 1,6 раза, $p < 0,001$), еритроцитопенією (зменшення в 1,4 раза, $p < 0,001$) та зменшенням кількості гемоглобіну в 1,2 раза ($p < 0,001$) до 30-ої доби, тромбоцитопенією до 7-ої доби (зменшення в 1,2 раза, $p < 0,001$), зниженням альбумін-глобулінового коефіцієнта протягом 14 діб в 1,5–1,6 раза ($p < 0,05–0,001$) і вдвічі ($p < 0,001$) антикоагулянтного потенціалу крові з його відновленням тільки на 60-у добу, підвищенням у сироватці крові рівня церулоплазміну в 1,2 раза ($p < 0,001$) до 30-ої доби та оксиду азоту з піком на 30-у добу (в 1,4 раза, $p < 0,001$) і циркулюючих імунних комплексів протягом 60-ти діб з піком на 14-у добу репаративного остеогенезу, що відображає помірну і тривалу гострофазну реакцію з перманентним імунокомплексоутворенням та вираженим гіперкоагуляційним станом за помірної ендотеліальної реакції.

12. Остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою осколкових переломів трубчастих кісток у собак, на відміну від нелегованою, супроводжується менш вираженою в 1,2 раза ($p < 0,001$) та нетривалою (лише до 14-ої доби) еритроцитопенією за достатнього рівня

гемоглобіну і достовірно вищого тромбоцитів, меншою в 1,1–1,3 раза ($p < 0,001$) інтенсивністю лейкоцитарної реакції до 14-ої доби з одночасно меншим в 1,1 раза ($p < 0,001$) піком концентрації в сироватці крові гострофазного церулоплазмину та більшим в 1,2 раза рівнем альбуміну без достовірних змін альбумін-глобулінового співвідношення, що свідчить про обмежений рівень запально-деструктивних процесів.

13. Кістковий метаболізм у собак за остеозаміщення нелегованою керамікою характеризується зменшенням Са:Р індекса в період 3–14-ої доби в 1,3 раза ($p < 0,05$), формуванням піків активності загальної лужної фосфатази та її кісткового ізофермента і остеорезорбтивної тартратрезистентної кислої фосфатази на 30-у добу консолідації переломів, а у разі використання легованої германієм кераміки – на 14-у добу з нормалізацією їх активності на 60-у добу за відсутності достовірних змін у динаміці Са:Р індекса, що в цілому свідчить про скорочення термінів запально-остеорезорбтивних процесів, їх менший рівень і ранню остеобластичну реакцію як чинника прискореної консолідації переломів.

14. В умовах остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою після накісткового остеосинтезу консолідація переломів у собак відбувається за вдвічі ($p < 0,001$) меншої втрати активності протеїна С з нормалізацією її рівня вже на 14-у добу, підвищення на 14-у і 30-у в 1,5 раза ($p < 0,001$) щодо рівня клінічно здорових собак умісту в сироватці крові продукowanego ендотелієм оксиду азоту та має місце менший у 1,2–1,6 раза ($p < 0,001$) рівень циркулюючих імунних комплексів, що забезпечує баланс між процесами остеорезорбції, неоостеогенезу і ремоделювання кісткового регенерату.

15. Остеозаміщення після накісткового остеосинтезу легованою германієм керамікою складних осколкових переломів трубчастих кісток у собак, порівняно з використанням нелегованої кальцій-фосфатної кераміки, за клініко-рентгенологічними критеріями прискорює їх консолідацію в 1,5 раза ($p < 0,001$) та супроводжується швидкою нормалізацією гематологічної

картини крові, посиленням синтезу транспортних білків, помірною і швидкоплинною реакцією гострої фази та імунокомплексоутворення, інтенсивним посиленням ендотеліальної функції та антикоагулянтного потенціалу крові, збалансованою динамікою активності біохімічних маркерів кісткового метаболізму як критеріїв, що відображають оптимізований перебіг репаративного остеогенезу.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. На підставі результатів клініко-експериментальних досліджень у собак зі складними осколковими переломами трубчастих кісток пропонуємо після екстракортикального остеосинтезу остеозаміщення кісткових дефектів кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм (0,8 мас.%), яка завдяки своїм остеоіндуктивним і підвищеним остеointegraційним властивостям прискорює, порівняно з нелегованою керамікою, консолідацію високоенергетичних і вторинних переломів у 1,5 раза, що апробовано в низці клінік ветеринарної медицини України (додаток В9–В13).

2. Для контролю перебігу репаративного остеогенезу як за високоенергетичних переломів трубчастих кісток у собак, так і за остеопорозних, рекомендуємо визначення у сироватці крові біохімічних маркерів кісткового метаболізму – тартратрезистентної кислої фосфатази, кісткового ізоферменту лужної фосфатази та їх співвідношення, рівень кальцію та фосфору в разі остеопорозу і Са:Р індексу.

3. У проведенні наукових досліджень з теоретичних і практичних проблем консолідації кісток у тварин-компаньйонів рекомендуємо визначення в сироватці крові активності тартратрезистентної кислої фосфатази, кісткового ізоферменту лужної фосфатази та їх співвідношення, індекса Петерсона, рівня оксиду азоту, циркулюючих імунних комплексів і антикоагулянтного потенціалу крові (протейн С).

4. Результати клініко-експериментальних досліджень щодо застосування в тварин остеозаміщення легованою германієм кальцій-фосфатною керамікою висвітлені у науково-практичній монографії «Остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою кремнієм і германієм, за переломів кісток у тварин» – Рубленко М.В., Тодосюк Т.П. та ін. Біла Церква: БНАУ, 2023. 83 с., затверджена на засіданні Вченої ради Білоцерківського НАУ, протокол № 3 від 23 березня 2023 року (додаток В1) доцільно використовувати у викладанні ряду дисциплін на факультетах ветеринарної медицини вищих навчальних закладів III–IV рівнів акредитації (додаток В2–В6).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Структура осколкових переломів довгих трубчастих кісток у собак за принципами класифікації АО/ASIF в (24-и клінічні випадки). С. В. Рубленко та ін. Науковий вісник ветеринарної медицини. 2022. Вип. 1. С. 179–187.
2. Використання композитних матеріалів за переломів трубчастих кісток у тварин. М. В. Рубленко, В. Г. Андрієць, С. А. Семеняк та ін. Біла Церква. 2015. 86 с.
3. Substitutes for autologous bone graft in orthopaedic trauma. J. Keating. J Bone Joint Surg Br. 2001. Vol. 83-B. P. 3–8.
4. Характеристика переломів трубчастих кісток у дрібних домашніх тварин. Пустовіт Р. В. Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. 2007. Вип. 44. С. 124–127.
5. Bone regeneration using b-tricalcium phosphate in a calcium sulfate matrix. Podaropoulos L., Veis A.A., Papadimitriou S., Alexandridis C., Oral [et al.] Implantol. 2009. Vol. 35. P. 28–36.
6. Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions. Oryan A, Alidadi S, Moshiri A, Maffulli N. // J. Orthop Surg Res. – 2014. Vol. 9. (1). P. 29–36. <https://doi.org/10.1186/1749-799x-9-18>
7. Особливості остеогенезу та репаративної регенерації кісток таза у собак. Ільніцький М. Г. Смурна О. В. *Вет. медицина України*. 2007. Вип. 7. С. 35–37.
8. Оптимізація репаративного остеогенезу за допомогою кальцій-фосфатних остеопластичних матеріалів (огляд літератури) [Електронний ресурс]. О.В. Кореньков. Ортопедия, травматология и протезирование. 2014. № 1. С. 110–116.
9. Appendicular fracture repair in dogs using the locking compression plate system: 47 cases. Haaland P.J., Sjöström L. et al. Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology. 2009. Vol. 22, no. 04. P. 309–315. <https://doi.org/10.3415/vcot08-05-0044>

10. Сучасний погляд на репаративний остеогенез. В. І. Бумейстер, М. В. Погорелов. Світ медицини та біології. 2008. 4. С. 104–110.
11. Морфо-рентгенологічна і біохімічна характеристика репаративного остеогенезу за заміщення кісткових дефектів Біоміном-ГТ у тварин. М.В. Рубленко, В.Б. Дудка, С.А. Семеняк. Наук. вісник вет. медицини: зб. наук. праць. Біла Церква, 2015. № 1 (118). С. 98–106.
12. Особливості діагностики та лікування нестабільності крижово-клубового суглобу у собак. Новіцький В. О., Слюсаренко Д. В. *Ветеринарія, технології тваринництва та природокористування*. 2020. С. 105–109. Doi:10.31890/vttp.2020.05.19
13. Bone fracture and the healing mechanisms. The effect of human parathyroid hormone on fracture healing. Komatsubara S, Mashiba T, Mori S. Clin Calcium. 2009. 19(5):660-6.
14. Застосування тіотриазоліну та нуклеїнату натрію для корекції гомеостазу і стимуляції загоєння переломів трубчастих кісток у собак. Пустовіт Р. В., Рубленко М. В. Вісник Білоцерківськ. держ. аграрн. ун-ту. Зб. наук. праць. 2007. Вип. 48. С. 72–76.
15. Are OPG and RANKL involved in human fracture healing?. J. Köttstorfer et al. Journal of Orthopaedic Research. 2014. Vol. 32, no. 12. P. 1557–1561. <https://doi.org/10.1002/jor.22723>
16. Retraction of osteoporosis A study of a B2C supporting interface design system for the elderly. Human Factors and Ergonomics in Manufacturing & Service Industries, 22, 528-540. doi: 10.1002/hfm.20297. Human Factors and Ergonomics in Manufacturing & Service Industries. 2016. Vol. 26, no. 2. P. 288. <https://doi.org/10.1002/hfm.20654>
17. Changes in serum levels of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, osteoprotegerin, IL-6 and TNF- α in patients with a concomitant head injury and fracture. J. S. Lee та ін. Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery. 2008. T. 129, № 5. С. 711–718. <https://doi.org/10.1007/s00402-008-0632-8>

18. Osteoimmunology: The effect of autoimmunity on fracture healing and skeletal analysis. Lončar S. R., Halcrow S. E., Swales D. Forensic Science International: Synergy. 2023. P. 100326. <https://doi.org/10.1016/j.fsisyn.2023.100326>
19. The impact of nonosteogenic factors on the expression of osteoprotegerin and RANKL during human fracture healing. J. Starlinger et al. Bone & Joint Research. 2019. Vol. 8, no. 7. P. 349–356. <https://doi.org/10.1302/2046-3758.87.bjr-2018-0116.r3>
20. Treatment with Parathyroid Hormone hPTH(1-34), hPTH(1-31), and Monocyclic hPTH(1-31) Enhances Fracture Strength and Callus Amount After Withdrawal Fracture Strength and Callus Mechanical Quality Continue to Increase. T. T. Andreassen et al. Calcified Tissue International. 2004. Vol. 74, no. 4. P. 351–356. <https://doi.org/10.1007/s00223-003-0093-6>
21. Extracellular signaling molecules to promote fracture healing and bone regeneration. Hankenson K. D., Gagne K., Shaughnessy M. Advanced Drug Delivery Reviews. 2015. Vol. 94. P. 3–12. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.09.008>
22. Effects of a Bioactive Scaffold Containing a Sustained Transforming Growth Factor- β 1-releasing Nanoparticle System on the Migration and Differentiation of Stem Cells from the Apical Papilla. C. Bellamy et al. Journal of Endodontics. 2016. T. 42, № 9. C. 1385–1392. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.06.017>
23. Combined Effects of Vascular Endothelial Growth Factor and Bone Morphogenetic Protein 2 on Odonto/Osteogenic Differentiation of Human Dental Pulp Stem Cells In Vitro. Aksel H., Huang G. T. J. Journal of Endodontics. 2017. Vol. 43, no. 6. P. 930–935. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.01.036>
24. Basic Fibroblast Growth Factor Regulates Gene and Protein Expression Related to Proliferation, Differentiation, and Matrix Production of Human Dental Pulp Cells / Y.-C. Chang et al. Journal of Endodontics. 2017. Vol. 43, no. 6. P. 936–942. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.01.024>.
25. BMP2 and VEGF promote angiogenesis but retard terminal differentiation of osteoblasts in bone regeneration by up-regulating Id1. X. Song et

al. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. 2011. Vol. 43, no. 10. P. 796–804.
<https://doi.org/10.1093/abbs/gmr074>

26. Effects of BMP2 and VEGF165 on the osteogenic differentiation of rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells. Z. LIN et al. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2013. Vol. 7, no. 3. P. 625–629.
<https://doi.org/10.3892/etm.2013.1464>

27. Basic Fibroblast Growth Factor Enhances Stemness of Human Stem Cells from the Apical Papilla. J. Wu et al. *Journal of Endodontics*. 2012. Vol. 38, no. 5. P. 614–622. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2012.01.014>

28. Biphasic effects of TGF β 1 on BMP9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. R.-D. Li та ил. *BMB Reports*. 2012. T. 45, № 9. C. 509–514. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2012.45.9.053>

29. Diagnosis and Treatment of Osteoarthritis. Rychel J. K. *Topics in Companion Animal Medicine*. 2010. Vol. 25, no. 1. P. 20–25.
<https://doi.org/10.1053/j.tcam.2009.10.005>

30. Clinical application of quantitative computed tomography in osteogenesis imperfecta-suspected cat. Won S., Chung W.-j., Yoon J. *Journal of Veterinary Science*. 2017. Vol. 18, no. 3. P. 415. <https://doi.org/10.4142/jvs.2017.18.3.415>

31. Osteoporosis influences the middle and late periods of fracture healing in a rat osteoporotic model. Wang J.W., Li W., Xu S.W. et al. *Chin. J. Traumatol*. 2005. 8. P. 111–116.

32. The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research. Lelovas PP, Xanthos TT, Thoma SE, Lyritis GP, Dontas IA. *Comp Med*. 2008. 58(5). P. 424–430.

33. Diagnosis, prevention, and management of canine hip dysplasia: a review. Lopez M., Schachner E. *Veterinary Medicine: Research and Reports*. 2015. P. 181. <https://doi.org/10.2147/vmrr.s53266>

34. 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. <https://doi.org/10.1293/tox.2014-0060>

35. Holistic Approach to Bone Tumors in Dogs and Cats: Radiographic and Histologic Correlation. Dittmer K. E., Pemberton S. A Veterinary Pathology. 2021. Vol. 58, no. 5. P. 841–857. <https://doi.org/10.1177/0300985821999832>
36. A retrospective study on bone metastasis in dogs with advanced-stage solid cancer. C. Agnoli et al. Journal of Small Animal Practice. 2023. <https://doi.org/10.1111/jsap.13621>
37. Implant-associated neoplasia in dogs: 16 cases (1983–2013). A. G. Burton et al. Journal of the American Veterinary Medical Association. 2015. Vol. 247, no. 7. P. 778–785. <https://doi.org/10.2460/javma.247.7.778>
38. Factors associated with pathological fractures in dogs with appendicular primary bone neoplasia: 84 cases (2007–2013). J. A. Rubin et al. Journal of the American Veterinary Medical Association. 2015. Vol. 247, no. 8. P. 917–923. <https://doi.org/10.2460/javma.247.8.917>
39. The Bone Biologic Effects of Zoledronate in Healthy Dogs and Dogs with Malignant Osteolysis. T. M. Fan et al. Journal of Veterinary Internal Medicine. 2008. Vol. 22, no. 2. P. 380–387. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0046.x>
40. Моніторинг ветеринарної допомоги і структура хірургічної патології серед дрібних домашніх тварин в умовах міської клініки. С.В. Рубленко, О.В. Єрошенко. Вісник Сумського НАУ. Суми. 2012. Вип. 1 (30). С. 150–154.
41. Моніторинг хірургічної патології серед дрібних домашніх тварин ДЛВМ у Київському районі м. Одеси за 2003–2005 роки. Р.В. Пустовіт, Ю.М. Данилейко, М.В. Рубленко. Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. Біла Церква. 2006. Вип. 36. С. 132–137.
42. Поширення переломів кісток у собак. А.В. Телятніков. Науковий вісник ветеринарної медицини: Зб. наук. праць. Біла Церква. 2013. Вип. 11 (101). С. 149–153.

43. Frequency of occurrence and peculiarities of bones fracture of the peripheral skeleton in dogs. Dmitrijev V., Khomyn N.M. Scientific Messenger LNUVMB. 2017. 19(82). P. 180–183.

44. Моніторинг переломів кісток у собак. Н. М. Хомин, А. Р. Мисак, В. С. Дмитрієв. Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. 2015. Т. 17. No 2 (62). С. 259–264.

45. Моніторинг травматизму дрібних домашніх тварин в умовах міста. Сухонос В.П. Кисельов І.Г. Вісник ЛНУВМБТ ім. С.З. Гжицького. 2013. Вип. 3. Т. 15. С. 329–332.

46. Структура переломів у собак у свідомості мегаполісу. Семеняк С.А., Рубленко С. В., Данилейко Ю. М. Вісник Білоцерківського Державного аграрного університету. 2014. Вип. 108(13). С. 218–223.
http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvvm_2014_13_62

47. Моніторинг переломів довгих трубчастих кісток у собак в умовах міста Дніпропетровськ. Білий Д. Д., Грищенко М. Ю. Науково-технічний бюлетень Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету. 2016. Вип. 4, № 2. С. 7–12. Режим доступу:
http://nbuv.gov.ua/UJRN/ndbnndc_2016_4_2_3

48. Appendicular osteoctrures of traumatic etiology in dogs: 955 cases (2004-2013). R.d.N. Libardoni et al. Ciência Rural. 2015. Vol. 46, no. 3. P. 542–546. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20150219>

49. Magnetic Resonance Imaging Features of Extradural Spinal Neoplasia in 60 Dogs and Seven Cats. Auger M., Hecht S., Springer C. M. Frontiers in Veterinary Science. 2021. Vol. 7. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.610490>

50. Orthopedic Problems in Geriatric Dogs and Cats. Beale B. S. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. 2005. Vol. 35, no. 3. P. 655–674.
<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2005.01.001>

51. Zygomatic Arch Parosteal Osteosarcoma in Dogs and a Cat. Gold R., Oliveira F., Pool R. *Veterinary Pathology*. 2018. Vol. 56, no. 2. P. 274–276. <https://doi.org/10.1177/0300985818798110>
52. Spontaneous tumors in dogs and cats: Models for the study of cancer biology and treatment. MacEwen E. G. *CANCER AND METASTASIS REVIEW*. 1990. Vol. 9, no. 2. P. 125–136. <https://doi.org/10.1007/bf00046339>
53. The effect of haemorrhage and bone fracture on bone marrow circulation. Szabó Z., Szabó G. *Research in Experimental Medicine*. 1978. Vol. 172, no. 1. P. 7–17. <https://doi.org/10.1007/bf01851061>
54. Bone and Bone Healing. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. Remedios A. 1999. Vol. 29, no. 5. P. 1029–1044. [https://doi.org/10.1016/s0195-5616\(99\)50101-0](https://doi.org/10.1016/s0195-5616(99)50101-0)
55. Therapeutic effects of revascularisation on the healing of free bone grafts in dogs. Zheng J.-S., Ruan H.-R., Hou K.-W. *Journal of Veterinary Research*. 2020. Vol. 64, no. 1. P. 175–180. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2020-0023>
56. Can we induce osteoporosis in animals comparable to the human situation? R. Oheim et al. *Injury*. 2016. Vol. 47. P. S3–S9. [https://doi.org/10.1016/s0020-1383\(16\)30002-x](https://doi.org/10.1016/s0020-1383(16)30002-x)
57. Fracture healing in osteoporotic fractures: Is it really different? / P. Giannoudis et al. *Injury*. 2007. Vol. 38, no. 1. P. S90–S99. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2007.02.014>
58. Imaging and surgical outcomes of spinal tumors in 18 dogs and one cat. O. Besalti et al. *Journal of Veterinary Science*. 2016. Vol. 17, no. 2. P. 225. <https://doi.org/10.4142/jvs.2016.17.2.225>
59. Risks and Outcomes of Equine Flat Bone Fractures. Johnson K. A. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*. 2019. Vol. 32, no. 04. P. v. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1693467>
60. Characteristics of complete tibial fractures in California racehorses / M. A. Samol et al. *Equine Veterinary Journal*. 2020. <https://doi.org/10.1111/evj.13375>

61. Histopathological features of bone regeneration in a canine segmental ulnar defect model. R. Hobbenaghi et al. *Diagnostic Pathology*. 2014. Vol. 9, no. 1. <https://doi.org/10.1186/1746-1596-9-59>
62. Osteofasciocutaneous flap based on the dorsal ulnar artery. A new option for reconstruction of composite hand defects. M. Choupina et al. *British Journal of Plastic Surgery*. 2004. Vol. 57, no. 5. P. 465–468. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2003.12.007>
63. Morphometric and physical investigations of segmental cortical bone autografts and allografts in canine ulnar defects. Delloye C., Verhelpen M, d'Hemricourt J, Govaerts B, Bourgois R. *Clin Orthop Relat Res*. 1992. No. 282. P. 273–292.
64. Biological aspects to enhance fracture healing. P. L. Rodham et al. *EFORT Open Reviews*. 2023. Vol. 8, no. 5. P. 264–282. <https://doi.org/10.1530/eor-23-0047>
65. Real-Time Monitoring of Stem Cells by Diamond-Based Impedance Sensors. V. Procházka et al. *Proceedings*. 2017. Vol. 1, no. 4. P. 515. <https://doi.org/10.3390/10.3390/proceedings1040515>
66. Оцінка остеointegraційних і остеоіндуктивних властивостей кераміки, легованої кремнієм, за модельних переломів стегнової кістки у кролів. Рубленко М.В., Чемеровський В.О., Власенко В.М., Ульянович Н.В. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2018. № 2 (144). С. 44–53. <https://doi.org/10.33245/2310-4902-2018-144-2-44-53>
67. Загальна характеристика основних остеозаміщувальних імплантатів для кісткової пластики. О.В. Загородько, Н. Г. Антонюк, А. Ф. Бурбан. *Магістеріум*. 2008. Вип. 33. С. 29–35.
68. Використання біогенних та біоінертних матеріалів у кістково-пластичній хірургії (огляд літератури). О. В. Кореньков. *Ортопедия, травматология и протезирование*. 2012. № 4. С. 120–128.

69. Osteoinduction Mechanism of Calcium Phosphate Biomaterials In Vivo: A Review. Cheng L.J., Yu T., Shi Z. Journal of biomaterials and tissue engineering. 2017. Vol. 7. P. 911–918.

70. Biomaterials in craniofacial surgery: experimental studies and clinical application. H.J.Chim. *Craniofac. Surg.* 2009. Vol. 20 (1). P. 29–33.

71. Наноматеріали медичного призначення: монографія. І. В. Уварова та ін. За ред. акад. НАН України В. В. Скорохода НАН України, Ін-т проблем матеріалознавства ім. І. М. Францевича. Київ, Наукова думка 2014. 414 с.

72. The evaluation of a biphasic calcium phosphate ceramic for use in grafting long-bone diaphyseal defects. Moore D. C., Chapman M. W., Manske D. Journal of Orthopaedic Research. 1987. Vol. 5, no. 3. P. 356–365. <https://doi.org/10.1002/jor.1100050307>

73. Bone In-growth Induced by Biphasic Calcium Phosphate Ceramic in Femoral Defect of Dogs. Manjubala I., Sastry T. P., Kumar R. V. S. Journal of Biomaterials Applications. 2005. Vol. 19, no. 4. P. 341–360. <https://doi.org/10.1177/0885328205048633>

74. Reconstruction of comminuted long-bone fracture using CF/CPC scaffolds manufactured by rapid prototyping. S.-L. Huang et al. Medical Science Monitor. 2012. Vol. 18, no. 11. P. BR435–BR440. <https://doi.org/10.12659/msm.883536>

75. Evaluation of Collagen Ceramic Composite Graft Materials in a Spinal Fusion Model. G. F. Muschler et al. Clinical Orthopaedics and Related Research. 1996. Vol. 328. P. 250–260. <https://doi.org/10.1097/00003086-199607000-00039>

76. Evaluation of new high-performance calcium polyphosphate bioceramics as bone graft materials. S. R. Nelson et al. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 1993. Vol. 51, no. 12. P. 1363–1371. [https://doi.org/10.1016/s0278-2391\(10\)80143-0](https://doi.org/10.1016/s0278-2391(10)80143-0)

77. Effect of calcium phosphate coating characteristics on early post-operative bone tissue ingrowth. P. Duheyne et al. Biomaterials. 1990. Vol. 11, no. 8. P. 531–540. [https://doi.org/10.1016/0142-9612\(90\)90073-y](https://doi.org/10.1016/0142-9612(90)90073-y)

78. Experimental Evaluation of Ceramic Calcium Phosphate as a Substitute for Bone Grafts. Ferraro J. W., Ferraro J. W. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 1979. Vol. 63, no. 5. P. 634–640. <https://doi.org/10.1097/00006534-197905000-00005>

79. Рентгенографічна, макроморфологічна і гематологічна оцінка гідроксиапатитної кераміки з різними фізико-хімічними властивостями. Чемеровський В.О. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2020. № 1. С. 140–152. <https://doi.org/10.33245/2310-4902-2020-154-1-140-152>

80. Оцінка використання гідроксиапатитної кераміки, легованої кремнієм, для лікування осколкових переломів кісток у собак. М. Рубленко та ін. *Науковий вісник ЛНУ ветеринарної медицини та біотехнологій. Серія: Ветеринарні науки*. 2020. № 22(99). С. 29–37. <https://doi.org/10.32718/nvlvet9905>

81. Application of means of stimulation of regenerative osteogenesis for complex treatment of dogs with fractures of the limb bones. Dmitrijev V. S., Khomyn N. M. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*. 2018. Vol. 20, no. 92. P. 156–160. <https://doi.org/10.32718/nvlvet9232>

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

83. Динаміка цитокінів при остеозному заміщенні осколкових переломів у собак гідроксиапатитовою керамікою, леговою кремнієм. М. Рубленко та ін. *Науковий вісник ЛНУ ветеринарної медицини та біотехнологій. Серія: Ветеринарні науки*. 2021. Вип. 23 (102). С. 29–36. <https://doi.org/10.32718/nvlvet10205>

84. Особенности биоактивных покрытий на титановых имплантатах. Ульянович Н. В. и др. *Літопис травматології та ортопедії*. 2014. № 1-2. С. 76–79.

85. Technologies for producing platelet masses for regenerative medicine. Shevchenko S., Rublenko M., Bonkovsky O. Науковий вісник ветеринарної медицини. 2019. № 2. С. 105–117. <https://doi.org/10.33245/2310-4902-2019-152-2-105-117>
86. Динаміка гематологічних показників, макроморфологічна і рентгенологічна картини репаративного остеогенезу в кролів за використання тромбоцитарних концентратів та гідроксиапатитної кераміки. Шевченко С. М. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 1. С. 153–164. <https://doi.org/10.33245/2310-4902-2020-154-1-153-164>
87. Alloplastic and Implant Materials for Bone Grafting: a Literature Review. U. F. Mukhametov et al. Creative surgery and oncology. 2021. Vol. 11, no. 4. P. 343–353. <https://doi.org/10.24060/2076-3093-2021-11-4-343-353>
88. Twenty-first century challenges for biomaterials. Hench L. L., Thompson I. *Journal of The Royal Society Interface*. 2010. Vol. 7, suppl_4. <https://doi.org/10.1098/rsif.2010.0151.focus>
89. Bone formation with functionalized 3D printed poly- ϵ -caprolactone scaffold with plasma-rich-fibrin implanted in critical-sized calvaria defect of rat. M.-C. Chen та ін. *Journal of Dental Sciences*. 2021. Vol. 16, no 4. P. 1214–1221. <https://doi.org/10.1016/j.jds.2021.01.015>
90. The effect of osteosubstitution by platelet-rich autofibrin and hydroxyapatite ceramic with β -tricalcium phosphate on biochemical parameters of blood in rabbits. Shevchenko S., Rublenko M. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 2022. Vol. 46. No. 4. P. 599–608. <https://doi.org/10.55730/1300-0128.4231>
91. Effect of Autologous Plasma Treatment on the Cornea Regeneration with Keratoconjunctivitis Sicca in Dogs. Y. A. Vatnikov et al. *Journal of Animal Health and Production*. 2020. Vol. 8, no. 1. <https://doi.org/10.17582/journal.jahp/2020/8.1.1.7>

92. Evaluation of the use of an autologous platelet-rich fibrin membrane to enhance tendon healing in dogs. L. C. Visser et al. *American Journal of Veterinary Research*. 2011. Vol. 72, no. 5. P. 699–705. <https://doi.org/10.2460/ajvr.72.5.699>
93. Effects of platelet-rich plasma (PRP) on the healing of Achilles tendons of rats. J.-F. Kaux et al. *Wound Repair and Regeneration*. 2012. Vol. 20, no. 5. P. 748–756. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475x.2012.00826.x>
94. Effect of Platelet-Rich Fibrin on Biomechanical and Biochemical Aspects Of Tendon Healing: A Preliminary Animal Study. Yousefi A. R., Kazemi D., Rezaei M. *Journal of Musculoskeletal Research*. 2022. <https://doi.org/10.1142/s0218957722500166>
95. Synthesis and Antitumour Activity of Four Germanium Amino Acid Complexes. Ismail D.A. and Noaman E. *Egyptian Journal of Chemistry*. 2007. Vol. 50. P. 29–37.
96. Development of magnesium-based biodegradable metals with dietary trace element germanium as orthopaedic implant applications. D. Bian et al. *Acta Biomaterialia*. 2017. Vol. 64. P. 421–436. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.10.004>
97. Hydrogeochemical and biomedical insights into potential of curative waters: a case study of health resorts in the Sudetes Mountains (Poland). Dobrzyński D., Boguszewska-Czubara A., Sugimori K. *Environmental Geochemistry and Health*. 2018. Vol. 40, no. 4. P. 1355–1375. <https://doi.org/10.1007/s10653-017-0061-0>
98. Фізіолого-біохімічні процеси в організмі самиць F_0 і самців F_1 щурів за умов вживання їм «наногерманію» цитрату і цитрату германію хімічно синтезованого. М. Храбко, Р. Федорук, О. Долайчук. Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2016. Вип. 73. С. 226–234.
99. Third-Generation Biomedical Materials. Hench L. L. *Science*. 2002. Vol. 295, no. 5557. P. 1014–1017. <https://doi.org/10.1126/science.1067404>
100. Post-natal bone physiology. El-Farrash R. A., Ali R. H., Barakat N. M. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*. 2020. Vol. 25, no. 1. P. 101077. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2019.101077>

101. Expression of osteoprotegerin, receptor activator of NF-kappaB ligand (osteoprotegerin ligand) and related proinflammatory cytokines during fracture healing. Kon T, Cho TJ, Aizawa T, Yamazaki M, Nooh N, Graves D, et al. J Bone Miner Res. 2001. 16(6). P. 1004–1014. <https://doi.org/10.1359/jbmr.2001.16.6.1004>
102. Попсуйшапка О. К., Літвішко В. О., Ашукіна Н. О. Клініко-морфологічні стадії процесу зрощення відламків кістки. Ортопедия, травматология и протезирование. 2015. № 1, С. 12–20. УДК 616.71-001.5-003.93-07-092.9(045)
103. Animal models for bone tissue engineering and modelling disease. Disease Models & Mechanisms. McGovern J. A., Griffin M., Hutmacher D. W. 2018. Vol. 11, no. 4. P. dmm033084. URL: <https://doi.org/10.1242/dmm.033084>
104. Healthy bone tissue homeostasis. Experimental & Molecular Medicine. Choi J.-Y. 2020. Vol. 52, no. 8. P. 1165. <https://doi.org/10.1038/s12276-020-0472-3>
105. Animal models of impaired long bone healing and tissue engineering- and cell-based in vivo interventions. Hixon K. R., Miller A. N. Journal of Orthopaedic Research. 2022. Vol. 40, no. 4. P. 767–778. <https://doi.org/10.1002/jor.25277>
106. Endocrinology of bone mineralization: An update. Jannin A., Kerlan V., Desailoud R. Annales d'Endocrinologie. 2022. Vol. 83, no. 1. P. 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2021.12.00>
107. Effects of Radiation on the Bone Strength of Spinal Vertebrae in Rats / T. Igarashi et al. Spine. 2021. Publish Ahead of Print. <https://doi.org/10.1097/brs.0000000000004282>
108. Bone physiological microenvironment and healing mechanism: Basis for future bone-tissue engineering scaffolds. G. Zhu et al. Bioactive Materials. 2021. Vol. 6, no. 11. P. 4110–4140. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.03.043>
109. Osteoporosis in the European Union: medical management, epidemiology and economic burden. E. Hernlund et al. Archives of Osteoporosis. 2013. Vol. 8, no. 1–2. <https://doi.org/10.1007/s11657-013-0136-1>

110. New perspectives on traumatic bone infections. Tang R.-H., Yang J., Fei J. Chinese Journal of Traumatology. 2020. Vol. 23, no. 6. P. 314–318. <https://doi.org/10.1016/j.cjtee.2020.05.00>
111. Klassifikation und Management des komplexen Beckentraumans. U.T.Bosch, T. Pohlemann, N. Hass et al. Unfallchirurg. 1992. Vol. 95. P. 189–196.
112. Characterization and Comparison of Injuries Caused by Accidental and Non-accidental Blunt Force Trauma in Dogs and Cats. Intarapanich N., McCobb E. Reisman R. Journal of Forensic Sciences. 2016. 61. <https://doi.org/10.1111/1556-4029.13074>
113. Trauma Etiology in Dogs and Cats: A Retrospective Study of 4626 Cases. Cojocaru R, Schuszler L. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Veterinary Medicine. 2021;78. 20. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-vm:2021.0015>
114. Influence of Plate Design on Cortical Bone Perfusion and Fracture Healing in Canine Segmental Tibial Fractures. R. Jain et al. Journal of Orthopaedic Trauma. 1999. Vol. 13, no. 3. P. 178–186. <https://doi.org/10.1097/00005131-199903000-00005>
115. Improved healing of experimental long bone fractures in rabbits by delayed internal fixation. J. C. ELLSASSER et al. *The Journal of Trauma: Injury, 116, 320tion, and Critical Care*. 1975. Vol. 15, no. 10. P. 869–876. <https://doi.org/10.1097/00005373-197510000-00005>
116. Infection after fracture fixation: Current surgical and microbiological concepts. W. J. Metsemakers et al. *Injury*. 2018. Vol. 49, no. 3. P. 511–522. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2016.09.019>.
117. Fractures in small and pet animals, frequencies, classification and therapy. R. Wenkel, K. Kaulfuss *Kleintierpraxis*, 2000. P. 35
118. The biology of fracture healing. Marsell R., Einhorn T. A. *Injury*. 2011. Vol. 42, no. 6. P. 551–555. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2011.03.031>.

119. Молекулярно-біологічні механізми репаративного остеогенезу. Рубленко М. В., Андрієць В. Г., Семеняк С. А. Науковий вісник ветеринарної медицини. 2017. Т 2, № 136. С. 13–21.
120. Modulation of the Inflammatory Response and Bone Healing. M. Maruyama et al. *Frontiers in Endocrinology*. 2020. Vol. 11. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00386>
121. Bone regeneration in inflammation with aging and cell-based immunomodulatory therapy / J. Kushioka et al. *Inflammation and Regeneration*. 2023. Vol. 43, no. 1. <https://doi.org/10.1186/s41232-023-00279-1>
122. LRP5 and bone mass regulation: Where are we now?. Johnson M. L. *BoneKEy Reports*. 2012. Vol. 1. <https://doi.org/10.1038/bonekey.2012.1>
123. Inflammation, fracture and bone repair / F. Loi et al. *Bone*. 2016. Vol. 86. P. 119–130. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2016.02.020>
124. Differential Temporal Expression of Members of the Transforming Growth Factor β Superfamily During Murine Fracture Healing. Cho T.-J., Gerstenfeld L. C., Einhorn T. A. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2002. T. 17, № 3. С. 513–520. <https://doi.org/10.1359/jbmr.2002.17.3.513>
125. Mesenchymal stem cell-macrophage crosstalk and bone healing / J. Pajarinen et al. *Biomaterials*. 2019. Vol. 196. P. 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.12.025>
126. Current concepts of molecular aspects of bone healing. Dimitriou R., Tsiridis E., Giannoudis P. V. *Injury*. 2005. Vol. 36, no. 12. P. 1392–1404. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2005.07.019>
127. Resolution of inflammation: a new therapeutic frontier. Fullerton J. N., Gilroy D. W. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2016. Vol. 15, no. 8. P. 551–567. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.39>
128. The resolution of inflammation. C. D. Buckley et al. *Nature Reviews Immunology*. 2012. Vol. 13, no. 1. P. 59–66. <https://doi.org/10.1038/nri3362>

129. Exploring the full spectrum of macrophage activation. Mosser D. M., Edwards J. P. *Nature Reviews Immunology*. 2008. Vol. 8, no. 12. P. 958–969. <https://doi.org/10.1038/nri2448>
130. Lipoxin A4 Redistributes Myosin IIA and Cdc42 in Macrophages: Implications for Phagocytosis of Apoptotic Leukocytes. K. Reville et al. *The Journal of Immunology*. 2006. Vol. 176, no. 3. P. 1878–1888. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.176.3.1878>
131. Osteal Tissue Macrophages Are Intercalated throughout Human and Mouse Bone Lining Tissues and Regulate Osteoblast Function In Vitro and In Vivo. M. K. Chang et al. *The Journal of Immunology*. 2008. Vol. 181, no. 2. P. 1232–1244. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.2.1232>
132. The cytokines and micro-environment of fracture haematoma: Current evidence. Walters G., Pountos I., Giannoudis P. V. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2017. Vol. 12, no. 3. <https://doi.org/10.1002/term.2593>
133. Systemic inflammation and fracture healing. O. Bastian et al. *Journal of Leukocyte Biology*. 2011. Vol. 89, no. 5. P. 669–673. <https://doi.org/10.1189/jlb.0810446>
134. Impaired Intramembranous Bone Formation during Bone Repair in the Absence of Tumor Necrosis Factor-Alpha Signaling. L. C. Gerstenfeld et al. *Cells Tissues Organs*. 2001. Vol. 169, no. 3. P. 285–294. <https://doi.org/10.1159/000047893>
135. Impaired Fracture Healing in the Absence of TNF- α Signaling: The Role of TNF- α in Endochondral Cartilage Resorption. L. Gerstenfeld et al. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2003. T. 18, № 9. C. 1584–1592. <https://doi.org/10.1359/jbmr.2003.18.9.1584>
136. Soluble interleukin-6 receptor triggers osteoclast formation by interleukin 6. T. Tamura et al. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1993. Vol. 90, no. 24. P. 11924–11928. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.24.11924>
137. Callus mineralization and maturation are delayed during fracture healing in interleukin-6 knockout mice. X. Yang et al. *Bone*. 2007. Vol. 41, no. 6. P. 928–936. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2007.07.022>

138. Effects of Interleukin-6 Ablation on Fracture Healing in Mice. A. Wallace et al. Journal of Orthopaedic Research. 2011. Vol. 29, no. 9. P. 1437–1442.
<https://doi.org/10.1002/jor.21367>
139. MCP/CCR2 Signaling Is Essential for Recruitment of Mesenchymal Progenitor Cells during the Early Phase of Fracture Healing. M. Ishikawa et al. PLoS ONE. 2014. Vol. 9, no. 8. P. e104954.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104954>
140. Біфункціональна дія трансформуючого фактора росту- β в регуляції проліферації та апоптозу клітин нервової системи. Стойка Р.С., Фільченков О.О. Нейрофізіологія. 2001. № 5. С. 376–383
141. Transforming growth factor-beta 1 gene and protein expression associated with atherogenesis of cholesterol-fed rabbits. Jiang M.J. Histol. Histopathol. 2000. Vol. 15 P. 421–428.
142. Endothelial cell integrin alpha 5 beta 1 expression is modulated by cytokines and during migration in vitro. Collo G., Pepper M.S. J. Cell. Sci. 1999. Vol. 112. P. 569–578.
143. Endoglin, a TGF-beta receptor-associated protein, is expressed by smooth muscle cells in human atherosclerotic plaques. Conley B.A., Smith J.D., Guerrero-Esteo M. et al. Atherosclerosis. 2000. Vol. 153. P. 323–335.
144. Cytokine expression in advanced human atherosclerotic plaques: dominance of proinflammatory (Th1) and macrophage-stimulating cytokines. Frostegard J., Ulfgren A.K., Nyberg P. et al. Atherosclerosis. 1999. Vol. 145. P. 33–43.
145. Endothelial cell adhesiveness for human T-lymphocytes is inhibited by transforming growth factor-beta 1. Gamble J.R., Vadas M.A. J. Immunology. 1991. Vol. 146. P. 1149–1154.
146. Action of IL-1 β during fracture healing. J. Lange та ін. Journal of Orthopaedic Research. 2009. T. 28, № 6. С. 778–784.
<https://doi.org/10.1002/jor.21061>

147. Guidebook to Cytokines and their Receptors. Nicola N.A. Oxford: University Press, 1994. 284, p 7.
148. Classical and Paradoxical Effects of TNF- α on Bone Homeostasis. Osta B., Benedetti G., Miossec P. *Frontiers in Immunology*. 2014. T. 5. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00048>
149. Tumor necrosis factor inhibits mesenchymal stem cell differentiation into osteoblasts via the ubiquitin E3 ligase Wwp1. L. Zhao et al. *STEM CELLS*. 2011. Vol. 29, no. 10. P. 1601–1610. <https://doi.org/10.1002/stem.703>
150. Polymethylmethacrylate particles inhibit osteoblastic differentiation of bone marrow osteoprogenitor cells. R. Chiu et al. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2006. Vol. 77A, no. 4. P. 850–856. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.30697>
151. Activation and promotion of adipose stem cells by tumour necrosis factor-alpha preconditioning for bone regeneration. Z. Lu et al. *Journal of Cellular Physiology*. 2013. Vol. 228, no. 8. P. 1737–1744. <https://doi.org/10.1002/jcp.2433>
152. The skeleton as an endocrine organ. DiGirolamo D. J., Clemens T. L., Kousteni S. *Nature Reviews Rheumatology*. 2012. Vol. 8, no. 11. P. 674–683. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2012.157>
153. IL-4 in the Brain: A Cytokine To Remember. S. P. Gadani et al. *The Journal of Immunology*. 2012. Vol. 189, no. 9. P. 4213–4219. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1202246>
154. Cytokines TNF- α , 154NO, IL-17F, and IL-4 Differentially Affect Osteogenic Differentiation of Human Adipose Stem Cells. A. P. Bastidas-Coral et al. *Stem Cells International*. 2016. T. 2016. C. 1–9. <https://doi.org/10.1155/2016/1318256>
155. Establishment of NF- κ B sensing and interleukin-4 secreting mesenchymal stromal cells as an “on-demand” drug delivery system to modulate inflammation. T. Lin et al. *Cytotherapy*. 2017. T. 19, № 9. C. 1025–1034. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2017.06.008>

156. Nitric oxide-induced DNA recombination & glycosaminoglycan mediated differentiation in stem cells: thesis. Kiziltepe T. 2005. 1. <http://hdl.handle.net/1721.1/30204>
157. Expression of markers of activity in cultured human osteoblasts: Effects of interleukin-4 and interleukin-13. C.-J. Silfverswärd et al. Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. 2010. Vol. 70, no. 5. P. 338–342. <https://doi.org/10.3109/00365513.2010.488698>
158. The effect of local IL-4 delivery or CCL2 blockade on implant fixation and bone structural properties in a mouse model of wear particle induced osteolysis. T. Sato et al. Journal of Biomedical Materials Research Part A. 2016. Vol. 104, no. 9. P. 2255–2262. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35759>
159. Preconditioned or IL4-Secreting Mesenchymal Stem Cells Enhanced Osteogenesis at Different Stages. T. Lin et al. Tissue Engineering Part A. 2019. Vol. 25, no. 15-16. P. 1096–1103. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2018.029>
160. Preconditioning of bone marrow-derived mesenchymal stem cells highly strengthens their potential to promote IL-6-dependent M2b polarization. D. Philipp et al. Stem Cell Research & Therapy. 2018. Vol. 9, no. 1. <https://doi.org/10.1186/s13287-018-1039-2>
161. Immuno terminal domain of Smad1 interacting with Hoxc-8 is sufficient to induce bone cell differentiation. X. Yang et al. Bone. 1998. Vol. 23, no. 5. P. S147–S148. [https://doi.org/10.1016/s8756-3282\(98\)90124-7](https://doi.org/10.1016/s8756-3282(98)90124-7)
162. Interleukin (IL)-13 and IL-4 inhibit proliferation and stimulate IL-6 formation in human osteoblasts: evidence for involvement of receptor subunits IL-13R, IL-13R α , and IL-4R α . Frost A, Jonsson KB, Brändström H, Ljunghall S, Nilsson O, Ljunggren Ö. Bone. (2001) 28:268–74. <https://doi.org/10.1016/s8756-328200449-x>
163. Piroxicam Treatment Augments Bone Abnormalities in Interleukin-10 Knockout Mice. K. Holgersen et al. Inflammatory Bowel Diseases. 2015. Vol. 21, no. 2. P. 257–266. <https://doi.org/10.1097/mib.0000000000000269>

164. Concentration-dependent, dual roles of IL-10 in the osteogenesis of human BMSCsviaP38/MAPK and NF- κ B signaling pathways. E. Chen та ін. The FASEB Journal. 2018. T. 32, № 9. C. 4917–4929.
<https://doi.org/10.1096/fj.201701256rrr>
165. Gene Modification of Transforming Growth Factor β (TGF- β) and Interleukin 10 (IL-10) in Suppressing Mt Sonicate Induced Osteoclast Formation and Bone Absorption. L. Yi та ін. Medical Science Monitor. 2018. T. 24. C. 5200–5207. <https://doi.org/10.12659/msm.909720>
166. The Role of the Immune Cells in Fracture Healing. Baht G. S., Vi L., Alman B. A. Current Osteoporosis Reports. 2018. Vol. 16, no. 2. P. 138–145.
<https://doi.org/10.1007/s11914-018-0423-2>
167. Hypoxia preconditioned human adipose derived mesenchymal stem cells enhance angiogenic potential via secretion of increased VEGF and bFGF. L. Liu et al. Cell Biology International. 2013. Vol. 37, no. 6. P. 551–560.
<https://doi.org/10.1002/cbin.10097>
168. An Audit of the effect of Bone Morphogenetic Protein-2 Treatment in patients with non-union of long bone fractures. F. A. Janjua et al. Journal of the Pakistan Medical Association. 2022. URL: <https://doi.org/10.47391/jpma.3312>
169. Bone morphogenetic proteins in open fractures: past, present, and future. A. Nauth et al. Injury. 2009. Vol. 40. P. S27–S31.
[https://doi.org/10.1016/s0020-1383\(09\)70008-7](https://doi.org/10.1016/s0020-1383(09)70008-7)
170. VEGF serum concentrations in patients with long bone fractures: A comparison between impaired and normal fracture healing. K. Sarahrudi et al. Journal of Orthopaedic Research. 2009. Vol. 27, no. 10. P. 1293–1297.
<https://doi.org/10.1002/jor.20906>
171. VEGF Modulates Angiogenesis and Osteogenesis in Shockwave-Promoted Fracture Healing in Rabbits. C.-J. Wang et al. Journal of Surgical Research. 2011. Vol. 171, no. 1. P. 114–119.
<https://doi.org/10.1016/j.jss.2010.01.045>

172. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. R. Florencio-Silva et al. *BioMed Research International*. 2015. Vol. 2015. P. 1–17. <https://doi.org/10.1155/2015/421746>
173. Mechanobiology of bone tissue. Klein-Nulend J., Bacabac R. G., Mullender M. G. *Pathologie Biologie*. 2005. Vol. 53, no. 10. P. 576–580. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2004.12.005>
174. Bone mineralization density distribution in health and disease. P. Roschger et al. *Bone*. 2008. Vol. 42, no. 3. P. 456–466. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2007.10.021>
175. Bone Architecture: Collagen Structure and Calcium/Phosphorus Maps. Tzaphlidou M. *Journal of Biological Physics*. 2008. Vol. 34, no. 1–2. P. 39–49. <https://doi.org/10.1007/s10867-008-9115-y>
176. Структурно-метаболичні особливості кісткової тканини та репаративний остеогенез в умовах експериментального глюкокортикоїдного остеопорозу (огляд літератури). Дедух Н., Батура І. *Ортопедія, травматологія та протезика*. 2010. No. 3. P. 133–138. <https://doi.org/10.15674/0030-598720103133-138>
177. Comparison of the accumulation of macro- and microelements in the bone marrow and bone of wild and farmed red deer (*Cervus elaphus*). K. Tajchman et al. *BMC Veterinary Research*. 2021. Vol. 17, no. 1. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-03041-2>
178. Content and distribution of macro- and micro-elements in the body of pasture-fed young horses. N. GRACE et al. *Australian Veterinary Journal*. 1999. Vol. 77, no. 3. P. 172–176. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1999.tb11228.x>
179. Probable Phase Composition of the Mineral in Bone. *Zeitschrift für Naturforschung* Driessens F.C.M. 1980. Vol. 35, no. 5-6. P. 357–362. <https://doi.org/10.1515/znc-1980-5-601>
180. Bone quality: the material and structural basis of bone strength. Seeman E. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. 2008. Vol. 26, no. 1. P. 1–8. <https://doi.org/10.1007/s00774-007-0793-5>

181. Determinants of the mechanical properties of bones. Martin R. B. *Journal of Biomechanics*. 1991. Vol. 24. P. 79–88. [https://doi.org/10.1016/0021-9290\(91\)90379-2](https://doi.org/10.1016/0021-9290(91)90379-2)
182. On the role of bone damage in calcium homeostasis. J. Martínez-Reina et al. *Journal of Theoretical Biology*. 2008. Vol. 254, no. 3. P. 704–712. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2008.06.007>
183. The Interstitial Metabolism of Calcium in the Bones and Teeth of Rats. Tomlin D. H., Henry K. M., Kon S. K. *British Journal of Nutrition*. 1955. Vol. 9, no. 2. P. 144–156. <https://doi.org/10.1079/bjn19550022>
184. Calcium deficiency: where does the diagnostic criterion come from and by what is bone health influenced?. Fang, A., & Li, K. *Chinese medical journal*. 2014. 127(24). P. 4161–4163
185. Possible role of calcium permselectivity in bone adaptation. Lemaire T., Naili S. *Medical Hypotheses*. 2012. Vol. 78, no. 3. P. 367–369. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2011.12.005>
186. Extracellular and Intracellular Regulation of Calcium Homeostasis. Bronner F. *The Scientific World JOURNAL*. 2001. Vol. 1. P. 919–925. <https://doi.org/10.1100/tsw.2001.48>
187. Effects of thirty elements on bone metabolism. M. Dermience et al. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2015. Vol. 32. P. 86–106. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2015.06.005>
188. Trace Element Nutrition and Bone Metabolism. *Nutrition Research Reviews*. Beattie J. H., Avenell A. 1992. Vol. 5, no. 1. P. 167–188. <https://doi.org/10.1079/nrr19920013>
189. Development and Bone Regeneration Capacity of Premixed Magnesium Phosphate Cement Pastes. A. Ewald et al. *Materials*. 2019. Vol. 12, no. 13. P. 2119. <https://doi.org/10.3390/ma12132119>
190. Effects of Excessive Dietary Phosphorus Intake on Bone Health. C. J. Vorland et al. *Current Osteoporosis Reports*. 2017. Vol. 15, no. 5. P. 473–482. <https://doi.org/10.1007/s11914-017-0398-4>

191. Phosphate as a Signaling Molecule. Kritmetapak K., Kumar R. *Calcified Tissue International*. 2019. Vol. 108, no. 1. P. 16–31. <https://doi.org/10.1007/s00223-019-00636-8>
192. Biocompatibility of magnesium phosphate minerals and their stability under physiological conditions. F. Tamimi et al. *Acta Biomaterialia*. 2011. Vol. 7, no. 6. P. 2678–2685. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.02.007>
193. An update on magnesium and bone health. M. Rondanelli et al. *BioMetals*. 2021. Vol. 34, no. 4. P. 715–736. URL: <https://doi.org/10.1007/s10534-021-00305-0>
194. Infrared analysis of bones in magnesium-deficient rats treated with vitamin K2. Kobayashi M., Hara K., Akiyama Y. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. 2006. Vol. 25, no. 1. P. 12–18. <https://doi.org/10.1007/s00774-006-0722-z>
195. The Effects of Calcium, Magnesium, Phosphorus, Fluoride, and Lead on Bone Tissue / Ż. Ciosek et al. *Biomolecules*. 2021. Vol. 11, no. 4. P. 506. <https://doi.org/10.3390/biom11040506>
196. Dietary Iron Is Associated with Bone Mineral Density in Healthy Postmenopausal Women. M. M. Harris et al. *The Journal of Nutrition*. 2003. Vol. 133, no. 11. P. 3598–3602. <https://doi.org/10.1093/jn/133.11.3598>
197. Severe iron deficiency decreases both bone formation and bone resorption in rats. Katsumata S. et al. *The Journal of nutrition*. 2009. T. 139. №. 2. P. 238–243.
198. Bone Morphology, Strength and Density Are Compromised in Iron-Deficient Rats and Exacerbated by Calcium Restriction. D. M. Medeiros et al. *The Journal of Nutrition*. 2002. Vol. 132, no. 10. P. 3135–3141. <https://doi.org/10.1093/jn/131.10.3135>
199. Inhibitory effects of iron on bone morphogenetic protein 2-induced osteoblastogenesis. Q. Yang et al. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2011. Vol. 26, no. 6. P. 1188–1196. <https://doi.org/10.1002/jbmr.337>

200. Excess iron inhibits osteoblast metabolism. Yamasaki K., Hagiwara H. *Toxicology Letters*. 2009. Vol. 191, no. 2–3. P. 211–215. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2009.08.023>
201. Bone loss caused by iron overload in a murine model: importance of oxidative stress. J. Tsay et al. *Blood*. 2010. Vol. 116, no. 14. P. 2582–2589. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-12-260083>
202. Ferric ion could facilitate osteoclast differentiation and bone resorption through the production of reactive oxygen species. P. Jia et al. *Journal of Orthopaedic Research*. 2012. Vol. 30, no. 11. P. 1843–1852. <https://doi.org/10.1002/jor.22133>
203. Zinc-Deficient Diet Decreases Fetal Long Bone Growth Through Decreased Bone Matrix Formation in Mice. J.-T. Kim et al. *Journal of Medicinal Food*. 2009. Vol. 12, no. 1. P. 118–123. <https://doi.org/10.1089/jmf.2007.0647>
204. Zinc may increase bone formation through stimulating cell proliferation, alkaline phosphatase activity and collagen synthesis in osteoblastic MC3T3-E1 cells. H.-J. Seo et al. *Nutrition Research and Practice*. 2010. Vol. 4, no. 5. P. 356. <https://doi.org/10.4162/nrp.2010.4.5.356>
205. Role of nutritional zinc in the prevention of osteoporosis. Yamaguchi M. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2009. Vol. 338, no. 1-2. P. 241–254. <https://doi.org/10.1007/s11010-009-0358-0>
206. Zinc deficiency suppresses matrix mineralization and retards osteogenesis transiently with catch-up possibly through Runx 2 modulation. I.-S. Kwun et al. *Bone*. 2010. Vol. 46, no. 3. P. 732–741. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2009.11.003>
207. Role of zinc in cellular zinc trafficking and mineralization in a murine osteoblast-like cell line. Nagata M., Lönnerdal B. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2011. Vol. 22, no. 2. P. 172–178. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.01.003>

208. Bone regeneration in alimentary osteoporosis (an experimental study). Dedukh N., & Nikolchenko O. Orthopaedics traumatology and prosthetics. 2009. Vol. 2. P. 34–40. <https://doi.org/10.15674/0030-59872009234-40>
209. The role of trace minerals in osteoporosis. Saltman P. D., Strause L. G. Journal of the American College of Nutrition. 1993. Vol. 12, no. 4. P. 384–389. <https://doi.org/10.1080/07315724.1993.10718327>
210. Морфология костной ткани тел позвонков у самцов крыс после орхиэктомии и введения L-тироксина. Гопкалова И.В., Дедух Н.В. Проблемы эндокринной патологии. 2009. Вып. 4. С. 94–102.
211. Effect of copper deficiency on prenatal development and pregnancy outcome. C. L. Keen et al. The American Journal of Clinical Nutrition. 1998. Vol. 67, no. 5. P. 1003S–1011S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/67.5.1003s>
212. Cobalt and chromium ions reduce human osteoblast-like cell activity in vitro, reduce the OPG to RANKL ratio, and induce oxidative stress. W. P. Zijlstra et al. Journal of Orthopaedic Research. 2011. Vol. 30, no. 5. P. 740–747. <https://doi.org/10.1002/jor.21581>
213. Aluminum and bone: Review of new clinical circumstances associated with Al³⁺ deposition in the calcified matrix of bone. D. Chappard et al. Morphologie. 2016. Vol. 100, no. 329. P. 95–105. <https://doi.org/10.1016/j.morpho.2015.12.001>
214. Human Health Risk Assessment for Aluminium, Aluminium Oxide, and Aluminium Hydroxide. D. Krewski et al. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B. 2007. Vol. 10, sup1. P. 1–269. <https://doi.org/10.1080/10937400701597766>
215. Aluminum negatively impacts calcium utilization and bone in calcium-deficient rats. T. A. Zafar et al. Nutrition Research. 2004. Vol. 24, no. 3. P. 243–259. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2003.12.002>
216. Fs in Bone. Bronner F. Principles of Bone Biology. 2002. P. 359–369. <https://doi.org/10.1016/b978-012098652-1.50124-4>

217. Dynamic analysis of exposure to aluminum and an acidic condition on bone formation in young growing rats. X. Li et al. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2011. Vol. 31, no. 2. P. 295–301. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2010.11.007>
218. Aluminum bone toxicity in immature rats exposed to simulated high altitude. Pilar Martínez M. et al. *Journal of bone and mineral metabolism*. 2011. Vol. 29. C. 526–534.
219. The aluminium content of bone, and mortality risk. H. O. Hellstrom et al. *Age and Ageing*. 2008. Vol. 37, no. 2. P. 217–220. <https://doi.org/10.1093/ageing/afm152>
220. Aluminium and bone disease in chronic renal failure. Malluche H. H. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2002. Vol. 17, suppl 2. P. 21–24. https://doi.org/10.1093/ndt/17.suppl_2.21
221. Strontium and Bone. W. E. Cabrera et al. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1999. Vol. 14, no. 5. P. 661–668. <https://doi.org/10.1359/jbmr.1999.14.5.661>
222. Strontium ranelate inhibits bone resorption while maintaining bone formation in alveolar bone in monkeys (*Macaca fascicularis*). J. Buehler et al. *Bone*. 2001. Vol. 29, no. 2. P. 176–179. [https://doi.org/10.1016/s8756-3282\(01\)00484-7](https://doi.org/10.1016/s8756-3282(01)00484-7)
223. Strontium ranelate: A physiological approach for optimizing bone formation and resorption. Marie P. J. *Bone*. 2006. Vol. 38, no. 2. P. 10–14. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2005.07.029>
224. Dose-dependent effects of strontium on bone of chronic renal failure rats. I. Schrooten et al. *Kidney International*. 2003. Vol. 63, no. 3. P. 927–935. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2003.00809.x>
225. Biochemical and Morphological Changes Associated with Long Bone Abnormalities in Silicon Deficiency. Carlisle E. M. *The Journal of Nutrition*. 1980. Vol. 110, no. 5. P. 1046–1056. <https://doi.org/10.1093/jn/110.5.1046>

226. 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. <https://doi.org/10.15421/022137>

227. Динаміка біохімічних кісткових і ендотеліальних показників за заміщення кісткових дефектів у собак гідроксиапатитною керамікою, легованою кремнієм. Науковий вісник ветеринарної медицини. Рубленко М.В., Чемеровський В.О., Власенко В.М., Ульянович Н.В., Клименко П.П. 2021. № 1. С. 191–200. <https://doi.org/10.33245/2310-4902-2021-165-1-191-200>

228. Silicon: a review of its potential role in the prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis Price C. T. et al. *International journal of endocrinology*. 2013. T. 2013

229. Inorganic Agents for Enhanced Angiogenesis of Orthopedic Biomaterials. M. Šalandová et al. *Advanced Healthcare Materials*. 2021. P. 2002254. <https://doi.org/10.1002/adhm.202002254>

230. Micronutrients in Parenteral Nutrition: Boron, Silicon, and Fluoride. Nielsen F. H. *Gastroenterology*. 2009. Vol. 137, no. 5. P. S55–S60. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.07.072>

231. Effect of dietary boron on growth performance, calcium and phosphorus metabolism, and bone mechanical properties in growing barrows. Armstrong T. A., Spears J. W. *Journal of Animal Science*. 2001. Vol. 79, no. 12. P. 3120. <https://doi.org/10.2527/2001.79123120x>

232. The roles of ions on bone regeneration. E. O'Neill, G. Awale, L. Daneshmandi, O. Umerah, et al. *Drug discovery today*. 2018. Vol. 23 (4). P. 879–890.

233. Effects of boron and calcium supplementation on mechanical properties of bone in rats. Naghii M. R., Torkaman G., Mofid M. *BioFactors*. 2006. Vol. 28, no. 3-4. P. 195–201. <https://doi.org/10.1002/biof.5520280306>

234. Histomorphometric Study of Alveolar Bone Healing in Rats Fed a Boron-Deficient Diet. A. A. Gorustovich et al. *The Anatomical Record: Advances*

in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology. 2008. Vol. 291, no. 4. P. 441–447. <https://doi.org/10.1002/ar.20672>

235. Effect of organic germanium compound (Ge-132) on experimental osteoporosis in rats. Fujii A. et al. General Pharmacology: The Vascular System. 1993. Vol. 24, no. 6. P. 1527–1532. [https://doi.org/10.1016/0306-3623\(93\)90447-6](https://doi.org/10.1016/0306-3623(93)90447-6)

236. Prevention of trabecular bone loss in the mandible of ovariectomized rats. G. Jiang et al. Journal of Oral Science. 2004. Vol. 46, no. 2. P. 75–85. <https://doi.org/10.2334/josnurd.46.75>

237. Advances in Effect of Germanium or Germanium Compound on Animals. Lingjun Li , Tao Ruan , Yingnan Lyu , Bangyuan Wu, Journal of Biosciences and Medicines, 2017, 5, 56–73. <https://doi.org/10.4236/jbm.2017.57006>

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

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

240. Dynamics of acute-phase and endothelial reactions and immune complex formation during bone replacement with germanium-doped calcium-phosphate ceramics of bone fragment fractures in dogs. Todosiuk, T. P., & Rublenko, M. V. Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences. 2023. Vol. 6. № 2. P. 30–36. <https://doi.org/10.32718/ujvas6-2.06>

241. Pathophysiology disrupted bone healing. Sturmer, K.M. Orthopaede. 1996. Vol. 25, № 5. P. 386–393.

242. Protective Effects of Gallium, Germanium, and Strontium Against Ovariectomized Osteoporosis in Rats. D.-w. Qin et al. Biological Trace Element Research. 2013. Vol. 153, no. 1-3. P. 350–354. <https://doi.org/10.1007/s12011-013-9694-8>

243. Bone mineral density is related with previous renal dysfunction caused by cadmium exposure. X. Chen et al. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2011. Vol. 32, no. 1. P. 46–53.
<https://doi.org/10.1016/j.etap.2011.03.007>

244. Biomin: first experience in veterinary medicine. N. K. Ternovoy, I. I. Stoykov, V. V. Vovk, E. V. Tuz, N. N. Kolotilov, N. V. Ulyanchich. *Лучевая диагностика, лучевая терапия*. 2016. № 4. С. 30–32.

245. Functionalization of Synthetic Bone Substitutes. A. Busch et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22, no. 9. P. 4412.
<https://doi.org/10.3390/ijms22094412>

246. Клініко-рентгенологічне та патохімічне обґрунтування остеозаміщення гідроксиапатитною керамікою з β -трикальційфосфатом та аутофібрином, збагаченим тромбоцитами, за осколкових переломів кісток у собак. Шевченко С.М., Рубленко М. В. *Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*. 2022. Т. 24, № 106. С. 87–96.
<https://doi.org/10.32718/nvlvet10614>

247. Динаміка гематологічних показників і реакції гострої фази за остеозаміщення аутофібрином та гідроксиапатитною керамікою з β -трикальційфосфатом осколкових переломів кісток у собак. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. Шевченко С. М., Рубленко М. В. 2022. № 1. С. 188–199.
<https://doi.org/10.33245/2310-4902-2022-173-1-188-199>

248. 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. Vol. 2016. P. 1–9.
<https://doi.org/10.1155/2016/9507342>

249. Кордова кров та перспективи застосування її компонентів в практиці ветеринарної хірургії А.Й Краєвський та ін. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія «Ветеринарна медицина»*. 2021. Вип. 1. № 52. С. 25–30.
<http://repo.snau.edu.ua:8080/xmlui/handle/123456789/9512>

250. Fibrin as a Multipurpose Physiological Platform for Bone Tissue Engineering and Targeted Delivery of Bioactive Compounds. Bujoli B., Scimeca J.-C., Verron E. *Pharmaceutics*. 2019. Vol. 11, no. 11. P. 556. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11110556>

251. Improvement of bone regeneration capability of ceramic scaffolds by accelerated release of their calcium ions. Seol Y. J. et al. *Tissue Engineering Part A*. 2014. T. 20. №. 21–22. C. 2840-2849.

252. Histological Evaluation of Bone Repair with Hydroxyapatite: A Systematic Review. H. L. Oliveira et al. *Calcified Tissue International*. 2017. Vol. 101, no. 4. P. 341–354. <https://doi.org/10.1007/s00223-017-0294-z>

253. Improved repair of rabbit calvarial defects with hydroxyapatite/chitosan/polycaprolactone composite scaffold-engrafted EPCs and BMSCs. H. Yu et al. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2022. Vol. 10. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.928041>

254. Effect of low or high dietary calcium on the morphology of therat femur. H. Chen, D. Hayakawa, S. Emura et al. *Nistol. Histopathol*. 2002. Vol. 17. № 4. P. 1129–1135

255. The efficacy of various alloplastic bone grafts on the healing of rat calvarial defects. Mah J. *The European Journal of Orthodontics*. 2004. Vol. 26, no. 5. P. 475–482. <https://doi.org/10.1093/ejo/26.5.475>

256. Use of multiple alloplastic implants for cosmetic enhancement of structural maxillofacial hypoplasia. Martinez J. *Aesthetic Surgery Journal*. 2003. Vol. 23, no. 6. P. 433–440. <https://doi.org/10.1016/j.asj.2003.09.005>

257. Xenograft use in reconstructive pelvic surgery: a review of the literature. Trabuco E. C., Klingele C. J., Gebhart J. B. *International Urogynecology Journal*. 2007. Vol. 18, no. 5. P. 555–563. <https://doi.org/10.1007/s00192-006-0288-2>

258. Large-Pore Platelet-Rich Fibrin with a Mg Ring to Allow MC3T3-E1 Preosteoblast Migration and to Improve Osteogenic Ability for Bone Defect

Repair. P.-C. Wong et al. International Journal of Molecular Sciences. 2021. Vol. 22, no. 8. P. 4022. <https://doi.org/10.3390/ijms22084022>

259. Comparison of platelet-rich fibrin (PRF) produced using 3 commercially available centrifuges at both high (~ 700 g) and low (~ 200 g) relative centrifugation forces / R. J. Miron et al. Clinical Oral Investigations. 2019. Vol. 24, no. 3. P. 1171–1182. <https://doi.org/10.1007/s00784-019-02981-2>

260. Use of a platelet-rich plasma-collagen scaffold as a bioenhanced repair treatment for management of partial cruciate ligament rupture in dogs. S. J. Sample et al. PLOS ONE. 2018. Vol. 13, no. 6. P. e0197204. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197204>

261. Functional relationship between osteogenesis and angiogenesis in tissue regeneration. F. Diomedea et al. International Journal of Molecular Sciences. 2020. Vol. 21, no 9.

262. Treatment of the sacroiliac joint in patients with leg pain: a randomized-controlled trial. Visser LH, Woudenberg NP, de Bont J, van Eijs F, Verwer K, Jenniskens H, Den Oudsten BL. Eur Spine J. 2013 Oct;22(10):2310-7. <https://doi.org/10.1016/j.spinee.2013.11.004>

263. Cellular Bone Matrix in Spine Surgery – Are They Worth the Risk: A Systematic Review. M. J. Lambrechts et al. Global Spine Journal. 2023. <https://doi.org/10.1177/21925682231205099>

264. Bone and Bone Graft Healing. Marx R. E. Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America. 2007. Vol. 19, no. 4. P. 455–466. <https://doi.org/10.1016/j.coms.2007.07.008>

265. Human Histologic and Histomorphometric Analysis Comparing OsteoGraf/N With PepGen P-15 in the Maxillary Sinus Elevation Procedure. Krauser J. T., Rohrer M. D., Wallace S. S. Implant Dentistry. 2000. Vol. 9, no. 4. P. 298–302. <https://doi.org/10.1097/00008505-200009040-00004>

266. Abstracts presented at the 47th Annual Meeting of the American Society of Dermatopathology October 7-10, 2010 Atlanta, Georgia USA. Journal

of Cutaneous Pathology. 2010. Vol. 38, no. 1. P. 81–177.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0560.2010.01646.x>

267. Guided bone regeneration at dehiscence-type defects using biphasic hydroxyapatite+beta tricalcium phosphate (Bone Ceramic®) or a collagen-coated natural bone mineral (BioOss Collagen®): an immunohistochemical study in dogs. F. Schwarz et al. International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 2007. Vol. 36, no. 12. P. 1198–1206. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2007.07.014>

268. Retracted: Experimental model of bone response to xenografts of bovine origin (Endobon®): a radiological and histomorphometric study. M. P. Ramírez-Fernández et al. Clinical Oral Implants Research. 2010. Vol. 22, no. 7. P. 727–734. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2010.02052.x>

269. Retracted: Bone response to hydroxyapatites with open porosity of animal origin (porcine [OsteoBiol® mp3] and bovine [Endobon®]): a radiological and histomorphometric study. M. Ramírez-Fernández et al. Clinical Oral Implants Research. 2011. Vol. 22, no. 7. P. 767–773. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2010.02058.x>

270. Efficacy of Bone Source™ and Cementek™ in comparison with Endobon™ in critical size metaphyseal defects, using a minipig model. Spies, Christian K G et al. Journal of applied biomaterials & biomechanics. 2010. JABB vol. 8,3. P.175–85.

271. Microporous calcium phosphate ceramics as tissue engineering scaffolds for the repair of osteochondral defects: Biomechanical results. H. O. Mayr et al. Acta Biomaterialia. 2013. Vol. 9, no. 1. P. 4845–4855. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2012.07.040>

272. A new iron calcium phosphate material to improve the osteoconductive properties of a biodegradable ceramic: a study in rabbit calvaria. A. Manchón et al. Biomedical Materials. 2015. Vol. 10, no. 5. P. 055012. <https://doi.org/10.1088/1748-6041/10/5/055012>

273. Synthetic Calcium Phosphate Ceramics for Treatment of Bone Fractures. Döbelin N., Luginbühl R., Böhner M. CHIMIA International Journal for Chemistry. 2010. Vol. 64, no. 10. P. 723–729. <https://doi.org/10.2533/chimia.2010.723>
274. Murphy M.B., Moncivais K., Caplan A.I. Mesenchymal stem cells: environmentally responsive therapeutics for regenerative medicine. Experimental & Molecular Medicine. 2013. Vol. 45, no. 11. P. e54-e54. <https://doi.org/10.1038/emm.2013.94>
275. Застосування наночасток Mg, Fe, Co, Cu, Zn, Ag за переломів кісток та їх ускладнень у собак: автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня доктора ветеринарних наук. 16.00.05 – ветеринарна хірургія. А.В. Телятніков. Біла Церква: Білоцерківський НАУ, 2017. 35 с.
276. Рентгено-макроморфологічна і біохімічна оцінка консолидації переломів довгих трубчастих кісток в умовах остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за остеопорозу в кролів. Тодосюк Т.П., Рубленко М.В., Власенко В.М., Ульянович Н.В. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки. 2022. Т. 24. № 106. С. 149–157. <https://doi.org/10.32718/nvlvet10623>
277. Properties of biomaterials. Lemons J. E., Lucas L. C. The Journal of Arthroplasty. 1986. Vol. 1, no. 2. P. 143–147. [https://doi.org/10.1016/s0883-5403\(86\)80053-5](https://doi.org/10.1016/s0883-5403(86)80053-5)
278. Additive Manufacturing of Bioactive Poly(trimethylene carbonate)/ β -Tricalcium Phosphate Composites for Bone Regeneration. Dienel K. E. G., van Bochove B., Seppälä J. V. Biomacromolecules. 2019. T. 21, № 2. С. 366–375. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.9b01272>
279. Applications of Calcium Phosphate-Based Cancellous Bone Void Fillers in Trauma Surgery. Szpalski M., Gunzburg R. Orthopedics. 2002. Vol. 25, no. 5. <https://doi.org/10.3928/0147-7447-20020502-10>
280. Inorganic materials for bone repair or replacement applications. Hertz A., Bruce I. J. Nanomedicine. 2007. Vol. 2, no. 6. P. 899–918. <https://doi.org/10.2217/17435889.2.6.899>

281. A novel amorphous calcium phosphate polymer ceramic for bone repair: I. Synthesis and characterization. A. M. A. Ambrosio et al. *Journal of Biomedical Materials Research*. 2001. Vol. 58, no. 3. P. 295–301. [https://doi.org/10.1002/1097-4636\(2001\)58:3%3C295::aid-jbm1020%3E3.0.co;2-8](https://doi.org/10.1002/1097-4636(2001)58:3%3C295::aid-jbm1020%3E3.0.co;2-8)
282. Promoting bone-like apatite formation on titanium alloys through nanocrystalline tantalum nitride coatings. J. Xu et al. *Journal of Materials Chemistry B*. 2015. Vol. 3, no. 19. P. 4082–4094. <https://doi.org/10.1039/c5tb00236>
283. Osteointegration, antimicrobial and antibiofilm activity of orthopaedic titanium surfaces coated with silver and strontium-doped hydroxyapatite using a novel blasting process. O' Sullivan C, O' Neill L, O' Leary ND et al. *Drug Deliv Transl Res*. 2021. Vol. 11(2). P. 702–716. <https://doi.org/10.1007/s13346-021-00946-1>
284. Comparison between alkali heat treatment and sprayed hydroxyapatite coating on thermally-sprayed rough Ti surface in rabbit model: Effects on bone-bonding ability and osteoconductivity. Kawai T., Takemoto M., Fujibayashi S. et al. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. 2014. Vol. 103(5). P. 1069–1081. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33281>
285. Treatment of long bone fractures in 125 newborn calves a retrospective study. Nuss K. Spiess A., Feist M. et al. *Tierarztl Prax (G)*. 2011. Vol. 39. P. 15–26.
286. CAD/CAM Ceramic Restorative Materials for Natural Teeth. Spitznagel F. A., Boldt J., Gierthmuehlen P. C. *Journal of Dental Research*. 2018. Vol. 97, no. 10. P. 1082–1091. <https://doi.org/10.1177/0022034518779759>
287. Ceramics in dentistry: Historical roots and current perspectives. Kelly J. R., Nishimura I., Campbell S. D. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 1996. Vol. 75, no. 1. P. 18–32. [https://doi.org/10.1016/s0022-3913\(96\)90413-8](https://doi.org/10.1016/s0022-3913(96)90413-8)
288. The role of *Cutibacterium acnes* in auto-inflammatory bone disorders. Zimmermann P., Curtis N. *European Journal of Pediatrics*. 2018. Vol. 178, no. 1. P. 89–95. <https://doi.org/10.1007/s00431-018-3263-2>
289. Effects and action mechanisms of individual cytokines contained in PRP on osteoarthritis. Z. Wang et al. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2023. Vol. 18, no. 1. <https://doi.org/10.1186/s13018-023-04119-3>

290. Local administration of TGF β -1/VEGF165 gene-transduced bone mesenchymal stem cells for Achilles allograft replacement of the anterior cruciate ligament in rabbits. X. Wei та ін. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2011. Т. 406, № 2. С. 204–210. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.02.015>

291. Application of Platelet-Rich Fibrin and Injectable Platelet-Rich Fibrin in Combination of Bone Substitute Material for Alveolar Ridge Augmentation - a Case Report. I e. L. Chenchet al. Folia Medica. 2017. Vol. 59, no. 3. P. 362–366. <https://doi.org/10.1515/folmed-2017-0044>

292. Гістоморфологічна характеристика остеозаміщення у кролів гідроксиапатитною керамікою та фібрином, збагаченим тромбоцитами. Шевченко С. М., Рубленко М. В., Ульянович Н. В., Клименко П. П. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки. 2021. Т. 23. № 102. С. 43–52. <https://doi.org/10.32718/nvlvet10207>

293. Clinicoradiographic evaluation of advanced-platelet rich fibrin block (i-PRF+ nanohydroxyapatite) compared to nanohydroxyapatite alone in the management of periodontal intrabony defects. J. Mallappa et al. Journal of Indian Society of Periodontology. 2022. Vol. 26, no. 4. P. 359. URL: https://doi.org/10.4103/jisp.jisp_882_20

294. Implant site preparation application of injectable platelet-rich fibrin for vertical and horizontal bone regeneration: A clinical report. P. Thanasisuebwong et al. Journal of Oral Implantology. 2020. <https://doi.org/10.1563/aaid-joi-d-20-00031>

295. Collagen sponges for bone regeneration with rhBMP-2. Geiger M. Advanced Drug Delivery Reviews. 2003. Vol. 55, no. 12. P. 1613–1629. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.08.010>

296. Comparison of fibrinogen- and collagen-based treatments for penetrating wounds with comminuted femur fractures in a Swine model. Rothwell, Stephen W. et al. Journal of special operations medicine : a peer reviewed journal for SOF medical professionals vol. 13,1 (2013): 7-18.

297. Demineralized Bone Matrix Carriers and their Clinical Applications: An Overview. H. Zhang et al. Orthopaedic Surgery. 2019. Vol. 11, no. 5. P. 725–737. <https://doi.org/10.1111/os.12509>
298. Demineralized bone matrix as a vehicle for delivering endogenous and exogenous therapeutics in bone repair. Holt D. J., Grainger D. W. Advanced Drug Delivery Reviews. 2012. Vol. 64, no. 12. P. 1123–1128. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.04.002>
299. Prediction of apical thrombus formation in acute myocardial infarction based on left ventricular spatial flow pattern. B. J. Delemarre et al. Journal of the American College of Cardiology. 1990. Vol. 15, no. 2. P. 355–360. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(10\)80062-2](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(10)80062-2)
300. New Formulations of Demineralized Bone Matrix as a More Effective Graft Alternative in Experimental Posterolateral Lumbar Spine Arthrodesis. G. J. Martin et al. Spine. 1999. Vol. 24, no. 7. P. 637–645. <https://doi.org/10.1097/00007632-199904010-00005>
301. Demineralized bone matrix fibers formable as general and custom 3D printed mold-based implants for promoting bone regeneration / R. U. Rodriguez et al. Biofabrication. 2016. Vol. 8, no. 3. P. 035007. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/8/3/035007>
302. Antibacterial Efficacy of Polymer-Coated Ceramic Microparticles Loaded with a Modified Combination of Antibiotics on the Enterococcus faecalis Biofilm. Zargar, Nazanin et al. Iranian endodontic journal vol. 18,2 (2023): P. 85–90. <https://doi.org/10.22037/iej.v18i2.33041>
303. Local Antibiotic Delivery Ceramic Bone Substitutes for the Treatment of Infected Bone Cavities and Bone Regeneration: A Systematic Review on What We Have Learned from Animal Models. Alegrete, Nuno et al. Materials (Basel, Switzerland) vol. 16,6 2387. 16 Mar. 2023. <https://doi.org/10.3390/ma16062387>
304. Simultaneous mechanical property and biodegradation improvement of wollastonite bioceramic through cu dilute doping. J. Xie et al. Journal of the

Mechanical Behavior of Biomedical Materials. 2016. Vol. 54. P. 60–71.
<https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2015.09.012>

305. Synthesis and mechanical evaluation of Sr-doped calcium-zirconium-silicate (baghdadite) and its impact on osteoblast cell proliferation and ALP activity. T. C. Schumacher et al. Biomedical Materials. 2015. Vol. 10, no. 5. P. 055013. <https://doi.org/10.1088/1748-6041/10/5/055013>

306. Magnesia-doped HA/ β -TCP ceramics and evaluation of their biocompatibility. H.-S. Ryu та ін. Biomaterials. 2004. T. 25, № 3. С. 393–401.
[https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(03\)00538-6](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(03)00538-6)

307. Ceramics for bone replacement. Advances in Ceramic Biomaterials. Baino F. 2017. P. 249–278. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100881-2.00007-5>

308. Plaster of Paris: the orthopaedic surgeon heritage. Hernigou P. International Orthopaedics. 2016. Vol. 40, no. 8. P. 1767–1779.
<https://doi.org/10.1007/s00264-016-3179-2>

309. Plaster of Paris: The forgotten hand splinting material. Colditz J. C. Journal of Hand Therapy. 2002. Vol. 15, no. 2. P. 144–157.
<https://doi.org/10.1053/hanthe.2002.v15.015014>

310. Plaster of Paris as an Alloplastic Implant in the Frontal Sinus. Beeson W. H. Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery. 1981. Vol. 107, no. 11. P. 664–669. <https://doi.org/10.1001/archotol.1981.00790470012004>

311. Multifunctional Hydroxyapatite Composites for Orthopedic Applications: A Review.. George, Suchi Mercy et al. ACS biomaterials science & engineering vol. 8,8 (2022): 3162–3186. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.2c00140>

312. Various ion methods of highly porous hydroxyapatite/polymer nanoscale biocomposites for bone regeneration. Sun F., Zhou H., Lee J. Acta Biomaterialia. 2011. Vol. 7, no. 11. P. 3813–3828.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.07.002>

313. Tricalcium Phosphate Ceramic—A Resorbable Bone Implant: Review and Current Status. Metsger D. S., Driskell T. D., Paulsrud J. R. The Journal of the

American Dental Association. 1982. Vol. 105, no. 6. P. 1035–1038.
<https://doi.org/10.14219/jada.archive.1982.0408>

314. Biphasic calcium phosphate ceramics for bone reconstruction: A review of biological response. J. M. Boulter et al. *Acta Biomaterialia*. 2017. Vol. 53. P. 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.01.076>

315. Regenerating bone with bioactive glass scaffolds: A review of in vivo studies in bone defect models. A. A. El-Rashidy et al. *Acta Biomaterialia*. 2017. Vol. 62. P. 1–28. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.08.030>

316. Dunne N. J., Orr J. F. Flow characteristics of curing polymethyl methacrylate bone cement. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*. 1998. Vol. 212, no. 3. P. 199–207. <https://doi.org/10.1243/0954411981533980>

317. 18F-317ide as a prognostic indicator of bone regeneration. N. Mathavan et al. *Acta Biomaterialia*. 2019. Vol. 90. P. 403–411. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.04.008>

318. The application of Bonelike® Poro as a synthetic bone substitute for the management of critical-sized bone defects – A comparative approach to the autograft technique. A preliminary study. P. O. Pinto et al. *Bone Reports*. 2021. Vol. 14. P. 101064. <https://doi.org/10.1016/j.bonr.2021.101064>

319. Клініко-рентгенологічна, гематологічна і біохімічна оцінка остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за осколкових переломів трубчастих кісток у собак. Тодосюк Т.П., Рубленко М.В. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2023. № 1. С. 162–173. <https://doi.org/10.33245/2310-4902-2023-180-1-162-173>

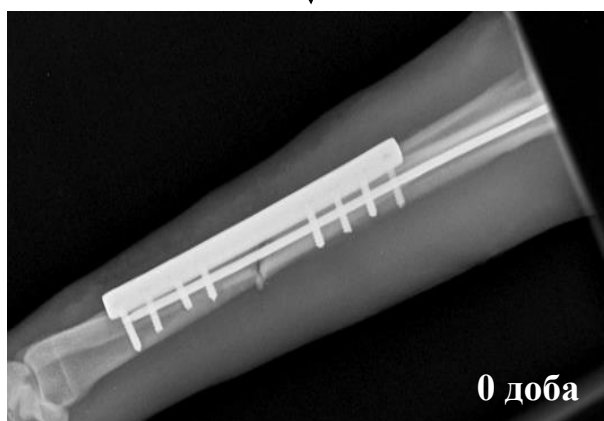
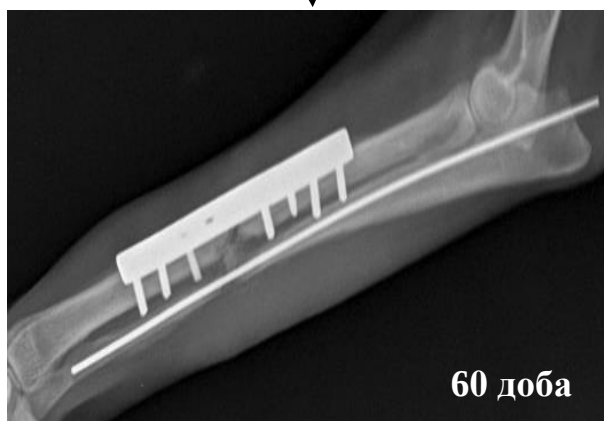
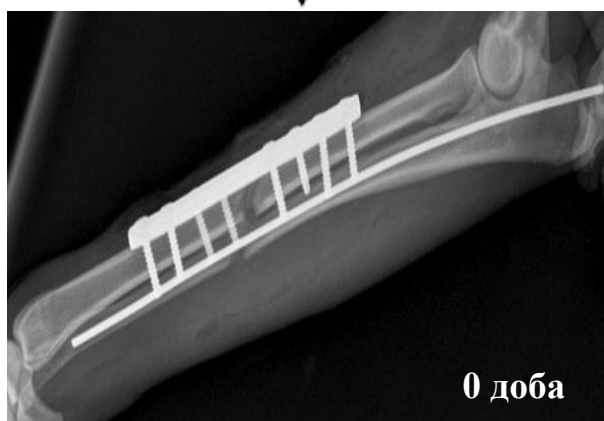
320. Рубленко М.В., Тодосюк Т.П., Чемеровський В.О., Ульянович Н.В., Фірстов С.О., Коломієць В.В. Остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою кремнієм і германієм, за переломів кісток у тварин: науково-практична монографія. М.В. Рубленко та ін. Біла Церква: БНАУ, 2023. 83 с.

321. Регенерація кістки при експериментально-індукованому порушенні балансу глюкокортикоїдів у білих лабораторних крис. И.А. Батура, Н.А. Ашукіна, А. А. Шаповалов. Таврич. медико-біол. вісник. 2004. Т. 7, № 4. С. 134–136.
322. Singh index. Pant H, Petla A, Weerakkody Y, et al. Reference article, Radiopaedia.org (Accessed on 27 Oct 2023) <https://doi.org/10.53347/rID-31332>
323. Intermittent cyclical etidronate treatment of postmenopausal osteoporosis. Watts, N.B. Genant H.K. et al. The New England journal of medicine vol. 19903232. 73-9. <https://doi.org/10.1056/NEJM199007123230201>
324. Динаміка гематологічних показників у кролів за остеозаміщення гідроксиапатитною керамікою, легованою германієм, та в комплексі з активатором згортання крові. Тодосюк Т.П., Рубленко М.В., Власенко В.М. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки. 2021. Т. 23. № 102. С. 78–86.
325. Рубленко М.В., Власенко В.М. Рентгенологічна та патохімічна характеристика остеопорозного процесу в кролів. Науковий вісник ветеринарної медицини. 2022. № 1. С. 170–178. <https://doi.org/10.33245/2310-4902-2022-1-1-170-178>
326. Carter J.M. fibroblastic activities post implantation of cobalt chromium alloy and pure germanium in rabbits. Carter J.M. Artif. Organs. 1984. Vol. 8, №1. P. 102–104.
327. Therapeutic effects of organic germanium. Goodman S. *Medical hypotheses*. 198826 (3). P. 207–215. [https://doi.org/10.1016/0306-9877\(88\)90101-6](https://doi.org/10.1016/0306-9877(88)90101-6)

ДОДАТКИ

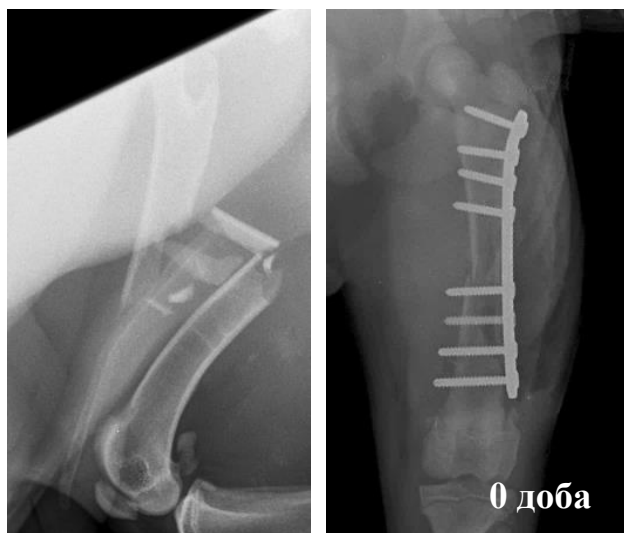
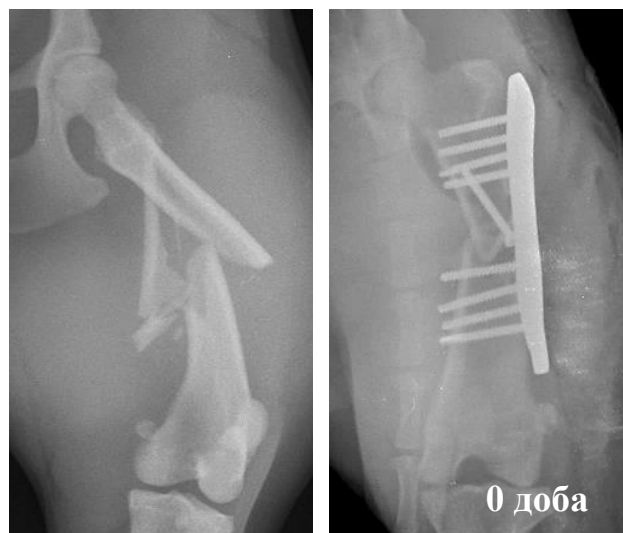
ДОДАТОК А**Складні осколкові переломи довгих трубчастих кісток у собак****ДОДАТОК А1**

Рентгенограми кісток передпліччя собак контрольної та дослідної груп у різні терміни їх консолідації

ГТЛGeг-700**ГТГ-700**

ДОДАТОК А2

**Рентгенограми стегнових кісток собак контрольної та дослідної груп у
різні терміни їх консолідації**

ГТлGer-700**ГТГ-700**

ДОДАТОК Б

Остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою за складних осколкових переломів довгих трубчастих кісток у собак з системним остеопорозом (клінічні випадки)

ДОДАТОК Б1

I – німецька вівчарка, вік – 3 міс., стать – самка, вага – 11 кг, утримання – квартирне; причина перелому – падіння зі сходів; годівля – повнораціонний сухий корм Maxi Puppy.

II – німецька вівчарка, вік – 4 міс., стать – самець, утримання – вольєрне; причина перелому невідома; годівля – сухий корм для цуценят німецької вівчарки German Shepherd Puppy від фірми Royal Canin.

III – німецька вівчарка, вік – 1,5 р., стать – самець, вольєрне утримання, годівля — сухий корм для дорослих собак породи Німецька вівчарка Royal Canin German Shepherd Adult; причина перелому невідома.

ДОДАТОК Б2

**Динаміка гематологічних показників за остеозаміщення
кальцій-фосфатною керамікою у собак з остеопорозом**

Доба		Еритроцити, Т/л	Лейкоцити, Г/л	Тромбоцити, Г/л	Гемоглобін, г/л
Норма		5–8,5	8,5–10,5	250–550	110–170
Клінічно здорові, (n=20)		6,7±0,06	8,75±0,09	275±7,81	137±0,8
Після травми	I	7,3	10,2	253	124
	II	7,5	9,9	268	119
	III	5,9	9,7	273	129
3	I	6,1	10,7	<u>267</u>	121
	II	6,3	<u>10,6</u>	<u>281</u>	<u>112</u>
	III	<u>5,5</u>	<u>10,3</u>	<u>241</u>	<u>115</u>
7	I	6,3	12,1	<u>263</u>	119
	II	<u>6,3</u>	<u>11,4</u>	<u>275</u>	<u>111</u>
	III	<u>5,7</u>	<u>11,8</u>	<u>240</u>	<u>120</u>
14	I	6,6	12,2	<u>265</u>	119
	II	<u>6,2</u>	<u>11,9</u>	<u>275</u>	<u>117</u>
	III	<u>6,0</u>	<u>12,7</u>	<u>256</u>	<u>123</u>
30	I	7,0	12,0	<u>268</u>	129
	II	<u>6,5</u>	<u>11,4</u>	<u>278</u>	<u>126</u>
	III	<u>5,9</u>	<u>11,8</u>	<u>273</u>	<u>129</u>
60	I	6,7	10,6	<u>266</u>	138
	II	<u>6,9</u>	<u>11,0</u>	<u>276</u>	<u>134</u>
	III	<u>5,6</u>	<u>9,9</u>	<u>289</u>	<u>131</u>
90	I	6,7	9,2	<u>268</u>	141
	II	<u>6,5</u>	<u>10,0</u>	<u>278</u>	<u>137</u>
	III	<u>5,7</u>	<u>8,9</u>	<u>285</u>	<u>133</u>

ДОДАТОК БЗ

Динаміка біохімічних показників за остеозаміщення різними видами кальцій-фосфатної кераміки у собак з остеопорозом

Доба		Са, ммоль/л	Р, ммоль/л	Са:Р	Загальний білок, г/л	Альбумін, г/л	Глобулін, г/л	А:Г
Клінічно здорові, (n=10)		2,51±0,03	1,32±0,03	1,9±0,16	73,14±0,51	40,74±0,58	32,4±0,21	1,26±0,11
Після травми	I	1,15	2,42	0,47	74,23	37,45	31,64	1,18
	II	1,23	2,51	0,49	75,29	36,96	31,0	1,19
	III	2,43	1,3	1,86	73,61	40,0	33,94	1,18
3	I	1,14	2,39	0,48	74,38	38,0	30,95	1,23
	II	<u>1,2</u>	<u>2,49</u>	<u>0,48</u>	75,34	<u>36,94</u>	31,33	<u>1,18</u>
	III	<u>2,46</u>	<u>1,31</u>	<u>1,88</u>	73,7	<u>36,88</u>	34,86	<u>1,06</u>
7	I	1,5	2,4	0,63	75,93	38,03	31,42	1,21
	II	<u>1,22</u>	<u>2,47</u>	<u>0,49</u>	76,42	<u>36,67</u>	31,59	<u>1,16</u>
	III	<u>2,47</u>	<u>1,37</u>	<u>1,8</u>	74,16	<u>37,64</u>	33,97	<u>1,11</u>
14	I	1,19	1,9	0,63	76,13	38,75	32,08	1,21
	II	<u>1,23</u>	<u>2,34</u>	<u>0,53</u>	76,63	<u>37,52</u>	32,42	<u>1,16</u>
	III	<u>2,46</u>	<u>1,35</u>	<u>1,8</u>	74,68	<u>39,12</u>	33,87	<u>1,16</u>
30	I	1,36	1,69	0,8	77,46	38,79	32,44	1,2
	II	<u>1,3</u>	<u>2,0</u>	<u>0,65</u>	76,95	<u>37,65</u>	<u>32,47</u>	<u>1,16</u>
	III	<u>2,5</u>	<u>1,3</u>	<u>1,92</u>	73,92	<u>39,95</u>	<u>33,12</u>	<u>1,22</u>
60	I	1,49	1,41	1,06	76,84	39,68	32,49	1,22
	II	<u>1,62</u>	<u>1,67</u>	<u>0,97</u>	74,97	<u>39,86</u>	<u>32,5</u>	<u>1,23</u>
	III	<u>2,53</u>	<u>1,32</u>	<u>1,92</u>	73,19	<u>40,69</u>	<u>32,75</u>	<u>1,24</u>
90	I	2,46	1,31	1,88	74,14	39,95	33,0	1,21
	II	<u>2,54</u>	<u>1,4</u>	<u>1,81</u>	72,97	<u>40,12</u>	32,64	<u>1,23</u>
	III	<u>2,51</u>	<u>1,33</u>	<u>1,89</u>	73,1	<u>41,0</u>	<u>32,0</u>	<u>1,28</u>

ДОДАТОК Б4

**Динаміка біохімічних показників за остеозаміщення різними видами
кальцій-фосфатної кераміки у собак з остеопорозом**

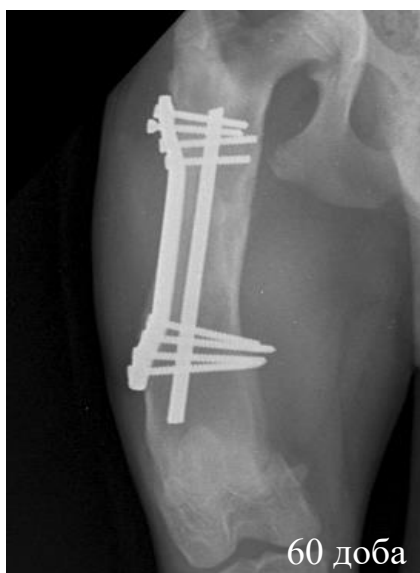
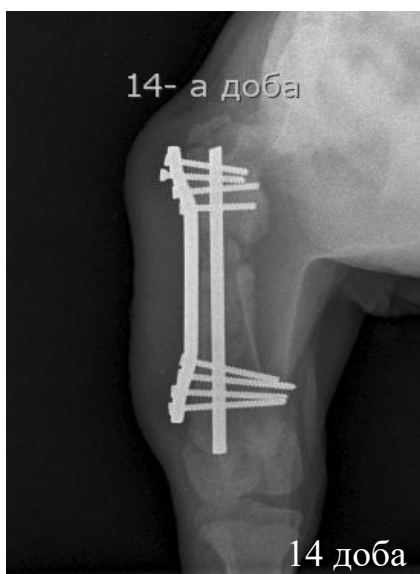
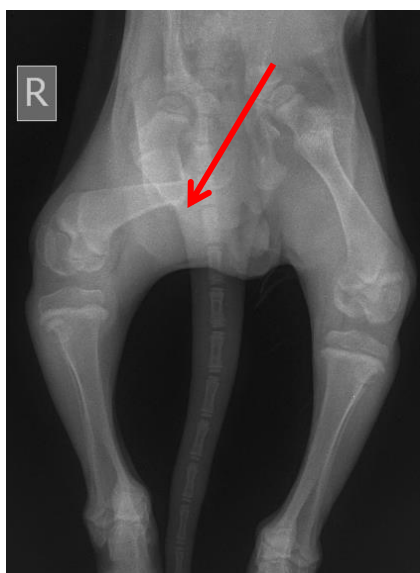
Доба		Протеїн С, НВ	НО, ммоль/л	Церулоплазмін, мг/л	ЦІК, ум.од.	
					великомо- лекулярні	дрібномоле- кулярні
Клінічно здорові, (n=10)		1,38±0,05	26,11±0,54	87,72±0,33	8,1±0,48	18,3±0,42
Після травми	I	1,34	26,45	88,18	8,1	22,4
	II		27,38	89,76	8,3	21,3
	III	1,3	29,84	97,47	8,4	20,3
3	I	0,9	30,45	90,47	8,3	24,8
	II	<u>1,14</u>	<u>31,57</u>	<u>92,47</u>	<u>8,3</u>	<u>22,6</u>
	III	<u>1,11</u>	<u>32,75</u>	<u>99,84</u>	<u>8,6</u>	<u>25,3</u>
7	I	1,16	34,0	94,45	8,5	28,3
	II	<u>1,18</u>	<u>34,58</u>	<u>95,27</u>	<u>8,5</u>	<u>25,9</u>
	III	<u>1,24</u>	<u>37,59</u>	<u>100,53</u>	<u>9,2</u>	<u>26,7</u>
14	I	1,2	34,48	95,16	8,5	29,5
	II	<u>1,18</u>	<u>35,52</u>	<u>99,53</u>	<u>8,7</u>	<u>29,6</u>
	III	<u>1,35</u>	<u>36,05</u>	<u>102,85</u>	<u>9,0</u>	<u>27,3</u>
30	I	1,26	34,0	95,51	8,3	29,5
	II	<u>1,26</u>	<u>35,23</u>	<u>96,83</u>	<u>8,7</u>	<u>28,4</u>
	III	<u>1,37</u>	<u>33,96</u>	<u>95,32</u>	<u>8,6</u>	<u>21,4</u>
60	I	1,31	32,86	95,0	8,3	27,4
	II	<u>1,33</u>	<u>33,91</u>	<u>94,04</u>	<u>8,3</u>	<u>23,5</u>
	III	<u>1,37</u>	<u>28,0</u>	<u>89,34</u>	<u>8,0</u>	<u>19,8</u>
90	I	1,39	27,18	90,35	8,1	21,1
	II	<u>1,36</u>	<u>26,36</u>	<u>88,0</u>	<u>8,3</u>	<u>19,2</u>
	III	<u>1,39</u>	<u>26,23</u>	<u>87,21</u>	<u>8,0</u>	<u>18,2</u>

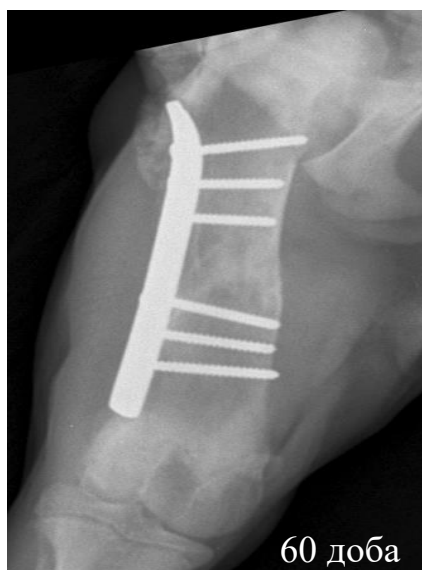
ДОДАТОК Б5
Показники біохімічних маркерів кісткового метаболізму
у собак з остеопорозом

Доба		ЗЛФ, од./л	КіЛФ, од./л	ТрКФ, од./л
Клінічно здорові, (n=10)		43,7±0,21	25,7±0,6	22,1±0,36
Після травми	I	47,1	25,7	23,0
	II	49,2	26,2	24,0
	III	48,1	26,9	23,6
3	I	49,5	26,2	23,5
	II	<u>50,5</u>	<u>27,1</u>	<u>24,1</u>
	III	<u>51,6</u>	<u>35,8</u>	<u>24,7</u>
7	I	50,3	27,0	23,9
	II	<u>52,3</u>	<u>28,2</u>	<u>24,4</u>
	III	<u>54,7</u>	<u>39,4</u>	<u>31,8</u>
14	I	52,5	31,3	27,1
	II	<u>53,8</u>	<u>33,6</u>	<u>27,7</u>
	III	<u>59,2</u>	<u>43,5</u>	<u>34,6</u>
30	I	54,8	31,0	25,2
	II	<u>55,7</u>	<u>33,6</u>	<u>27,9</u>
	III	<u>57,8</u>	<u>37,3</u>	<u>29,3</u>
60	I	53,2	30,1	25,2
	II	<u>50,3</u>	<u>29,7</u>	<u>24,2</u>
	III	<u>44,9</u>	<u>27,0</u>	<u>22,3</u>
90	I	45,1	28,6	24,6
	II	<u>44,0</u>	<u>26,0</u>	<u>23,3</u>
	III	<u>43,5</u>	<u>25,9</u>	<u>22,4</u>

ДОДАТОК Б6

Перелом стегнової кістки у собаки за системного остеопорозу (I)



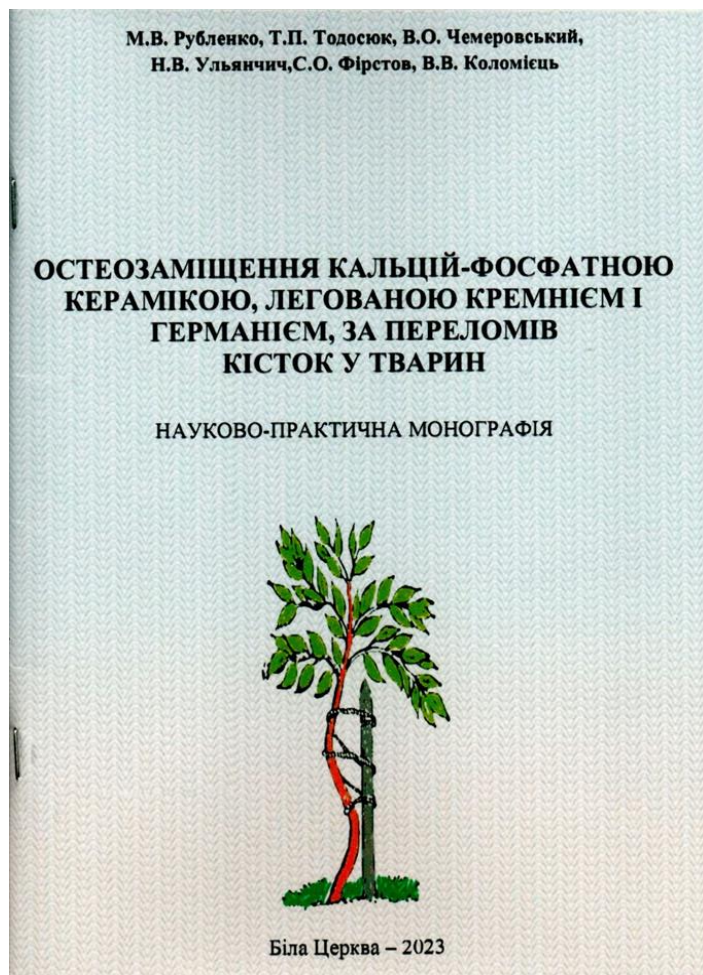
ДОДАТОК Б7**Перелом стегнової кістки у собаки за системного остеопорозу (II)**

ДОДАТОК Б8**Перелом кісток гомілки у собаки з явищами остеопорозу (III)**

ДОДАТОК В

Акти та картки зворотного зв'язку про впровадження матеріалів дисертаційної роботи у навчальний процес, наукові дослідження та у ветеринарну практику клінік дрібних домашніх тварин України

ДОДАТОК В1



УДК 636.09:616-001.5:617(076.5)

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; Ульянич 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: **Льницький 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).

© БНАУ, 2023

ДОДАТОК В2

УЗГОДЖЕНО

Проректор з науково-педагогічної роботи
Державного біотехнологічного університету

« 5 » вересня 2023 р.

Максим СЕРІК

ЗАТВЕРДЖУЮ

В.о. ректора

Державного біотехнологічного університету

« 5 » вересня 2023 р.

Андрій КУДРЯШОВ

УЗГОДЖЕНО

Проректор з наукової роботи
Державного біотехнологічного університету

« 5 » вересня 2023 р.

Валерій МИХАЙЛОВ

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів дисертаційної роботи в освітній процес
закладів вищої освіти

Дійсним актом підтверджується, що результати дисертаційної роботи *Тодосюк Тетяни Петрівни* на тему: «Клініко-експериментальне обґрунтування остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за складних осколкових переломів кісток у собак», представленої на здобуття наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 211 – ветеринарна медицина, виконаної на кафедрі хірургії та хвороб дрібних домашніх тварин Білоцерківського національного аграрного університету аспіранткою протягом 2019–2023 рр., впроваджено в освітній процес кафедри: Ветеринарної хірургії та репродуктології.

1. Вид впроваджених результатів: застосування легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки за складних осколкових переломів кісток у дрібних домашніх тварин. Доведена ефективність досліджуваних керамічних матеріалів за наступними клініко-рентгенологічними показниками: початок опирання та повне відновлення функції травмованої кінцівки, скорочення терміну консолідації переломів. Підтверджено, що легована германієм кераміка є біосумісним матеріалом, має виражені остеокондуктивні та остеоіндуктивні властивості, що узгоджується з динамікою біохімічних показників.

2. Форма впровадження: науково-практична монографія «Остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою кремнієм і германієм, за переломів кісток у тварин».

3. Новизна результатів дисертаційної роботи: полягає у клініко-патогенетичному обґрунтуванні вибору оптимального матеріалу для заміщення з метою оптимізації консолідації складних осколкових переломів довгих трубчастих кісток у собак.

4. Перелік курсів і дисциплін, у рамках яких впроваджено результати дисертаційної роботи: по кафедрі ветеринарної хірургії та репродуктології, за дисципліною Ветеринарна хірургія; Хвороби дрібних тварин (спеціальність 211 – Ветеринарна медицина).

5. Соціальний і науково-економічний ефект: підвищення якості освіти та ознайомлення майбутніх фахівців з рекомендаціями щодо застосування легованої кальцій-фосфатної кераміки у сучасних протоколах лікування складних осколкових переломів, які потребують остеозаміщення, у тварин-компаньйонів.

Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри: протокол № 1 від « 5 » вересня 2023 р.

Завідувач кафедри ветеринарної хірургії та
репродуктології, д-р вет. наук, професор

Дмитро СЛЮСАРЕНКО

Відповідальний за впровадження, аспірантка

Тетяна ТОДОСЮК

ДОДАТОК ВЗ

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

В.о. ректор Львівського
національного університету
ветеринарної медицини та
біотехнологій імені
С.З. Гжицького, професор
В.В. Стибель
«14» серпня 2023 р.



АКТ

**впровадження матеріалів дисертаційної роботи
у навчальний процес**

Матеріали дисертаційної роботи аспірантки кафедри хірургії та хвороб дрібних домашніх тварин Білоцерківського національного аграрного університету Тодосюк Тетяни Петрівни «Клініко-експериментальне обґрунтування остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за складних осколкових переломів кісток у собак» використовуються в навчальному процесі при викладанні дисциплін: «Загальна і спеціальна хірургія», «Хірургічні хвороби тварин з анестезіологією» і наукових дослідженнях на кафедрі хірургії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри хірургії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького (протокол № 8 від 31» серпня 2023 р.).

В.о. зав. кафедри хірургії,
к.в.н., доцент

В.В. Пріцак

ДОДАТОК В4

ЗАТВЕРДЖУЮ

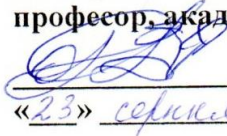
Проректор з наукової роботи
та інноваційної діяльності
Національного університету
біоресурсів і природокористування
України, доктор сільськогосподарських
наук, доцент



Вадим КОНДРАТЮК
_____ 2023 р.

ПОГОДЖЕНО

Проректор з науково-педагогічної
роботи та розвитку Національного
університету біоресурсів і
природокористування України,
доктор економічних наук,
професор, академік НААН

 Сергій КВАША
«23» серпня 2023 р.

АКТ

про впровадження результатів дисертації
у навчальний процес

Даним актом стверджується, що результати дисертаційної роботи на тему: «Клініко-експериментальне обґрунтування остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за складних осколкових переломів кісток у собак», що представлена на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 21 «Ветеринарна медицина» та спеціальності 211 «Ветеринарна медицина», виконаної аспіранткою кафедри хірургії та хвороб дрібних домашніх тварин Білоцерківського національного аграрного університету Тодосюк Тетяною Петрівною, розглянуто на засіданні кафедри хірургії і патофізіології імені академіка І.О. Поваженка Національного університету біоресурсів і природокористування України (протокол № 2 від « 22 » серпня 2023 року).

Результати дослідження впроваджено у навчальну програму кафедри при викладанні дисциплін «Загальна і спеціальна хірургія», «Хвороби собак і котів» щодо застосування легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки за складних осколкових переломів кісток у тварин, при підготовці фахівців з ОС «Магістр» із спеціальності 211 «Ветеринарна медицина» у Національному університеті біоресурсів і природокористування України.

Декан факультету ветеринарної медицини,
доктор біологічних наук,
професор, академік НААН

 Микола Цвіліховський

Завідувач кафедри
хірургії і патофізіології
імені академіка І.О. Поваженка,
доктор ветеринарних наук, доцент

 Микола МАЛЮК

ДОДАТОК В5

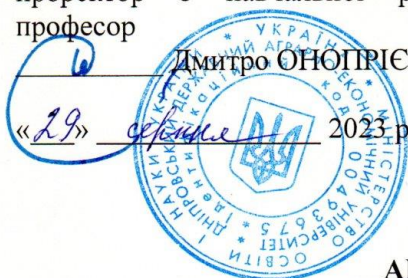
«Затверджую»

Перший проректор –
проректор з навчальної роботи,
професор

Дмитро ОНОПРИЄНКО

«19»

серпня 2023 р.



«Погоджено»

Проректор з наукової та
інноваційної діяльності, професор

Юрій ТКАЛІЧ

«19»

серпня 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Матеріали дисертаційної роботи аспірантки кафедри хірургії та хвороб дрібних домашніх тварин Білоцерківського національного аграрного університету Тодосюк Тетяни Петрівни «Клініко-експериментальне обґрунтування остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за складних осколкових переломів кісток у собак» використовуються в навчальному процесі за програмою підготовки здобувачів другого (магістерського) і третього (освітньо-наукового) рівнів вищої освіти, а також наукових дослідженнях на кафедрі ветеринарної хірургії і репродуктології Дніпровського державного аграрно-економічного університету.

Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри ветеринарної хірургії і репродуктології Дніпровського державного аграрно-економічного університету (протокол № 1 від 28.08.2023 р.).

Завідувач кафедри ветеринарної
хірургії і репродуктології ДДАЕУ,
професор

Дмитро БІЛИЙ

ДОДАТОК В6

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Ректор Сумського НАУ

доктор сільськогосподарських наук,

професор, академік НААН України



 Василь ЛАДИКА

“ ” 2023 р.

КАРТКА ЗВОТНОГО ЗВ'ЯЗКУ

Матеріали дисертаційної роботи аспірантки кафедри хірургії та хвороб дрібних домашніх тварин Білоцерківського національного аграрного університету Тодосюк Тетяни Петрівни «Клініко-експериментальне обґрунтування остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за складних осколкових переломів кісток у собак» використовуються в навчальному процесі при викладанні дисциплін «Загальна та спеціальна хірургія», «Оперативна хірургія, топографічна анатомія, анестезіологія» і наукових дослідженнях на кафедрі акушерства та хірургії Сумського національного аграрного університету.

Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри акушерства та хірургії Сумського національного аграрного університету (протокол № 15 від “22” серпня 2023 р.).

Завідувач кафедри акушерства і хірургії, професор



Оксана ШКРОМАДА

ДОДАТОК В7

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

В.о. директора Інституту проблем
матеріалознавства

ім. І.М. Францевича НАН України

член-кор. НАН України

Геннадій БАГЛЮК

2023 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Матеріали дисертаційної роботи аспірантки кафедри хірургії та хвороб дрібних домашніх тварин Білоцерківського національного аграрного університету Тодосюк Тетяни Петрівни «Клініко-експериментальне обґрунтування остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за складних осколкових переломів кісток у собак» використовуються у наукових дослідженнях Інституту проблем матеріалознавства імені І.М. Францевича Національної академії наук України.

Розглянуто і схвалено на засіданні відділу фізики міцності і пластичності металів (протокол № 5 від “14” вересня 2023 року).

Завідувач відділу фізики міцності
і пластичності металів,
доктор фізико-математичних наук,
професор, академік НАН України

Сергій ФІРСТОВ

ДОДАТОК В8

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Директор Інституту біохімії

імені О.В. Палладіна НАН

професор, академік НАН України

та НАМН України



С.В. Комісаренко

2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Матеріали дисертаційної роботи аспірантки кафедри хірургії та хвороб дрібних домашніх тварин Білоцерківського національного аграрного університету Тодосюк Тетяни Петрівни «Клініко-експериментальне обґрунтування остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за складних осколкових переломів кісток у собак» використовуються у наукових дослідженнях Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

Розглянуто і схвалено на розширеному засіданні відділу структури та функції білка Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України (протокол № 9 від “11” вересня 2023 року).

Заступник директора з наукової роботи,
завідувач відділу структури та функції білку,
доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник

В.О. Чернишенко

ДОДАТОК В9

Головний лікар
приватної клініки ветеринарної
медицини "Ветплюс"
м. Біла Церква

_____ Є.М. Круглов

"28" вересня 2023 р.

АКТ

**щодо апробації кальцій-фосфатної кераміки на основі гідроксипатиту
і β -трикальційфосфату, легованої германієм, за складних
осколкових переломів у собак**

Складений у тому, що собакам (n=10), які надходили в клініку, після рентгенологічного підтвердження складних осколкових переломів, проводили остеосинтез із заміщенням кісткових дефектів керамікою на основі гідроксипатиту і β -трикальційфосфату, легованою германієм. За їх використання репаративний остеогенез прискорювався в 1,5 раза, у порівнянні із результатами пацієнтів (собаки, n=10), які мали аналогічні переломи, проте в них виконувався остеосинтез із застосування нелегованої кальцій-фосфатної кераміки.

Аспірантка кафедри хірургії
та хвороб дрібних домашніх тварин
ФВМ БНАУ

Головний лікар приватної клініки
ветеринарної медицини "Ветплюс"

 Т.П. Тодосюк

 Є.М. Круглов



ДОДАТОК В10

«Затверджую»
 Проректор з освітньої, виховної
 та міжнародної діяльності
 Білоцерківського національного
 аграрного університету,
 доктор наук, професор

 Тетяна ДИМАНЬ
 «26» 09 2023 р.

АКТ

про впровадження результатів у освітній процес

Даним актом підтверджується, що результати дисертаційної роботи Тодосюк Тетяни Петрівни на тему **„Клініко-експериментальне обґрунтування остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за складних осколкових переломів кісток у собак“**, представленої на здобуття наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 211 „Ветеринарна медицина“ використовується у освітньому процесі на факультеті ветеринарної медицини. Зокрема, результати щодо клініко-експериментального обґрунтування імплантації кальцій фосфатної кераміки, легованої германієм, за складних осколкових переломів кісток у собак використовуються під час викладання основних освітніх компонентів „Травматологія і ортопедія дрібних тварин“, „Хвороби екзотичних тварин та дикої фауни“, „Загальна та спеціальна хірургія великих тварин“ для здобувачів другого (магістерського) рівня вищої освіти зі спеціальності 211 „Ветеринарна медицина“ у Білоцерківському національному аграрному університеті.

Декан факультету
 ветеринарної медицини,
 д-р ветеринарних наук, доцент

 Світлана ВЛАСЕНКО

Завідувач кафедри хірургії та хвороб
 дрібних домашніх тварин,
 д-р ветеринарних наук, професор
 академік НААНУ

 Михайло РУБЛЕНКО

ДОДАТОК В11

Головний лікар приватної
клініки ветеринарної медицини
“Мегавет”
м. Біла Церква
вул. Короленка, 38
_____ Тарасевич М.А.

“21” Велесня 2023 р.

АКТ
впровадження результатів дисертаційної роботи
у ветеринарну практику

Складений у тому, що матеріали дисертаційної роботи „Клініко-експериментальне обґрунтування остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за складних осколкових переломів кісток у собак“ аспірантки кафедри хірургії та хвороб дрібних домашніх тварин Білоцерківського національного аграрного університету Тодосюк Тетяни Петрівни, використовуються під час проведення остеосинтезу у випадку складних осколкових переломів в собак, із заміщенням їх дефектів апробованою аспіранткою керамікою на основі гідроксиапатиту і β -трикальційфосфату, легованою германієм. За їх використання репаративний остеогенез прискорюється в 1,5 раза, у порівнянні із собаками, в яких виконувався остеосинтез з ідентичними переломами тільки із застосування нелегованої біокераміки.

Головний лікар приватної клініки
ветеринарної медицини “Мегавет”



Тарасевич М.А.

Аспірантка кафедри хірургії
та хвороб дрібних домашніх
тварин БНАУ

Тодосюк Т.П.

ДОДАТОК В12

Ветеринарна клініка+аптека
«Прайд» (ФОП Мельник В.М.)
м. Біла Церква,
вул. Таращанська, 191а
«14» вересня 2023 р.

АКТ

**щодо апробації легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки
за складних осколкових переломів довгих
трубчастих кісток у собак**

Складений у тому, що після рентгенологічного підтвердження складних осколкових переломів кісток собакам, які находили в клініку (n=10) під час проведення остеосинтезу додатково проводили остеозаміщення кісткових дефектів гранулами кальцій-фосфатної кераміки, легованої германієм. За використання даних біоматеріалів репаративний остеогенез прискорювався в 1,5 раза.

Головний лікар
ветеринарної клініки «Прайд»

Аспірантка кафедри хірургії
та хвороб дрібних домашніх
тварин БНАУ



Мельник В.М.

Тодосюк Т.П.

ДОДАТОК В13



КДТ «Ветеринарна допомога»
(ФОП Тихоненко С.С.)
м. Біла Церква,
вул. Шолом-Алейхем, 44
« 4 » вересня 2023 р.

АКТ

**щодо апробації легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки
за складних осколкових переломів довгих
трубчастих кісток у собак**

Складений у тому, що після рентгенологічного підтвердження переломів собакам у кількості 10 голів, які находили в клініку, під час проведення остеосинтезу за складних осколкових переломів додатково дефекти заміщували гранулами кальцій-фосфатної кераміки, легованої германієм. Після застосування комбінації цих матеріалів зростання переломів прискорювалося у 1,5 раза, у порівнянні з подібними переломами у собак (n=10), за яких проводили остеозаміщення нелегованою біокерамікою.

Директор клініки дрібних тварин
«Ветеринарна допомога»

Аспірантка кафедри хірургії
та хвороб дрібних домашніх
тварин БНАУ



Тихоненко С.С.

Тодосюк Т.П.

ДОДАТОК Г

Список опублікованих праць за темою дисертації

Статті у наукових фахових виданнях України:

1. **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: <https://doi.org/10.33245/2310-4902-2020-160-2-183-194>
2. **Тодосюк Т.П., Рубленко М.В., Власенко В.М.** Динаміка гематологічних показників у кролів за остеозаміщення гідроксиапатитною керамікою, легованою германієм, та в комплексі з активатором згортання крові. *Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького*. Серія: Ветеринарні науки. 2021. Т. 23. № 102. С. 78–86. DOI: <https://doi.org/10.32718/nvlvet10212>
3. **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: <https://doi.org/10.33245/2310-4902-2022-1-1-170-178>
4. **Тодосюк Т.П., Рубленко М.В., Власенко В.М., Ульянович Н.В.** Рентгено-макрморфологічна і біохімічна оцінка консолідації переломів довгих трубчастих кісток в умовах остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за остеопорозу в кролів. *Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького*. Серія: Ветеринарні науки. 2022. Т. 24. № 106. С. 149–157. DOI: <https://doi.org/10.32718/nvlvet10623>
5. **Тодосюк Т.П., Рубленко М.В.** Клініко-рентгенологічна, гематологічна і біохімічна оцінка остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою германієм, за осколкових переломів трубчастих кісток у собак. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2023. № 1. С. 162–173. DOI: <https://doi.org/10.33245/2310-4902-2023-180-1-162-173>
6. **Todosiuk, T. P., & Rublenko, M. V.** Dynamics of acute-phase and endothelial reactions and immune complex formation during bone replacement with germanium-doped calcium-phosphate ceramics of bone fragment fractures in dogs.

Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences. 2023. Vol. 6. № 2. P. 30–36. DOI: <https://doi.org/10.32718/ujvas6-2.06>.

Науково-практична монографія

1. Рубленко М.В., Тодосюк Т.П., Чемеровський В.О., Ульянчик Н.В., Фірстов С.О., Коломієць В.В. Остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою, легованою кремнієм і германієм, за переломів кісток у тварин: науково-практична монографія. За ред. М.В. Рубленко. Біла Церква: БНАУ, 2023. 83 с.

ДОДАТОК Д

Відомості про апробацію результатів дисертації

Тези доповідей на конференціях

1. Тодосюк Т.П., Рубленко М.В. Стан гематологічних показників у кролів за імплантації гідроксиапатитної кераміки, легованої германієм, для заміщення кісткових дефектів. *Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин*: матеріали щоріч. наук.-практ. конф. молодих вчених (9 липня 2020 р., ІВМ НААН, м. Київ). Київ: ЦП «Компринт», 2020. С. 35.

2. Тодосюк Т.П., Рубленко М.В., Ульянич Н.В. Динаміка гематологічних індексів у кролів за використання різних імплантів. *II конференція сучасні методи діагностики, лікування та профілактика у ветеринарній медицині присвячена 140-річчю відкриття навчального закладу "Цісарсько-королівська ветеринарна школа та школа підковування коней разом із клінікою-стаціонаром для тварин у Львові*: (18–19 листопада 2021 р м. Львів) ЛНУВМБ ім. С.З. Гжицького, 2021. С. 130–131.

3. Тодосюк Т.П., Рубленко М.В., Ульянич Н.В., Корольова Д.С. Гідроксиапатина кераміка, легована германієм, для остеозаміщення у тварин. *Державна Фармакопея України – Європейська якість вітчизняних лікарських засобів*: матеріали наук.-практ. конф. (25–26 листопада 2021 р., м. Харків). С. 121–123.

4. Тодосюк Т.П., Рубленко М.В. Рентгенологічна та макроморфологічна оцінка репаративного остеогенезу з використанням кальцій-фосфатної кераміки за остеопорозу в кролів. *Зміна парадигми сучасної науки після військового вторгнення РФ на територію незалежної України*: матеріали міжнар. наук.-практ. конф. (22–23 червня 2022 р. Румунія, Словаччина, Братислава). С. 131–134.

5. Тодосюк Т.П., Рубленко М.В., Власенко В.М. Динаміка показників кальцію та фосфору у кролів з вторинним остеопорозом за імплантації кальцій-

фосфатної кераміки, легованої германієм. *ЄДИНЕ ЗДОРОВ'Я-2022*: матеріали конференції, (22–24 вересня 2022 р., м Київ). С. 115–117.

6. Тодосюк Т.П., Рубленко М.В., Власенко В.М. Рентгенологічна характеристика індукції остеопорозу в кролів. *Сучасний розвиток ветеринарної медицини*: матеріали міжнар. наук.-практ., БНАУ (20 жовтня 2022 р., м. Біла Церква). С. 9–11.