

ХІРУРГІЯ

УДК 619:616.71-007.1:612.115:616-073.75:636.92

Динаміка гематологічних показників, макроморфологічна і рентгенологічна картини репаративного остеогенезу в кролів за використання тромбоцитарних концентратів та гідроксиапатитної керамікиШевченко С.М. *Білоцерківський національний аграрний університет*E-mail: svitlana.shevchenko@btsau.edu.ua

Шевченко С.М. Динаміка гематологічних показників, макроморфологічна і рентгенологічна картини репаративного остеогенезу в кролів за використання тромбоцитарних концентратів та гідроксиапатитної кераміки. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 1. С. 153–164.

Shevchenko S.M. Dynamika gematologichnykh pokaznykiv, makromorfologichna i rentgenologichna kartyny reparatyvnogo osteogenezu v kroliv za vykorystannja trombocytarnykh koncentrativ ta gidroksyapatyt-noi' keramiky. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2020. № 1. PP. 153–164.

Рукопис отримано: 15.05.2020р.

Прийнято: 19.05.2020р.

Затверджено до друку: 21.05.2020р.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-153-164

Представлено результати динаміки морфологічних показників крові кролів з модельними дірчастими дефектами у губчастій та компактній кістковій тканині у різні терміни репаративного остеогенезу. Сформовано 4 групи кролів. Кісткові ушкодження у першій дослідній групі були заповнені ін'єкційним фібрином, збагаченим тромбоцитами, у другій — фібрином, збагаченим тромбоцитами, у третій — комбінацією фібрину, збагаченого тромбоцитами, та гідроксиапатиту з β -трикальційфосфатом. У контрольній групі дефекти залишалися загоюватися під кров'яним згустком. Усі тварини перебували в однакових умовах годівлі та утримання, мали необмежений доступ до води. Протягом дослідження за кролями вели клінічні спостереження. Кров для морфологічного дослідження відбирали до оперативного втручання та на 3-ю, 7-, 14-, 21-, 42-у добу. Тварин виводили з досліді на 14-у, 21-у та 42-у добу, проводили рентгенологічне дослідження, відбирали зразки кісткової тканини.

Встановлено, що травма кісткової тканини спричиняє виникнення ряду реакцій організму, спрямованих на відновлення пошкодженої ділянки. На фоні загальної картини отриманих результатів морфологічного дослідження, порівняно з фізіологічною нормою суттєво змінюється рівень тромбоцитів, при цьому кількість еритроцитів та лейкоцитів не виходить за її межі. Спостерігається незначне підвищення рівня гемоглобіну, особливо у дослідних групах на 21-у та 42-у добу. Відмічали достовірні зміни кількості еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів та концентрації гемоглобіну у дослідних групах порівняно з контрольною групою у різні терміни репаративного остеогенезу. Застосування різних типів тромбоцитарних концентратів справляє вплив на загальну реакцію організму.

На рентгенограмах променевих кісток (компактна кісткова тканина) на 21-у добу в другій та третій дослідних групах, де для заміщення дефектів кісткової тканини застосовували фібрин, збагачений тромбоцитами, та його комбінацію із гідроксиапатитними матеріалами з β -трикальційфосфатом, запальна реакція проявлялася меншою мірою. Не відбувалося значного формування кісткового мозоля порівняно з першою, у якій модельні дефекти заповнювали ін'єкційним фібрином, збагаченим тромбоцитами, та контрольною групою.

Кожен з типів тромбоцитарних концентратів та їх комбінація з гідроксиапатитною керамікою по різному впливає на відновлення кісткових дефектів та супроводжується виникненням ряду реакцій, як місцевих так і загальних. За ступенем інтенсивності на цей процес їх можна розмістити в наступній послідовності: $i\text{-PRF} < \text{PRF} < \text{PRF} + \text{ГТ}$.

Макроморфологічно та рентгенологічно суттєвих відмінностей не виявлено для різних типів кісткової тканини у результаті застосування кожної із речовин, концентруючої тромбоцити.

Комбінація гранул гідроксиапатиту з β -трикальційфосфатом та фібрину, збагаченого тромбоцитами, виявилася найоптимальнішим варіантом для відновлення ушкодженої ділянки. Її застосування забезпечує значно менший прояв місцевої запальної реакції та зумовлює утворення оптимального кісткового мозоля.

Ключові слова: PRF, i-PRF, гранули, центрифуги, фактори росту, кістковий мозоль.

Постановка проблеми. Переломи кісток супроводжуються порушеннями локальної гемоциркуляції, які лімітують репаративний потенціал кісткової тканини. Це, в свою чергу, зумовлює збільшення об'єму деструктивних змін, розвиток інфекційно-запальних та імунопатологічних процесів у травмованих тканинах, ступінь яких залежить від складності травми і впливає на тип консолидації переломів та динаміку перебігу її стадій [1, 2]. У зв'язку з цим переломи зі значними дефектами кісткової тканини та великою кількістю уламків залишаються суттєвою проблемою і потребують комплексного забезпечення остеокондуктивних та остеоіндуктивних механізмів репаративного остеогенезу [3, 4].

Водночас порушення цілісності судин під час травмування слугує стартом для запуску каскаду плазмово-коагуляційних механізмів, а також активації і агрегації тромбоцитів [5, 6].

Гематома, утворена у місці перелому, формує тканинний каркас для репаративного процесу та є джерелом гематопоетичних клітин. За рахунок цитокінів та факторів росту вони забезпечують міграцію і проліферацію клітинних елементів, зумовлюючи початок репаративних процесів та утворення сполучно-тканинного мозоля [7]. Проте за проведення остеосинтезу, під час репозиції відбувається зрушення кісток та їх уламків. Порушується фіксація первинно сформованих кров'яних згустків, які забезпечують контакт країв уламків [8]. Гематому видаляють, а з нею і дрібні кісткові частинки, які неможливо зафіксувати. При цьому відбувається обмеження реалізації механізмів ендостальної та інтрамембранної осифікації.

Отже, незважаючи на здатність кісткової тканини до утворення абсолютно ідентичної аутологічної структури у місці пошкодження, існує необхідність у створенні певних умов [9] для оптимізації репаративних процесів. З цією метою використовують різноманітні біологічні матеріали з остеоіндуктивними та остеокондуктивними властивостями [10].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Останнім часом у регенеративній медицині набуло широкого застосування різних типів тромбоцитарних концентратів – плазми та фі-

брину, збагачених тромбоцитами [11, 12]. Кількість кров'яних пластинок у цих біологічних субстратах збільшена приблизно у п'ять разів [13], порівняно з кількістю у нативній крові. Їх виготовляють шляхом центрифугування певного об'єму крові. Тромбоцитарні концентрати застосовують як альтернативний метод фіксації дрібних кісткових фрагментів чи заміщення значних кісткових дефектів у чистому вигляді або в комбінації з іншими матеріалами [14].

Ефективність впливу тромбоцитарних концентратів ґрунтується на дії значної кількості факторів росту, які містять гранули тромбоцитів [15]. Ці фактори здатні індукувати регенерацію тканин за рахунок інфільтрації, росту, диференціювання, міграції та апоптозу клітин [16–18].

Серед них вирішальна роль у регенерації кісткової тканини належить PDGF і TGF- β [19]. PDGF (-platelet-derived growth factor) – тромбоцитарний фактор росту, який секретується такими клітинами як тромбоцити, моноцити, макрофаги та ендотеліоцити. Для його транспортування необхідний $\alpha 2$ -макроглобулін. Мітогенний ефект цього фактору поширюється на пул клітин кісткової тканини та на фібробласти пухкої сполучної тканини. Також він здатний посилювати синтез колагену 1-го типу, стимулює резорбцію кісткової тканини за рахунок збільшення кількості остеокластів [20–22].

TGF- β transforming growth factor-beta) – трансформуючий фактор росту, секретується остеобластами та остеокластами, займає одне з ключових місць у метаболізмі кісткової тканини, індукуючи проліферацію остеогенних клітин та основної речовини кісткової тканини [23, 20].

Також у гранулах тромбоцитів містяться такі речовини як VEGF (-vascular endothelial growth factor) – судинний ендотеліальний фактор росту, який виконує важливу функцію під час ендохондральної осифікації, оскільки забезпечує процес васкуляризації кісткового мозоля. Він зберігає активність протягом усього періоду зростання і ремоделювання кісткової тканини [25, 28].

Поряд з цим IGF I і II (-insulin-like growth factor) – інсуліноподібний фактор росту, стимулює синтез колагену, забезпечує активацію і

проліферацію остеобластів, бере участь в утворенні хрящової тканини [11, 24].

Фактор росту фібробластів (fibroblast growth factor – FGF), одним з перших розпочинає діяти за консолідації перелому, беручи участь у хондрогенезі [25].

Однак, відсутність визначеної класифікації та недостатній опис протоколів приготування, а отже, і характеристика кінцевого продукту призвела до виникнення дискусій стосовно впливу різних типів тромбоцитарних концентратів на стимуляцію регенеративних процесів у тканинах [26].

Тромбоцитарні концентрати застосовують у ветеринарії для регенерації різних тканин організму, починаючи зі шкіри як пускового механізму для диференціації клітин, утворення великої кількості кровоносних судин та стимуляції загоєння хронічних ран [27, 28] і для відновлення м'язової тканини [29]. Також ці концентрати використовують з метою проти-запальної дії та знеболення у суглобах [30], і відновлення травмованих сухожилків [29, 35], дефектів кісткової тканини [31] і пародонту [32, 33] як самостійні, індукуючі регенерацію компоненти, так і у комбінації з іншими остеокондуктивними матеріалами [34, 14].

Мета дослідження – клініко-експериментально обґрунтувати вплив на репаративний остеогенез у кролів різних типів тромбоцитарних концентратів та гідроксиапатитної кераміки з фібрином, збагаченим тромбоцитами.

Матеріали і методи. Дослідження виконували на базі кафедри хірургії та хвороб дрібних домашніх тварин Білоцерківського НАУ в умовах навчально-наукової виробничої міжкафедральної клініки коней, жуйних, свиней, дрібних та екзотичних тварин, відповідно до закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 28.03.2006 р., правил Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях від 13.11.1987 р., та Наказу МОН № 416/20729 від 16 березня 2012 р. «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах». Схема проведення досліджень була затверджена Етичним комітетом БНАУ, протокол № 1 від 23 січня 2019.

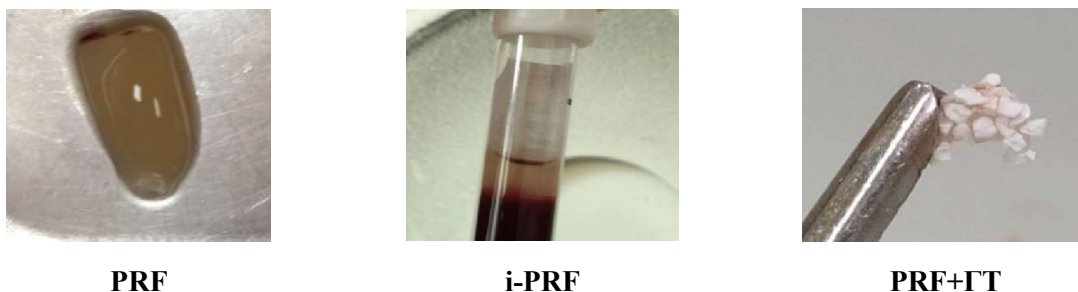
В експерименті використовували клінічно здорових кролів ($n=40$) з масою тіла 2,5 кг, яких утримували в індивідуальних клітках віварію Білоцерківського національного аграрного університету. Вони мали необмежений доступ до води, годівлю забезпечували комбікормом для кролів із розрахунку 200 г на одну голову за добу. Для порівняння репаративних властивос-

тей різних типів тромбоцитарних концентратів та їх комбінації з гідроксиапатитними матеріалами було сформовано 4 групи кролів, у яких моделювали дірчасті дефекти у двох типах кісткової тканини однієї групи тварин: губчастій — гребінь великогомілкової кістки з медіального боку, та компактній кістковій тканині — середина діяфізу променевої кістки (доступ виконували на дорсо-латеральній поверхні передпліччя). Оперативне втручання виконували з дотриманням вимог асептики та антисептики. Анестезіологічне забезпечення включало: внутрішньом'язово 2 % розчин ацепромазину (0,5–1,0 мг/кг), внутрішньовенно тіопенат (5–8 мг/кг) та місцево інфільтраційну анестезію 0,5 % розчином лідокаїну (3–4 мг/кг). Розсікали окістя та свердлом ($d=3$ мм) формували дірчасті дефекти, які у тварин контрольної групи ($n=10$) залишали загоюватися під кров'яним згустком. У першій дослідній групі ($n=10$) заповнення дефектів проводили ін'єкційним фібрином, збагаченим тромбоцитами (i-PRF), у другій ($n=10$) — дефекти заповнювали згустком фібрину, збагаченого тромбоцитами (PRF), виготовлено з аутологічної крові кроликів. Тваринам третьої дослідної групи (PRF+ГТ, $n=10$) дефекти заповнювали комбінацією гранул гідроксиапатиту з β -трикальційфосфатом та фібрину, збагаченого тромбоцитами. Рани м'яких тканин закривали вузловими швами. У післяопераційний період за тваринами вели клінічні спостереження. Шви знімали на 7 добу.

Ін'єкційний фібрин, збагачений тромбоцитами, отримували шляхом відбору крові без антикоагулянту в пластикову пробірку з негайним наступним центрифугуванням за 1000 об/хв (≈ 106 g) протягом 2 хв. У результаті отримували рідку форму фібрину, збагаченого тромбоцитами, стерильною піпеткою відбирали 0,5 мл і вносили безпосередньо в порожнину кісткового дефекту.

Для приготування PRF – фібрину, збагаченого тромбоцитами, з яремної вени за допомогою шприца відбирали 5 мл крові, яку перенесли в пластикову пробірку без антикоагулянту та негайно центрифугували за 3000 об/хв (≈ 956 g) протягом 10 хв. У результаті в нижній частині пробірки зосереджувалися еритроцити, в середній – згусток фібрину, збагачений тромбоцитами, у верхній – сироватка крові. За допомогою пінцета діставали згусток і відрізали ножицями еритроцитарну масу. Брали необхідний об'єм PRF для заповнення кісткового дефекту з нижньої частини згустку.

Усі процедури отримання тромбоцитарних концентратів проводили з дотриманням правил асептики і антисептики.



PRF

i-PRF

PRF+ГТ

Рис. 1. Різні типи тромбоцитарних концентратів та їх комбінація з гідроксиапатитними матеріалами.

Кров для гематологічного дослідження у кролів відбирали з яремної вени перед проведенням оперативного втручання та на 3-ю, 7-, 14-, 21-, 42-у добу після моделювання дефекту кісткової тканини. Рентгенологічне дослідження проводили на 7-у, 14-, 21- та 42-у добу.

Виведення тварин з дослідів відбувалося шляхом введення тіопенталу в дозі 50 мг/кг (тіопентал натрію, ООО Бровафарма, Україна). Далі відбирали зразки кісткової тканини для макроморфологічного і гістологічного дослідження.

Результати дослідження та їх обговорення. Клінічно, на наступну добу після оперативного втручання, відмічали незначний набряк тканин та підвищення місцевої температури. Функції кінцівок були не порушені. З рани виділявся серозний екссудат у невеликій кількості, який підсихаючи утворював кірочку. На сьому добу набряк та болючість були відсутні у тварин усіх груп, краї шкіри були щільно з'єднані. У цей період проводили зняття швів.

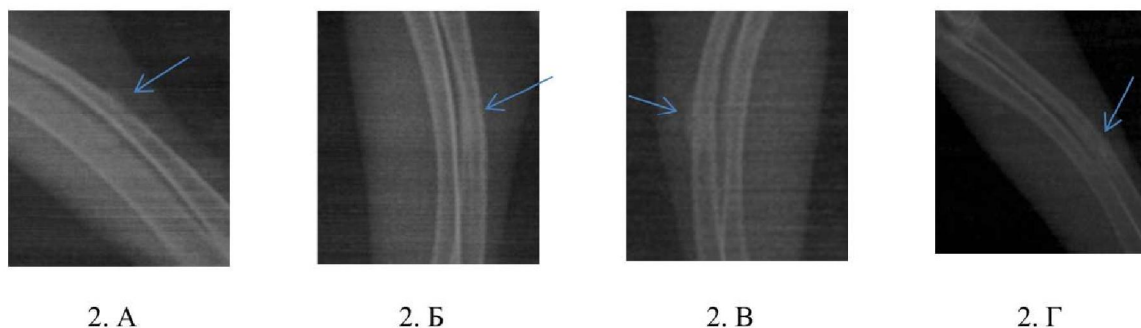
На 21-у добу репаративного остеогенезу кролі всіх груп повноцінно опиралися на травмовану кінцівку, ознаки запальної реакції були відсутні, у контрольній та дослідній групі, де дефект заповнювали ін'єкційним фібрином, збагаченим тромбоцитами, пальпаторно відмічали виражене ущільнення періосту у ділянці

діафіза променевої та гребеня великогомілкової кістки.

За результатами рентгенологічного аналізу на 21-у добу у першій дослідній групі, у якій застосовували ін'єкційний фібрин, збагачений тромбоцитами, на рентгенограмах променевих кісток у ділянці дірчастого дефекту спостерігали хмароподібну тінь, як ознаку залишків запальної реакції, та деяке ущільнення кісткової тканини (рис. 2. В). У другій, де використали фібрин, збагачений тромбоцитами, — чітко окреслене незначне потовщення кістки, сформоване в межах періосту, проявлялося значно меншою мірою (рис. 2. Б). Рентгенограми третьої дослідної групи, у якій дефекти заповнювали гранулами гідроксиапатиту з β -трикальційфосфатом та фібрином, збагаченим тромбоцитами, характеризувалися тим, що виповнений дефект мав помірне підвищення рентгенологічної щільності (рис. 2. Г).

На контрольних рентгенограмах променевих кісток кролів візуалізувалися кістковий дефект і хмароподібна тінь, яка суттєво поширювалася від місця травми, що свідчить про наявність запальної реакції з утворенням досить масивного хрящово-кісткового мозоля (рис. 2. А).

На 21-у добу після оперативного втручання на рентгенограмах гребенів великогомілкових кі-



2. А

2. Б

2. В

2. Г

Рис. 2. Рентгенограми променевих кісток кролів на 21-у добу – компактна кісткова тканина: А – контрольна, Б – PRF, В – i-PRF, Г – PRF+ГТ.

сток у губчастій кістковій тканині кролів першої дослідної групи (i-PRF) та другої — (PRF) місце дефекту ще візуалізувалося та мало низьку рентгенологічну щільність, а по периметру кісткова тканина навколо місця травми характеризувалася підвищеною рентгенологічною щільністю. Це зумовлено реакцією періосту та формуванням кісткового мозоля (рис. 3.В, рис. 3. Б).

На контрольних рентгенограмах місце дефекту візуалізувалося досить добре, по периметру від нього кісткова тканина, як і у попередніх групах мала підвищену рентгенологічну щільність, яка поширювалася проксимальніше та дистальніше (рис. 3. А).

На рентгенограмах кролів дослідної групи, в якій застосовували комбінацію гранул гідроксипатиту з β -трикальційфосфатом та фібрину, збагаченого тромбоцитами, по периметру травмованої ділянки періостальної реакції не відмічали, проте саме місце дефекту мало досить високу рентгенологічну щільність, чого не спостерігали в інших групах (рис. 3. Г).

Під час макроморфологічного аналізу фрагментів променевих кісток у період 21-ї доби у контрольній та дослідних групах з PRF чи i-PRF спостерігали утворення кісткового мозоля різного розміру та форми: кратероподібна (рис. 4. А), у вигляді незначного потовщення (рис. 4. Б) та випукла (рис. 4. В), що складалася з фіброзно-хрящового регенерату. На відміну від них у дослідній групі (PRF+ГТ)

новоутворена тканина з гранулами гідроксипатиту рівномірно заповнювала лише ділянку дірчастого дефекту, не виходячи за поверхню кістки (рис. 4. Г).

На зразках губчастих кісток спостерігали аналогічну ситуацію. Найбільший кістковий мозоль утворився у групі з i-PRF, значно виступаючи над поверхнею (рис. 5. В). У зразках контрольної групи сформований регенерат також підвищувався над місцем дефекту (рис. 5. А). Зразки групи PRF характеризувалися дещо меншим утворенням над поверхнею травми (рис. 5 Б). Зовсім не підвищувалася або ледь виступала за межі поверхні новоутворена тканина лише у дослідній групі PRF+ГТ (рис. 5. Г).

Отже, з огляду на макроморфологічну та рентгенологічну картини, різні технологічні форми тромбоцитарних концентратів та їх комбінацій мають досить виражені остеоіндуктивні властивості і сприяють більш динамічній зміні стадій репаративного остеогенезу незалежно від типу травмованої кісткової тканини. За ступенем інтенсивності на цей процес їх можна розмістити в наступній послідовності: i-PRF < PRF < PRF+ГТ. Наявність остеокондуктивних і остеointegraційних властивостей гідроксипатитної кераміки та остеоіндуктивних, багатого на тромбоцити фібрину, найбільш виразно оптимізує репаративний остеогенез.

Поряд з цим були встановлені певні закономірності в динаміці гематологічних показ-

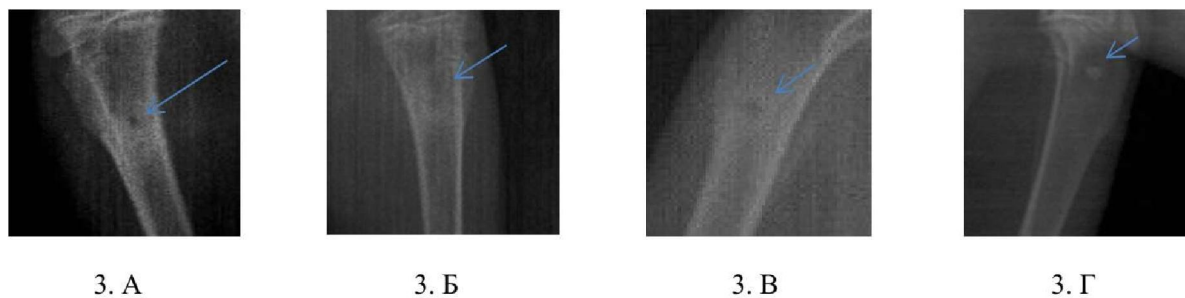


Рис. 3. Рентгенограми великогомілкових кісток кролів на 21-у добу – губчаста кісткова тканина: А – контрольна, Б – PRF, В – i-PRF, Г – PRF+ГТ.

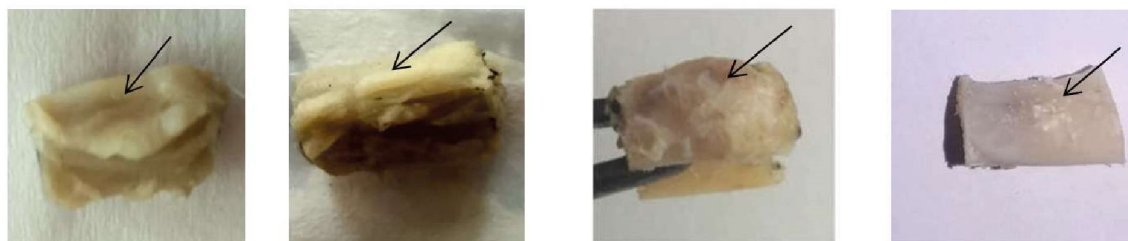


Рис. 4. Макроморфологічна картина фрагментів компактної кістки кролів на 21-у добу репаративного остеогенезу: А – контрольна, Б – PRF, В – i-PRF, Г – PRF+ГТ.

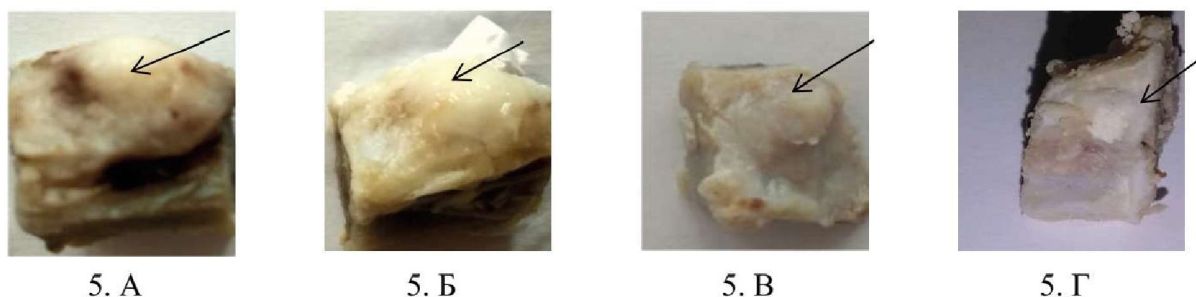


Рис. 5. Макроморфологічна картина фрагментів губчастої кістки кролів на 21-у добу репаративного остеогенезу: А – контрольна, Б – PRF, В – i-PRF, Г – PRF+ГТ.

ників (табл. 1.). Зокрема, спостерігався розвиток еритропенії в усіх групах тварин в період перших 7-ми діб репаративного остеогенезу, тобто під час його запально-резорбтивної стадії. Однак при цьому істотної різниці за кількістю еритроцитів у крові кролів між групами не встановлено. Водночас у наступному в 4-й групі, починаючи з 14-ї доби вона динамічно збільшувалася з 5.7 ± 0.194 до 6.6 ± 0.233 Т/л на 42-у добу, що у 1,1 та 1,3 раза ($p < 0.05$, $p < 0.001$), відповідно, більше за показники решти груп. Навіть їх кількість на 42-у добу виявилася в 1,2 раза ($p < 0.001$) більшою, ніж у здорових кролів до травми. Тобто, спочатку виникає незначна гальмуюча дія прозапальних цитокінів на еритроцитопоез, а в подальшому розвивається гемопоез-індукуючий вплив факторів росту на кістковий мозок, а саме, на гемопоетичну тканину, розміщену у міжтрабекулярному просторі губчастої кістки епіфізів.

Зазначені чинники одночасно впливають і на рівень гемоглобіну. Це, у свою чергу, зумовлює його зниження в усіх групах під час розвитку першої стадії репаративного остеогенезу. Так, на 7-у добу концентрація гемоглобіну становила від 111.4 ± 2.441 до 105.2 ± 2.123 Г/л, що у 1,1 раза нижче за показники здорових кролів. Проте вже на 14-у добу його рівень різко почав підвищуватися у другій та третій групах і становив 129.6 ± 1.908 та 129.0 ± 1.669 Г/л, що було вищим у 1,1 раза ($p < 0.001$) порівняно з контрольною групою тварин у відповідний термін. Тенденція до зростання концентрації спостерігалася у другій групі і надалі, а на 42-гу добу досягла піку та залишалася найвищою серед інших груп. Вона становила 139.0 ± 2.121 Г/л ($p < 0.001$). Водночас, збільшення концентрації гемоглобіну в 1-й та 4-й групах проходило менш інтенсивно.

Також встановлено деякі особливості у динаміці кількості лейкоцитів, хоч їх підвищення лише наближалось до верхньої межі показників фізіологічно здорових тварин. Її пік у всіх дослідних групах припадав на 7-у добу і ста-

новив у другій, третій та четвертій відповідно 7.9 ± 0.083 , 8.5 ± 0.187 , 9.3 ± 0.567 Г/л ($p < 0.01$, $p < 0.001$), порівняно з контрольною групою. Водночас у останній максимальне підвищення, яке становило 8.3 ± 0.212 Г/л, спостерігали лише на 14-у добу. Такі розбіжності між дослідними і контрольною групами можуть бути зумовлені випуском ростових чинників і хемокинів із тромбоцитів, застосованих у дослідних кролів біологічних концентратів, які опосередковують міграцію моноцитів, макрофагів, базофілів та інших клітин, що теж є джерелом факторів росту, в місце травми кісткової тканини та залученням їх до запально-резорбтивних процесів, наростання яких відбувається при розвитку репаративного остеогенезу [36].

Необхідно відмітити коливання кількості тромбоцитів та відмінність у динаміці між групами. У другій та четвертій її пік припадав на 14-ту добу та становив 407.5 ± 4.910 і 457.8 ± 22.409 Г/л ($p < 0.001$), тоді як у третій – максимальний рівень тромбоцитів складав 649.5 ± 55.540 Г/л і досяг цієї позначки на 7-му добу, що у 1.6-1.8 раза ($p < 0.001$) було вищим за показники інших груп у відповідний термін. Причиною таких відмінностей може бути неоднакова концентрація факторів росту в різних формах тромбоцитарних концентратів та відмінності у термінах випуску факторів росту із гранул тромбоцитів, тобто різні періоди їх активації. Тромбоцитоз може бути наслідком безпосереднього впливу тромбоцитарного фактору росту та інших і їх мітогенним ефектом на клітини кісткового мозку, а саме мегакаріоцити. Також це може бути результатом тісного зв'язку тромбоцитів із запальною реакцією [6]. Тромбоцитарні концентрати здатні до виділення хемоатрактантів, які притягують клітини лейкоцитарного ряду в місце їх введення або травми. У свою чергу вони забезпечують випуск цитокінів, одними з яких є інтерлейкіни. Інтерлейкін-6 підвищує рівень тромбопоєтину у печінці, який індукує утворення тромбоцитів у кістковому мозку із клітин попередників [36].

Таблиця 1 – Динаміка гематологічних показників у кролів за репаративного остеогенезу під впливом різних композитних матеріалів

Показ-ники	Групи	Норма n=40	3 доба n=10	7 доба n=10	14 доба n=8	21 доба n=6	42 n=4
Еритроцити, Т/л	Конт-рольна (1-а)	5.6±0.103	4.5±0.083	4.9±0.075	5.1±0.087	5.1±0.049	5.2±0.085
	i-PRF (2-а)		4.6±0.084	4.7±0.060	5.2±0.057	5.1±0.031	5.3±0.048
	PRF (3-а)		4.9±0.122 [^]	4.9±0.103	5.1±0.173	5.1±0.033	5.2±0.071
	ГТ+βткф +PRF (4-а)		4.8±0.063 [^]	4.9±0.177	5.7±0.194 [^]	6.1±0.167 ^{^^}	6.6±0.233 ^{^^}
Лейкоцити, Г/л	Конт-рольна (1-а)	7.1±0.094	7.8±0.129	7.5±0.076	8.3±0.212	7.6±0.067	7.3±0.111
	i-PRF (2-а)		7.8±0.088	7.9±0.083 ^{**}	7.5±0.192 [^]	7.1±0.058 ^{^^}	7.3±0.125
	PRF (3-а)		7.9±0.314	8.5±0.187 ^{^^}	8.2±0.273	7.3±0.126 [^]	7.5±0.141
	ГТ+βткф +PRF (4-а)		8.1±0.291	9.3±0.567 ^{**}	9.1±0.188 [^]	8.3±0.298 [^]	7.7±0.217
Тромбоцити, Г/л	Конт-рольна (1-а)	208.2±7.779	401.5±8.565	373.5±3.500	357.5±4.532	243.3±8.819	220.0±10.801
	i-PRF (2-а)		352.0±9.638 ^{**}	364.0±7.483	407.5±4.910 ^{^^}	236.7±6.667	225.0±2.887
	PRF (3-а)		456.5±22.853 [^]	649.5±55.540 ^{^^}	625.6±42.125 ^{^^}	245.8±14.284	220.0±8.165
	ГТ+βткф +PRF (4-а)		428.9±9.493 [^]	402.2±25.015	457.8±22.409 ^{^^}	388.3±18.151 ^{^^}	250.0±11.547
Гемоглобін, Г/л	Конт-рольна (1-а)	120.4 ±1.123	108.7±1.571	111.4±2.441	119.3±2.757	119.7±1.202	122.5±1.708
	i-PRF (2-а)		128.9±2.885 ^{^^}	110.2±1.800	129.6±1.908 ^{**}	136.5±2.320 ^{^^}	139.0±2.121 ^{^^}
	PRF (3-а)		111.8±3.395	109.3±5.327	129.0±1.669 ^{**}	121.0±3.337	131±3.488
	ГТ+βткф +PRF (4-а)		104.7±2.297	105.2±2.113	110.2±2.592 [^]	128.8±2.786 ^{**}	128.0±1.155 [^]

Примітки: 1.) $p < 0.05$ – [^] достовірні відмінності показників, порівняно з контрольною групою;

2.) $p < 0.01$ – ^{**} достовірні відмінності показників, порівняно з контрольною групою;

3.) $p < 0.001$ – ^{^^} достовірні відмінності показників, порівняно з контрольною групою.

Оскільки рівень лейкоцитів у четвертій групі був найвищим, провели аналіз лейкограми (табл. 2.). Звернули увагу на підвищення кількості паличкоядерних нейтрофілів до 18.2 ± 1.103 %, що було у 2,5 раза ($p < 0.001$) вищим на 7-у добу, порівняно з доопераційними показниками. Необхідно відмітити появу юних нейтрофілів у цей період. Надалі, до 14-ї доби зберігалася тенденція до підвищення, а з 21-ї по 42-у відмічали поступове їх зниження. При цьому зменшилася кількість сегментоядерних нейтрофілів.

Особливості змін лімфоцитів полягали у незначному зниженні в 1,2 раза з 52.7 ± 0.646 до 45.7 ± 1.358 % ($p < 0.001$) на 21-у добу та до 44.3 ± 2.028 % ($p < 0.01$) на 42-у. В той час як зміна відсоткового складу моноцитів відбувалася

хвилеподібно. Відмічали збільшення на 7-у добу до 3.6 ± 0.176 % ($p < 0.001$), що у 1,7 раза було вищим за показники здорових кролів, та деяке підвищення на 21-у до 3.2 ± 0.401 %, що також у 1,2 раза було більшим. Проте, на 14-у добу їх рівень у 1,2 раза, порівняно з доопераційними показниками, та у 2,1 ($p < 0.001$), у порівнянні зі значеннями на 7-у добу, знизився і складав лише 1.7 ± 0.167 %. Тобто, коливання клітин мононуклеарного ряду відображають стадійність запальної відповіді, яка розвивається внаслідок реакції організму на модельовану травму. Причиною зниження рівня моноцитів у крові може бути їх мобілізація у зону пошкодження кісткової тканини, де відбувається трансформування цих клітин у остеобласти [37].

Таблиця 2 – Лейкограма кролів групи Г – PRF+ГТ

	Б	Е	Н			Л	М
			Ю	П	С		
	0–2	1–3	0	5–9	33–39	43–62	1–3
До операції	0.7±0.167	1.9±0.261	0.0±0.00	7.2±0.465	35.4±0.604	52.7±0.646	2.1±0.309
7 доба	0.6±0.176	1.8±0.222	1.7±0.236*	18.2±1.103*	23.7±1.312*	50.6±0.835	3.6±0.176*
14 доба	0.7±0.167	2.6±0.377	3.1±0.455 *	20.8±1.839*	19.4±1.659*	51.8±1.234	1.7±0.167***
21 доба	0.5±0.224	1.8±0.307	2.2±0.307 *	19.0±1.255*	27.7±0.989*	45.7±1.358*	3.2±0.401
42 доба	0.3±0.333	2.3±0.333	1.0±0.577	11.7±1.202**	37.7±4.096	44.3±2.028**	2.7±0.333

Примітки: 1.) $p < 0.01$ – ** достовірні відмінності показників, порівняно з доопераційними;

2.) $p < 0.001$ – * достовірні відмінності показників, порівняно з доопераційними;

3.) $p < 0.001$ – *** достовірні відмінності показників, порівняно з показниками на 7-у добу.

Висновки. 1. Кожен з типів тромбоцитарних концентратів та їх комбінація з гідроксипатитною керамікою по різному впливає на відновлення кісткових дефектів та супроводжується виникненням ряду реакцій, як місцевих так і загальних. За ступенем інтенсивності на цей процес їх можна розмістити в наступній послідовності: i-PRF < PRF < PRF+ГТ.

2. Макроморфологічно та рентгенологічно суттєвих відмінностей не виявлено для різних

типів кісткової тканини у результаті застосування кожної із речовин, концентруючої тромбоцити.

3. Комбінація гранул гідроксипатиту з β -трикальційфосфатом та фібрину, збагаченого тромбоцитами, виявилася найоптимальнішим варіантом для відновлення ушкодженої ділянки. Її застосування забезпечує значно менший прояв місцевої запальної реакції та зумовлює утворення оптимального кісткового мозоля.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гайко Г.В., Бруско А.Т. Теоретические аспекты физиологической и репаративной регенерации костей с позиций системных представлений. "Журнал НАМН України". 2013. т. 19. № 4. С. 471–481.
2. Влияние биокомпозитного материала на процессы регенерации костной ткани в условиях эксперимента (иммуногистохимическое исследование) / Л.Ю. Науменко и др. Травма. 2014. Том 15. № 4. С. 66–72.
3. Winkler T., Sass F.A., Duda G.N., Schmidt-Bleek K. A review of biomaterials in bone defect healing, remaining shortcomings and future opportunities for bone tissue engineering. Bone Joint Res. 2018. Vol. 7. №. 3. P. 232–243. Doi: <https://doi.org/10.1302/2046-3758.73.BJR-2017-0270.R>
4. Turan Cihan Dülgeroglu., Hasan Metineren. Evaluation of the Effect of Platelet-Rich Fibrin on Long Bone Healing: An Experimental Rat Model. Orthopedics. 2017. Vol. 40. № 3. P. 479–484. Doi: <https://doi.org/10.3928/01477447-20170308-02>
5. Алексеева Л.В., Зайцев В.В., Соловьева Л.П. Физиологические механизмы реализации гемостатических функций тромбоцитов. Электронный научно-образовательный Вестник «Здоровье и образование в XXI веке». 2017. Vol. 19. № 1. С. 1–6.
6. Klinger M.H.F., Jelkmann W. Role of Blood Platelets in Infection and Inflammation. Journal of Interferon & Cytokine Research. 2002. Vol. 22. P. 913–922. Doi: <https://doi.org/10.1089/10799900260286623>
7. Osman K., Gabr A., Haddad F.S. Bone Healing. In: Paschos N., Bentley G. General Orthopaedics and Basic Science. Orthopaedic Study Guide Series. Springer, Cham. 2019. Doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-92193-8_14
8. Клініко-рентгенологічна характеристика експериментального застосування фібринового гелю для оптимізації репаративного остеогенезу в кролів / М.В. Рубленко та ін. Науковий вісник ветеринарної медицини. 2014. № 14 (114). С. 130–134.
9. Рубленко М.В., Чемеровський В.О., Власенко В.М. Ульянич Н.В. Оцінка остеointegraційних і остеoіндуктивних властивостей кераміки, легованої кремнієм, за модельних переломів стегнової кістки у кролів. Науковий вісник ветеринарної медицини. 2018. № 2. С. 44–53. Doi: <https://doi.org/10.33245/2310-4902-2018-144-2-44-53>
10. Рубленко М.В., Семеняк С.А., Ульянич Н.В. Динаміка біомаркерів репаративного остеогенезу за умов заміщення кісткових дефектів. Науковий вісник ЛНУВБТ ім. С.З. Гжицького. Львів, 2014. Т.16, №3 (60). Ч. 1. С. 287–294.
11. Bielecki T., Dohan Ehrenfest D. M. Platelet-Rich Plasma (PRP) and Platelet-Rich Fibrin (PRF): Surgical Adjuvants, Preparations for In Situ Regenerative Medicine and Tools for Tissue Engineering. Current Pharmaceutical Biotechnology. 2012. № 13. P. 1121–1130. Doi: <https://doi.org/10.2174/138920112800624292>
12. Dohan Ehrenfest D.M., Rasmusson L., Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-

rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology*. 2009. Vol. 27. № 3. P. 158 – 167. Doi:https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.11.009

13. Kossev P., Sokolov T. Platelet-rich Plasma (PRP) in Orthopedics and Traumatology – Review. *Immunopathology and Immunomodulation*. 2015. P. 173 – 195. Doi:https://doi.org/10.5772/61326

14. Effects of platelet-rich plasma and carbonated hydroxyapatite combination on cranial defect Bone Regeneration: An animal study / M. C. Oleya et al. *Wound Medicine*. 2018. № 21. P. 12–15. Doi:https://doi.org/10.1016/j.wndm.2018.05.001

15. Oryan A., Alidadi S., Moshiri A. Amin Bigham-Sadegh. Bone morphogenetic proteins: A powerful osteoinductive compound with non-negligible side effects and limitations. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*. 2014. Vol. 40 (5). P. 459–481. Doi:https://doi.org/10.1002/biof.1177

16. Peck M.T., Hiss D., Stephen L. Factors affecting the preparation, constituents, and clinical efficacy of leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *SADJ*. 2016. Vol. 71. № 7. P. 298–302.

17. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate / David M. Dohan et al. Part II: Platelet-related biologic features *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006. Vol. 101. P. 45–50. Doi:https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.009

18. Arora S., Agnihotri N. Platelet Derived Biomaterials for Therapeutic Use: Review of Technical Aspects. *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2017. Vol. 33(2). P. 159–167. Doi:https://doi.org/10.1007/s12288-016-0669-8

19. Impact of incubation method on the release of growth factors in Non-Ca2+-activated PRP, Ca2+-activated PRP, PRF and A-PRF / D. Steller et al. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2018. P. 1–28. Doi:https://doi.org/10.1016/j.jcms.2018.10.017

20. Костив Р.Е., Калиниченко С.Г., Матвеева Н.Ю. Трофические факторы роста костной ткани, их морфогенетическая характеристика и клиническое значение. *ТМЖ*. 2017. № 1. С. 10–16. Doi:https://doi.org/10.17238/PmJ1609-1175.2017.1.10-16

21. Samuel P. Franklin., Kate E. Birdwhistell., Alena Strelchik. Influence of Cellular composition and Exogenous Activation of Growth Factor and Cytokine Concentrations in Canine Platelet-Rich Plasmas. *Frontiers in Veterinary Science*. 2017. Vol. 4. P. 1–10. Doi:https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00040

22. Raquel Maia F., Vitor M. Corrello., Joaquim M. Oliveira., Rui L. Reis. Natural Origin Materials for Bone Tissue Engineering: Properties, Processing, and Performance. *Principles of Regenerative Medicine*. Third Edition. 2019. P. 535–558. Doi:https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809880-6.00032-1/

23. Platelet rich fibrin: focus on growth factors and cytokines / A. Mali et al. *International Journal of Recent Scientific Research*. 2018. Vol. 9. № 5 (B). P. 26531–26535. Doi: https://doi.org/10.24327/ijrsr.2018.0905.2078

24. Рубленко М.В., Семеняк С.А., Андрієць В.Г. Молекулярно-біологічні механізми репаративного остеогенезу. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2017. №2 С. 11–20.

25. Badran Z., Mohamed-Nur Abdallah., Torres J., Tamimi F. Platelet concentrates for bone regeneration: Current

evidence and future challenges. *Platelets*. 2017. P. 1–8. Doi:https://doi.org/10.1080/09537104.2017.1327656

26. Do the Fibrin Architecture and Leukocyte Content Influence the Growth Factor Release of Platelet Concentrates? / M. David et al. An Evidence-based Answer Comparing a Pure Platelet-Rich Plasma (P-PRP) Gel and a Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF). *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2012. 13. P. 1145–1152.

27. Falan H. Khalaf., Serwa Ibrahim Salih. Clinical and histopathological evaluation of using platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin matrix in treatment of induced chronic open wounds in bucks. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018. Vol. 11. № 5. P. 337–341.

28. Maria Rosaria De Pascale., Linda Somme., Amelia Casamassimi., Claudio Napoli. Platelet Derivatives in Regenerative Medicine: An Update. *Transfusion Medicine Reviews*. 2015. Vol. 29. P. 52–61. Doi:https://doi.org/10.1016/j.tmr.2014.11.001

29. Kaux J.F., Drion P., Croisier J.L., Crielaard J.M. Tendinopathies and platelet-rich plasma (PRP): from preclinical experiments to therapeutic use. *Journal of Stem Cells and Regenerative Medicine*. 2015. Vol. 11. № 1. P. 7–17.

30. Mirza M.H., Bommala P., Richbourg H.A., Rademacher N. Gait Changes Vary among Horses with Naturally Occurring Osteoarthritis Following Intraarticular Administration of Autologous Platelet-Rich Plasma. *Front. Vet. Sci*. 2016. Vol. 3:29. Doi:https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00029.

31. Baszczyk B., Kaspera W., Ficek K. Effects of Polylactide Copolymer Implants and Platelet-Rich Plasma on Bone Regeneration within a Large Calvarial Defect in Sheep. *BioMed Research International*. 2018. P. 1–11.

32. Donos N., Dereka X., Calciolari E. The use of bioactive factors to enhance bone regeneration: A narrative review. *J Clin Periodontol*. 2019. Vol. 46(Suppl. 21). P. 124–161.

33. Wang Q. L., Yang P., Hong Ge Li., Liu He. Preliminary Evaluation of Platelet Rich Fibrin Mediated Tissue Repair in Immature Canine Pulpless Teeth. *The Chinese Journal of Dental Research*. 2016. Vol. 19. 1. P. 49–50.

34. Salih S.I., Al-Falahi N.H., Saliem A.H., Abedsalih A.N. Effectiveness of platelet-rich fibrin matrix treated with silver nanoparticles in fracture healing in rabbit model. *Veterinary World*. 2018. Vol. 11 (7). P. 944–952.

35. Лечение тендинита поверхностного сгибателя пальца у лошадей с использованием тромбоцитарной аутоплазмы / Б.С. Семенов и др. *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. 2017. № 1 (147). С. 125–132.

36. Simon J. Davidson. Inflammation and Acute Phase Proteins in Haemostasis. 2013. P. 31–54. Doi:https://doi.org/10.5772/55998

37. Оценка ответа острой фазы при экспериментальном остеосинтезе имплантатами с биоинертным покрытием нитридами сверхтвердых металлов / И.Ф. Ахтямов и др. *Гений Ортопедии*. 2013. № 4. С. 80–83.

REFERENCES

1. Gaiko, G.V., Brusko, A.T. (2013). Teoreticheskie aspekty fiziologicheskoy i reparativnoy regeneracii kostej s pozicij sistemnyh predstavlenij [Theoretical aspects of physiological and reparative bone regeneration from the standpoint of system representations]. "Zhurnal NAMN Ukrainy"

["Journal of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine"]. Vol. 19, no. 4, pp. 471–481.

2. Naumenko, L.Ju., Panasjuk, A.F., Kostryca, K.Ju., Goregljad, A.M., Bondarenko, A.A., Horoshyh, V.V. (2014). Vlihanie biokompozitnogo materiala na processy regeneracii kostnoj tkani v uslovijah jeksperimenta (immunogistohimicheskoe issledovanie) [The effect of biocomposite material on bone tissue regeneration processes under experimental conditions (immunohistochemical study)]. *Travma [Injury]*. Vol. 15, no. 4, pp. 66–72.

3. Winkler T., Sass F.A., Duda G.N., Schmidt-Bleek K. (2018). A review of biomaterials in bone defect healing, remaining shortcomings and future opportunities for bone tissue engineering. *Bone Joint Res*. Vol. 7, no. 3, pp. 232–243. Available at: <https://doi.org/10.1302/2046-3758.73.BJR-2017-0270.R>

4. Turan, Cihan Dülgeroglu., Hasan, Metineren. (2017). Evaluation of the Effect of Platelet-Rich Fibrin on Long Bone Healing: An Experimental Rat Model. *Orthopedics*. Vol. 40, no. 3, pp. 479–484. Available at: <https://doi.org/10.3928 / 01477447-20170308-02>

5. L.V. Alekseeva, V.V. Zajcev, L.P. (2017). Fiziologicheskije mehanizmy realizacii gemostaticeskikh funkcij trombocitov [Physiological mechanisms for the implementation of hemostatic platelet functions]. *Elektronnyj nauchno-obrazovatel'nyj Vestnik «Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke»* [Electronic scientific and educational Bulletin "Health and education in the XXI century"]. Vol. 19, no. 1, pp. 1–6.

6. Klinger, M.H.F., Jelkmann, W. (2002). Role of Blood Platelets in Infection and Inflammation. *Journal of Interferon & Cytokine Research*. Vol. 22, pp. 913–922. Available at: <https://doi.org/10.1089 / 10799900260286623>

7. Osman, K., Gabr, A., Haddad, F.S. (2019). Bone Healing. In: Paschos N., Bentley G. (eds) *General Orthopaedics and Basic Science. Orthopaedic Study Guide Series*. Springer, Cham. Available at: https://doi.org/10.1007/978-3-319-92193-8_14

8. Rublenko, M.V., Andriyec', V.G., Lugovs'koj, E.V., Platonova, T.M., Chernyshenko, T.M. (2014). Kliniko-rentgenologichna charakterystyka eksperymental'nogo zastosuvannja fibrynovogo gelju dlja optymizacii' reparatyvnogo osteogenezu v kroliv [Clinical and radiological characteristics of the experimental use of fibrin gel to optimize reparative osteogenesis in rabbits]. *Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine]*. no. 14 (114), pp. 130–134.

9. Rublenko, M.V., Chemerovs'kyj, V.O., Vlasenko, V.M. Ul'janchych, N.V. (2018). Ocinka osteointegracijnyh i osteoinduktyvnyh vlastyvostryj keramiki, legovanoi' kremnijem, za model'nyh perelomiv stegnovoi' kistky u kroliv [Evaluation of osteointegration and osteoinductive properties of silicon-doped ceramics in model fractures of the femur in rabbits]. *Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine]*. no. 2, pp. 44–53. Available at: <https://doi.org/10.33245/2310-4902-2018-144-2-44-53>

10. Rublenko, M.V., Semenjak, S.A., Ul'janchych, N.V. (2014). Dynamika biomarkeriv reparatyvnogo osteogenezu za umov zamishhennja kistkovykh defektiv [Dynamics of biomarkers of reparative osteogenesis under conditions of bone defects replacement]. *Naukovyj visnyk LNUVVB im. S.Z. Gzhyc'kogo [Scientific Bulletin Stepan Gzhyskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv]*. Lviv, Vol. 16, no. 3 (60), Part 1, pp. 287–294.

11. Bielecki T., Dohan Ehrenfest D. M. (2012). Platelet-Rich Plasma (PRP) and Platelet-Rich Fibrin (PRF): Surgical Adjuvants, Preparations for In Situ Regenerative Medicine and Tools for Tissue Engineering. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. no. 13, pp. 1121–1130. Available at: <https://doi.org/10.2174/138920112800624292>

12. Dohan Ehrenfest, D.M., Rasmusson, L., Albrektsson, T. (2009). Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology*. Vol. 27, no. 3, pp. 158–167. Available at: <https://doi.org/10.1016 / j.tibtech.2008.11.009>

13. Kossev, P., Sokolov, T. (2015). Platelet-rich Plasma (PRP) in Orthopedics and Traumatology – Review. *Immunopathology and Immunomodulation*. pp. 173–195. Available at: <https://doi.org/10.5772/61326>

14. Oleya, M.C., AsadulIslamb, A., Hattac, M., Hardjodet, M. (2018). Effects of platelet-rich plasma and carbonated hydroxyapatite combination on cranial defect Bone Regeneration: An animal study. *Wound Medicine*. no. 21, pp. 12–15. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.wndm.2018.05.001>

15. Oryan, A., Alidadi, S., Moshiri, A. (2014). Amin Bigham-Sadegh. Bone morphogenetic proteins: A powerful osteoinductive compound with non-negligible side effects and limitations. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*. Vol. 40 (5), pp. 459–481. Available at: <https://doi.org/10.1002 / biof.1177>

16. Peck, M.T., Hiss, D., Stephen, L. (2016). Factors affecting the preparation, constituents, and clinical efficacy of leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *SADJ*. Vol. 71, no. 7, pp. 298–302.

17. David, M. Dohan., Choukroun, J., Diss, A., Steve, L. Dohan., Anthony, J.J. Dohan., Mouhyi, J., Gogly, B. (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. Vol. 101, pp. 45–50. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2005.07.009>

18. Arora, S., Agnihotri, N. (2017). Platelet Derived Biomaterials for Therapeutic Use: Review of Technical Aspects. *Indian J Hematol Blood Transfus*. Vol. 33(2), pp. 159–167. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12288-016-0669-8>

19. Steller, D., Herbst, N., Pries, R., Juhl, D., Hakim, S.G. (2018). Impact of incubation method on the release of growth factors in Non-Ca²⁺-activated PRP, Ca²⁺-activated PRP, PRF and A-PRF. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. pp. 1–28. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2018.10.017>

20. Kostyv, R.E., Kalynychenko, S.G., N.Ju. Matveeva, N.Ju. (2017). Troficheskie faktory rosta kostnoj tkani, ih morfogeneticheskaja karakteristika i klinicheskoe znachenie [Trophic bone growth factors, their morphogenetic characteristics and clinical significance]. *TMZH*. no. 1, pp. 10–16. Available at: <https://doi.org/10.17238/PmJ1609-1175.2017.1.10-16>

21. Samuel, P. Franklin., Kate, E. Birdwhistell., Strelchik, A. (2017). Influence of Cellular composition and Exogenous Activation of Growth Factor and Cytokine Concentrations in Canine Platelet-Rich Plasmas. *Frontiers in Veterinary Science*. Vol. 4, pp. 1–10. Available at: <https://doi.org/10.3389 / fvets.2017.00040>

22. Raquel Maia, F., Vitor, M. Correló., Joaquim, M. Oliveira., Rui, L. (2019). Reis. Natural Origin Materials

for Bone Tissue Engineering: Properties, Processing, and Performance. Principles of Regenerative Medicine. Third Edition. P. 535–558. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809880-6.00032-1/>

23. Mali, A., Gokhale, S., Patil, V., Khadtareet, Y. (2018). Platelet rich fibrin: focus on growth factors and cytokines. *International Journal of Recent Scientific Research*. Vol. 9, no. 5 (B), pp. 26531–26535. Available at: <http://doi.org/10.24327/ijrsr.2018.0905.2078>

24. Rublenko, M.V., Semenjak, S.A., Andriyec', V.G. (2017). Molekularno-biologichni mehanizmy reparatyvnogo osteogenezu [Molecular biological mechanisms of reparative osteogenesis]. *Naukovy visnyk veterynarnoi medycyny* [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine]. no. 2, pp. 11–20.

25. Badran, Z., Mohamed-Nur, Abdallah., Torres, J., Tamimi, F. Platelet concentrates for bone regeneration: Current evidence and future challenges. *Platelets*. 2017. P. 1–8. Available at: <https://doi.org/10.1080/09537104.2017.1327656>

26. David, M., Ehrenfest, D., Bielecki, T., Jimbo, R., Barbé, G., Marco Del, Corso., Inchingolo, F., Sammartino, G. (2012). Do the Fibrin Architecture and Leukocyte Content Influence the Growth Factor Release of Platelet Concentrates? An Evidence-based Answer Comparing a Pure Platelet-Rich Plasma (P-PRP) Gel and a Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF). *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 13, pp. 1145–1152.

27. Falan, H. Khalaf., Serwa, Ibrahim Salih. (2018). Clinical and histopathological evaluation of using platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin matrix in treatment of induced chronic open wounds in bucks. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. Vol. 11, no. 5, pp. 337–341.

28. Maria Rosaria, De Pascale., Linda, Sommesse., Amelia, Casamassimi., Claudio, Napoli. (2015). Platelet Derivatives in Regenerative Medicine: An Update. *Transfusion Medicine Reviews*. Vol. 29, pp. 52–61. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2014.11.001>

29. Kaux, J.F., Drion, P., Croisier, J.L., Crielaard, J.M. (2015). Tendinopathies and platelet-rich plasma (PRP): from preclinical experiments to therapeutic use. *Journal of Stem Cells and Regenerative Medicine*. Vol. 11, no. 1, pp. 7–17.

30. Mirza, M.H., Bommala, P., Richbourg, H.A., Rademacher, N. (2016). Gait Changes Vary among Horses with Naturally Occurring Osteoarthritis Following Intra-articular Administration of Autologous Platelet-Rich Plasma. *Front. Vet. Sci.* Vol. 3, 29 p. Available at: <https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00029>.

31. Baszczyk, B., Kaspera, W., Ficek, K. (2018). Effects of Polylactide Copolymer Implants and Platelet-Rich Plasma on Bone Regeneration within a Large Calvarial Defect in Sheep. *BioMed Research International*. pp. 1–11.

32. Donos, N., Dereka, X., Calciolari, E. (2019). The use of bioactive factors to enhance bone regeneration: A narrative review. *J Clin Periodontol*. Vol. 46(Suppl. 21), pp. 124–161.

33. Wang, Q.L., Yang, P., Hong, Ge, Li., Liu, He. (2016). Preliminary Evaluation of Platelet Rich Fibrin Mediated Tissue Repair in Immature Canine Pulpless Teeth. *The Chinese Journal of Dental Research*. Vol. 19, 1, pp. 49–50.

34. Salih, S.I., Al-Falahi, N.H., Saliem, A.H., Abedsali, A.N. (2018). Effectiveness of platelet-rich fibrin matrix treated with silver nanoparticles in fracture healing in rabbit model. *Veterinary World*. Vol. 11 (7), pp. 944–952.

35. Semenov, B.S. (2017). Lechenie tendinita poverhnostnogo sgitelja palca u loshadej s ispol'zovaniem tromboc-

itarnoj autoplazmy [Treatment of superficial flexor tendonitis in horses using platelet autoplasm]. *Vestnik Altajskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* [Bulletin of the Altai State Agrarian University]. no. 1 (147), pp. 125–132.

36. Simon, J. Davidson. (2013). Inflammation and Acute Phase Proteins in Haemostasis. pp. 31–54. Available at: <https://doi.org/10.5772/55998>

37. Ahtjamov, I.F., Shakyrova, F.V., Zubayrova, L.D., Gatyna, Je.B., Aliev Je.I. (2013). Ocenka otveta ostroj fazy pri jeksperimental'nom osteosinteze implantami s bioinertnym pokrytiem nitridami sverhtverdyh metallov [Assessment of the response of the acute phase during experimental osteosynthesis with implants with a bioinert coating with superhard metal nitrides]. *Genij Ortopedii* [The genius of Orthopedics]. no. 4, pp. 80–83.

Динамика гематологических показателей, макро-морфологическая и рентгенологическая картины репаративного остеогенеза у кроликов за использования тромбоцитарных концентратов и гидроксипатитной керамики.

Шевченко С. Н.

Представлены результаты динамики морфологических показателей крови кролика с модельными дефектами отверстия губчатой и компактной костной ткани в разные сроки репаративного остеогенеза. Сформированы 4 группы кроликов. Костные повреждения в первой опытной группе были заполнены инъекционным фибрином, обогащенным тромбоцитами, во втором — фибрином, обогащенным тромбоцитами, в третьем — комбинацией фибрина, обогащенного тромбоцитами, и гидроксипатита с β-трикальцийфосфатом. В контрольной группе дефекты оставляли заживать под кровяным сгустком. Все животные находились в одинаковых условиях кормления и содержания, имели неограниченный доступ к воде. В течение исследования за кроликами вели клинические наблюдения. Кровь для морфологического исследования отбирали перед оперативным вмешательством и на 3-й, 7-, 14-, 21-, 42-е сутки. Животных выводили из опыта на 14-й, 21- и 42-е сутки, проводили рентгенологическое исследование, отбирали образцы костной ткани.

Установлено, что травма костной ткани приводит к возникновению ряда реакций организма, направленных на восстановление поврежденного участка. На фоне общей картины полученных результатов морфологического исследования, по сравнению с физиологической нормой, существенно изменяется уровень тромбоцитов, при этом количество эритроцитов и лейкоцитов не выходит за ее пределы. Наблюдается незначительное повышение уровня гемоглобина, особенно в опытных группах на 21- и 42-е сутки. Отмечали достоверные изменения количества эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов и концентрации гемоглобина в опытных группах по сравнению с контрольной группой в разные сроки репаративного остеогенеза. Применение различных типов тромбоцитарных концентратов влияет на общую реакцию организма.

На рентгенограммах лучевых костей (компактная костная ткань) на 21-е сутки во второй и третьей опытных группах, где для замещения дефектов костной ткани применяли фибрин, обогащенный тромбоцитами, и его комбинацию с гидроксипатитными материалами с β-трикальцийфосфатом, воспалительная реакция прояв-

лялась в меншій ступені. Не происходило значительного формирования костной мозоли по сравнению с первой, в которой модельные дефекты заполняли инъекционным фибрином, обогащенным тромбоцитами, и контрольной группой.

Каждый из типов тромбоцитарных концентратов и их комбинация с гидроксиапатитной керамикой по-разному влияет на восстановление костных дефектов и сопровождается возникновением ряда реакций, как местных так и общих. По степени интенсивности этого процесса их можно разместить в следующей последовательности: i-PRF < PRF < PRF+ГТ.

Макроморфологически и рентгенологически существенных различий не выявлено для различных типов костной ткани в результате применения каждого из веществ, концентрирующего тромбоциты.

Комбинация гранул гидроксиапатита с β -трикальцийфосфатом и фибрина, обогащенного тромбоцитами, оказалась оптимальным вариантом для восстановления поврежденного участка. Ее применение обеспечивает значительно меньшее проявление местной воспалительной реакции и вызывает образование оптимальной костной мозоли.

Ключевые слова: PRF, i-PRF, гранулы, центрифуги, факторы роста, костная мозоль.

Dynamics of hematological parameters, macromorphological and radiological results of reparative osteogenesis in rabbits for the use of platelet concentrates and hydroxyapatite ceramics.

Shevchenko S.

The results of the dynamics of the morphological parameters of the blood of a rabbit with model defects of the opening of the spongy and compact bone tissue at different periods of reparative osteogenesis are presented. Formed 4 groups of rabbits. Bone lesions in the first experimental group were filled with injectable platelet-rich fibrin, in the second - platelet-rich fibrin, in the third - a combination of platelet-rich fibrin, and hydroxyapatite with β -tricalcium phosphate. In the control group, the defects remained healed under a blood clot. All animals were in the same conditions of feeding and keeping, had unlimited access to water. During the study, rabbits were clinically observed. Blood was taken for morphological examination before surgery and on the 3rd, 7th, 14th, 21st,

42nd day. Animals were taken from the experiment on the 14th, 21st and 42nd days, an X-ray examination was carried out, bone tissue samples were taken.

It was established that trauma of bone tissue leads to a number of reactions of the body aimed at restoring the damaged area. Against the background of the general picture of the obtained morphological results, the level of platelets significantly changes compared to the physiological norm, while the number of red blood cells and white blood cells does not go beyond it. There is a slight increase in hemoglobin levels, especially in the experimental groups on the twenty-first and forty-second day. Significant changes in the number of red blood cells, white blood cells, platelets and hemoglobin concentration in the experimental groups were noted compared with the control group at different periods of reparative osteogenesis. The use of various types of platelet concentrates affects the overall reaction of the body.

On radiographs of the radial bones (compact bone tissue) on the twenty-first day in the second and third experimental groups, where fibrin enriched with platelets and its combination with hydroxyapatite materials with β -tricalcium phosphate were used to replace bone defects, the inflammatory reaction was manifested to a lesser extent. There was no significant formation of bone callus compared with the first, in which model defects were filled with injectable platelet-rich fibrin and the control group.

Each of the types of platelet concentrates and their combination with hydroxyapatite ceramics have a different effect on the restoration of bone defects and is accompanied by the appearance of a number of reactions, both local and general. According to the degree of intensity of this process, they can be placed in the following sequence: i-PRF < PRF < PRF+GT.

Macromorphologically and radiologically significant differences were not detected for different types of bone tissue due to the use of each of the substances that concentrates platelets.

The combination of hydroxyapatite granules with β -tricalcium phosphate and platelet-rich fibrin proved to be the best option for repairing the damaged area. Its use provides a significantly smaller manifestation of the local inflammatory reaction and causes the formation of optimal bone marrow.

Key words: PRF, i-PRF, granules, centrifuges, growth factors, bone marrow.



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



Шевченко С.М.

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