


## ХІРУРГІЯ ТА АНЕСТЕЗІОЛОГІЯ

УДК 636.92:616-001.5/-073:617.2

Гістоморфологічна оцінка впливу  
легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки  
на репаративний остеогенез у кролів із системним остеопорозомТодосюк Т.П.<sup>1</sup> , Рубленко А.М.<sup>2</sup> <sup>1</sup> Білоцерківський національний аграрний університет<sup>2</sup> Вінницький державний педагогічний університет імені Михайла Коцюбинського E-mail: Тодосюк Т.П. tatyana.todosyuk@gmail.com

Тодосюк Т.П., Рубленко А.М. Гістоморфологічна оцінка впливу легованої германієм кальцій-фосфатної кераміки на репаративний остеогенез у кролів із системним остеопорозом. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2024. № 1. С. 103–112.

Todosyuk T., Rublenko A. Histomorphological assessment of the germanium-doped calcium phosphate ceramics on reparative osteogenesis in rabbits with systemic osteoporosis. *Nauk. visn. vet. med.*, 2024. № 1. PP. 103–112.

Рукопис отримано: 30.04.2024 р.

Прийнято: 13.05.2024 р.

Затверджено до друку: 24.05.2024 р.

Doi: 10.33245/2310-4902-2024-188-1-103-112

Переломи кісток здебільшого мають ургентний прояв, складні у патогенетичному, діагностичному і лікувальному аспектах, а репаративний остеогенез мультимодальний і залежить від збалансованої і реципрокної взаємодії низки чинників. Представлені результати гістологічних досліджень за остеозаміщення кісткових дефектів у кролів із системним остеопорозом.

Мета роботи – гістоморфологічна оцінка кісткових регенератів за остеозаміщення легованою германієм гідроксиапатитною керамікою у кролів із вторинним остеопорозом.

Експериментальний остеопороз у кролів (n=18) викликали введенням 0,4 % розчину дексаметазону. У тварин дослідної групи кісткові дефекти заміщували гранулами гідроксиапатитної кераміки, легованої германієм, у тварин контрольної вони загоювалися під кров'яним згустком. Гістологічні зрізи виготовляли на ротаційному мікротомі товщиною від 5 до 10 мкм та фарбували залізним гематоксилином Вейгерта і 1 % розчином еозину на спиртовій основі (виробник Diapath, Італія).

На 60-ту добу репаративного остеогенезу в тварин дослідної групи місце кісткового дефекту було виповнене компактною кістковою тканиною з незначними залишками губчастої кісткової тканини. Відмічали дещо розширені гаверсові канали. У контрольній групі ділянка дефекту була виповнена грубоволокнистою і губчастою кістковою тканиною. 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. Також на гістологічних препаратах спостерігали лакуну резорбції кісткової тканини та безклітинні ділянки.

Гістоморфологічна оцінка кісткових регенератів підтверджує реалізацію остеокондуктивних, остеointegraційних і остеoіндуктивних властивостей кальцій-фосфатної кераміки, легованої германієм, в умовах остеопорозних переломів трубчастих кісток.

**Ключові слова:** системний остеопороз, переломи кісток, губчаста і компактна кісткова тканина, гістологічні зрізи, гістоморфологічні зміни, кролі.

**Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень.** Переломи кісток здебільшого мають ургентний прояв, складні у патогенетичному, діагностичному і лікувальному аспектах, а репаративний остеогенез мультимодальний і залежить від збалансованої і реципрокної взаємодії низки чинників. Зокрема, нутрієтивних, оскільки хімічний склад кісток, у тому числі макро- та мікроелементів, перманентно змінюється залежно від віку, функціональних навантажень, типу харчування та інших чинників [1–3]. При цьому близько 27 % губчастої кістки і 3 % кортикальної кістки піддаються щорічному оновленню – фізіологічній регенерації, яка перебуває під контролем низки системних і локальних чинників [4, 5–8].

Безпосереднім зовнішнім чинником переломів кісток є механічна травма, проте нерідко вони виникають за впливу сукупності чинників ризику, таких як генетично зумовлені чи нутрієтивні порушення кісткового метаболізму [9–12], пов'язані з видом чи породою тварин, коморбідність і метаболічні хвороби [13], гормональні та системні порушення мікроциркуляції у кістковій тканині [6], неоплазійні чи дегенеративно-дистрофічні процеси опорно-рухового апарату [14–16].

Незважаючи на динамічне удосконалення технічних засобів і способів консервативного чи оперативного лікування переломів, частота ускладнень їх консолідації залишається досить суттєвою. 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. Водночас під час остеосинтезу, особливо осколкових переломів, здебільшого видаляється первинна гематома, яка є природною матрицею з популяцією клітин і факторів росту, що індукують репаративний процес. У разі формування після операції вторинної гематоми регенеративний потенціал також знижується внаслідок порушеного балансу між клітинами і сигналами медіаторів кісткової репарації [2, 9, 11, 17]. Крім того, осколкові переломи супроводжуються більш тривалою фазою запального процесу, що призводить до гальмування неоангіогенезу.

Водночас, у патогенетичній основі остеопорозу, кісткових неоплазій, гематогенних інфекцій кісток, уроджених вад розвитку скелета 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 різного роду імплантів [18, 19].

Зокрема 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'язано з атрофічними змінами кісткової тканини внаслідок порушення нервової трофіки (парези, паралічі нервів тощо) [16, 20–25]. Тобто, з огляду на зазначене вище, необхідне подальше удосконалення ортопедичної допомоги у тварин із використанням остеозаміщення на принципах регенеративної медицини.

Запропоновано [2, 5, 8, 26–29] групи матеріалів, що різняться за своїми фізико-хімічними і біологічними властивостями: полімери природні та синтетичні, біоскло, кераміка, метали та їх сплави, композити – матеріали, що формуються із представників різних груп.

За результатами попередніх досліджень [3, 11, 30], серед перспективних матеріалів для остеозаміщення слід відмітити кальцій-фосфатну кераміку (карбонатит, 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 як покриття металевих фіксаційних імплантів для остеосинтезу чи ендопротезування. Такі керамічні імпланти не зумовлюють імунологічних і алергічних реакцій, токсичної дії на організм, не мають канцерогенних та мутагенних властивостей, характеризуються достатнім ступенем остеοінтеграції та контрольованою здатністю до резорбції, легко піддаються стерилізації за високих температур. Водночас кальцій-фосфатна кераміка завдяки регульованому об'єму і формі, пористості та адгезивності володіє адекватною для формування кісткового регенерата остеокондуктивністю, але не має остеοіндуктивних властивостей [2, 31–33].

Водночас остеοіндуктивні властивості має низка макро- (магній) і мікроелементів (цинк, кремній, селен, стронцій), іонами яких легують кальцій-фосфатну кераміку, однак механізми їх остеοіндуктивного ефекту потребують додаткового обґрунтування [34].

Зокрема германій має широкий спектр біологічних властивостей, а саме підвищує імун-

ний статус організму, забезпечує гемопоез, перенесення кисню в тканинах, проявляє протипухлинну, протизапальну, антиоксидантну, імуномодулюючу, фунгіцидну, противірусну та антимікробну дію, має знеболювальний ефект. Він підвищує електрофоретичну активність поверхні гідроксиапатиту, що може істотно покращувати його остеointegraційні характеристики [35–37].

Проте на сьогодні є лише поодинокі роботи щодо результатів остеозаміщення у ветеринарній медицині або знаходяться на рівні експериментальних досліджень на моделях лабораторних тварин.

**Мета роботи** – гістоморфологічна оцінка кісткових регенератів за остеозаміщенням легованою германієм гідроксиапатитною керамікою у кролів із вторинним остеопорозом.

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

Дослідження проводили 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 комбікормом для кролів із розрахунку 200 г на одну голову за добу з вільним доступом до води.

Експериментальний остеопороз у кролів (n=18) викликали введенням 0,4 % розчину дексаметазону (4 мг/мл) (KRKA, Словенія) впродовж 21-ї доби у дозі 1,2 мг/кг маси тіла 1 раз/добу [30, 31]. У дослідній (n=9) і контрольній (n=9) групах тварин відтворювали модельні переломи за наступного анестезіологічного забезпечення: 2 % ацепромазин внутрішньом'язово (0,7 мг/кг), тіопенат внутрішньовенно (6 мг/кг) та місцева інфільтраційна анестезія 0,5 % лідокаїном (3 мг/кг).

Кісткові дефекти формували з дорсолатеральної поверхні діафіза променевої кістки

(компактна кісткова тканина). Оперативний доступ проводили з дотриманням правил асептики та антисептики. Після розтину окістя формували дірчасті кісткові дефекти свердлом діаметром 3 мм у променевої кістці. У тварин дослідної групи ці дефекти заміщували гранулами гідроксиапатитної кераміки, легованої германієм, а у тварин контрольної вони загоювалися під кров'яним згустком. Рани м'яких тканин закривали вузловими швами із поліпропілену. Впродовж 7-ми діб двічі на день шви обробляли антисептичним засобом «Йоддицерин».

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

Тварин виводили з експерименту на 14-, 30-, 60-ту добу досліджень за внутрішньовенного введення тіопенату (тіопентал натрію, ООО Бровафарма, Україна) у дозі 50 мг/кг.

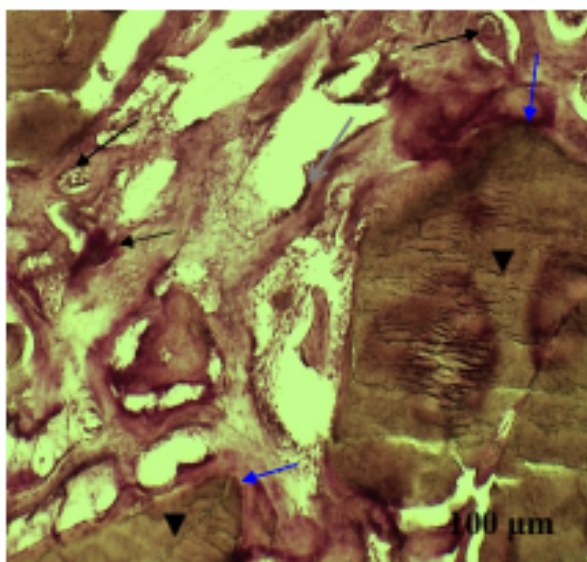
Фіксацію зразків кісткового регенерату для гістоморфологічного дослідження проводили у нейтральному формаліні (10 %), надалі їх декальцинували спеціалізованим розчином Rapid decalcifier (виробник Kaltek, Італія), зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації, просвітлювали у ксилолі та заливали в парафін Plasti Wax фірми KALTEK (Італія). Гістологічні зрізи виготовляли на ротаційному мікромомі товщиною від 5 до 10 мкм та фарбували залізним гематоксилином Вейгерта і 1 % розчином еозину на спиртовій основі (виробник Diapath, Італія). Мікроскопію гістозрізів проводили 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 Score.

**Результати дослідження.** На 14-ту 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. Водночас у регенераті спостерігали безклітинні ділянки кісткової тканини, характерні для остеопоротичних змін (рис. 1, а).

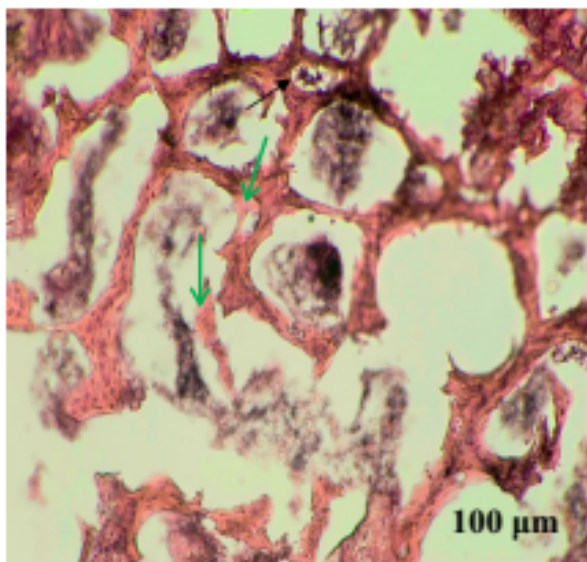
У контрольній групі тварин, модельні дефекти яких загоювалися під кров'яним згустком, у місці кісткової травми відмічали наявність незрілих остеїдних балок, а також незначні ділянки щільної волокнистої сполучної ткани-

ни із запальною інфільтрацією, характерною на цьому етапі репаративного остеогенезу, та невеликій зоні 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. 1, б).

На 30-ту 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 значна кількість клітин в остеоцитарних лакунах. Канали остеонів були дещо розширені.



а



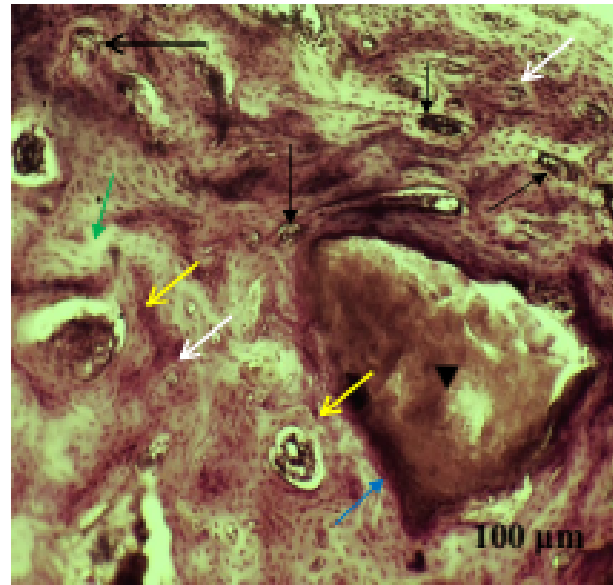
б

Рис. 1. Гістологічна картина кісткового регенерату променевої кістки на 14-ту добу репаративного остеогенезу у кролів (а – дослідна (ГТлСег-700); б – контрольна (під кров'яним згустком) 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.  $\times 100$ .

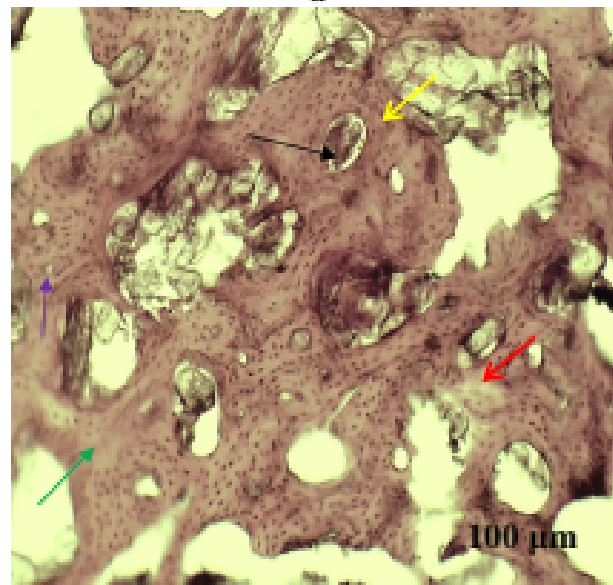


У контрольній групі у цей термін дослідження кістковий дефект частково був виповнений грубоволокнистою кістковою тканиною, але також візуалізувалися балки губчастого типу з незначною кількістю остеогенних клітин. Кількість остеоцитів була невеликою, місцями вони розташовувалися нерівномірно у площині кісткового регенерату. Заразом спостерігалися безклітинні лакуни резорбції кісткової тканини та розширені канали остеона.

На 60-ту 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. Також були дещо розширені гаверсові канали, але порожніх остеоцитарних лакун та ділянок остеорезорбції не відмічали (рис. 2, а).



а



б

Рис. 2. Гістологічна картина кісткового регенерату променевої кістки на 60-ту добу репаративного остеогенезу у кролів (а – дослідна (ГТлGeg-700); б – контрольна (під кров'яним згустком) 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.  $\times 100$ .

У контрольній групі на 60-ту добу дослідження ділянка дефекту була виповнена грубо-волокнистою 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 (2, б).

Отже, за гістологічної оцінки кісткових регенератів в умовах глюкокортикоїд-індукованого остеопорозу, остеозаміщення кісткових дефектів леговою германієм кальцій-фосфатною керамікою обумовлює більш ранню остеобластичну реакцію та інтенсивний неоангіогенез.

**Обговорення.** Складними та найбільш частими наслідками травм опорно-рухового апарату вважаються переломи кісток, основною причиною яких є дія різного роду травмуючих чинників, а їх лікування залежить 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 чинниками є метаболічні, гормональні і генетичні порушення та патологічні процеси у кістковій тканині (остеомієліт, карієс, неоплазії кісток) [2, 37]. 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 чинників ризику зазначеної патології також є системний остеопороз [31, 32]. Порушення процесів регенерації кісткової тканини та ризику нестабільної фіксації уламків пов'язані зі змінами структурно-функціонального стану кісткової тканини, що нерідко призводить до уповільненої консолідації з подальшим стійким незрощенням кісток, утворенням несправжнього суглоба тощо [9].

У разі наявності кісткових дефектів значного розміру жоден 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]. Зокрема активація остеогенезу може бути до-

сягнута за остеобластного, остеоіндуктивного, стимульованого чи остеокондуктивного остеосинтезу [2]. З цією метою, насамперед використовують остеозаміщувальні матеріали, кожен із яких має певні механічні, біологічні та фізико-хімічні характеристики і особливості взаємодії з кістковою тканиною [2, 5].

У ветеринарній медицині недостатньо дискутуються та мало описані чинники ризику переломів кісток у тварин. Одним із них є системний остеопороз. Здебільшого, 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.

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 леговою германієм кальцій-фосфатною керамікою, яка складається з двох біосумісних фаз: гідроксиапатиту та  $\beta$ -трикальційфосфату [5, 17]. Гідроксиапатит є природною мінеральною формою апатиту кальцію і є подібним до елементного фазового складу мінерального компоненту кісткової тканини.  $\beta$ -ТКФ за взаємодії із внутрішнім середовищем організму швидко піддається резорбції і перетворюється на біологічний гідроксиапатит. Цей матеріал пропонується як для заповнення кісткових дефектів, так і для покриття металевих фіксаційних імплантів для остеосинтезу чи ендопротезування.

За гістологічної оцінки кісткових регенератів дослідних тварин вже на 14-ту добу відмічали наявність новоутворених трабекул зі значною кількістю клітин остеобластичного ряду та велику кількість капілярів і судинних каналів, тимчасом 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 у разі зменшення їх кількості у клітинному складі регенерату відбувається порушення ангіогенезу. Як наслідок, спостерігається відставання процесів диференціювання клі-

тин, відбувається подовження перебігу стадій репаративної регенерації, що призводить до більш пізнього формування остеоїда та кісткових трабекул через порушення переходу запально-резорбтивної фази у фазу проліферації і диференціювання клітин фібробластичного та остеобластичного диферонів, спостерігається уповільнення ремодельовання 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.

**Висновки.** Гістоморфологічна оцінка кісткових регенератів підтверджує реалізацію остеокондуктивних, остеоінтеграційних і остеоіндуктивних властивостей кальцій-фосфатної кераміки, легованої германієм, в умовах остеопорозних переломів трубчастих кісток. На підставі одержаних результатів досліджень вважаємо, що легована германієм кальцій-фосфатна кераміка може бути перспективною для потреб остеозаміщення у разі патологічних переломів остеопорозного генезу.

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

**Конфлікт інтересів.** Автори повідомляють про відсутність конфлікту інтересів в представленій роботі.

**Подяка/фінансування.** Представлені дослідження виконані відповідно до затвердженої теми дисертаційної роботи «Застосування біоінженерних композитів на основі гідроксиапатиту, колагену і фібрину для оптимізації регенерації тканин опорно-рухового апарату в тварин» (протокол № 4 від 28 листопада 2019 року) та виконання 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» (Договір № 515 від 17 квітня 2019 р.) відповідно до цільової науково-технічної програми НАН України «Дослідження і розробки з проблем підвищення обороноздатності і безпеки держави» та розпорядження Президії НАН України від 16.04.2019 № 255.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Oryan A., Alidadi S., Moshiri A., Maffulli N. Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions. *J. Orthop Surg Res.* 2014. Vol. 9. (1). P. 29–36. DOI:10.1186/1749-799x-9-18
- Appendicular fracture repair in dogs using the locking compression plate system: 47 cases / P.J. Haaland et al. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology.* 2009. Vol. 22. no. 4. P. 309–315. DOI:10.3415/vcot08-05-0044
- Бумейстер В. І., Погорелов М. В. Сучасний погляд на репаративний остеогенез. *Світ медицини та біології.* 2008. 4. С. 104–110.
- Рубленко М.В., Дудка В.Б., Семеняк С.А. Морфо-рентгенологічна і біохімічна характеристика репаративного остеогенезу за заміщення кісткових дефектів Біоміном-ГТ у тварин. *Наук. вісник вет. медицини: зб. наук. праць. Біла Церква,* 2015. № 1 (118). С. 98–106.
- Новіцький В.О., Слюсаренко Д.В. Особливості діагностики та лікування нестабільності крижово-клубового суглобу у собак. *Ветеринарія, технології тваринництва та природокористування.* 2020. С. 105–109. DOI:10.31890/vtpp.2020.05.19
- Використання композитних матеріалів за переломів трубчастих кісток у тварин / М.В. Рубленко та ін. Біла Церква. 2015. 86 с.
- Пустовіт Р.В. Характеристика переломів трубчастих кісток у дрібних домашніх тварин. *Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту.* 2007. Вип. 44. С. 124–127.
- Rychel J.K. Diagnosis and Treatment of Osteoarthritis. *Topics in Companion Animal Medicine.* 2010. Vol. 25. no. 1. P. 20–25. DOI:10.1053/j.tcam.2009.10.005
- Won S., Chung W.-J., Yoon J. Clinical application of quantitative computed tomography in osteogenesis imperfecta-suspected cat. *Journal of Veterinary Science.* 2017. Vol. 18. no. 3. 415 p. DOI:10.4142/jvs.2017.18.3.415
- Osteoporosis influences the middle and late periods of fracture healing in a rat osteoporotic model / J.W. Wang et al. *Chin. J. Traumatol.* 2005. 8. P. 111–116.
- The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research / P.P. Lelovas et al. *Comp Med.* 2008. 58 (5). P. 424–430.
- Lopez M., Schachner E. Diagnosis, prevention, and management of canine hip dysplasia: a review. *Veterinary Medicine: Research and Reports.* 2015. 181 p. DOI:10.2147/vmrr.s53266

13. 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. DOI:10.1293/tox.2014-0060
14. Dittmer K.E., Pemberton S.A. Holistic Approach to Bone Tumors in Dogs and Cats: Radiographic and Histologic Correlation. *Veterinary Pathology*. 2021. Vol. 58. no. 5. P. 841–857. DOI:10.1177/0300985821999832
15. A retrospective study on bone metastasis in dogs with advanced-stage solid cancer / C. Agnoli et al. *Journal of Small Animal Practice*. 2023. DOI:10.1111/jsap.13621
16. *Journal of the American Veterinary Medical Association* / A.G. Burton et al. 2015. Vol. 247. no. 7. P. 778–785. DOI:10.2460/javma.247.7.778
17. 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. DOI:10.2460/javma.247.8.917
18. 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. DOI:10.1111/j.1939-1676.2008.0046.x
19. Szabó Z., Szabó G. The effect of haemorrhage and bone fracture on bone marrow circulation. *Research in Experimental Medicine*. 1978. Vol. 172. no. 1. P. 7–17. DOI:10.1007/bf01851061
20. Remedios A. Bone and Bone Healing. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 1999. Vol. 29. no. 5. P. 1029–1044. DOI:10.1016/s0195-5616(99)50101-0
21. Zheng J.-S., Ruan H.-R., Hou K.-W. Therapeutic effects of revascularisation on the healing of free bone grafts in dogs. *Journal of Veterinary Research*. 2020. Vol. 64. no. 1. P. 175–180. DOI:10.2478/jvetres-2020-0023
22. Тодосюк Т.П., Рубленко М.В., Власенко В.М., Ульянич Н.В. Рентгено-макроморфологічна 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:10.32718/nvlvet10623.
23. Can we induce osteoporosis in animals comparable to the human situation? / R. Oheim et al. *Injury*. 2016. Vol. 47. P. 3–9. DOI:10.1016/s0020-1383(16)30002-x
24. Fracture healing in osteoporotic fractures: Is it really different? / P. Giannoudis et al. *Injury*. 2007. Vol. 38. no. 1. P. 90–99. DOI:10.1016/j.injury.2007.02.014
25. 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. 225 p. DOI:10.4142/jvs.2016.17.2.225
26. 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. DOI:10.2460/javma.247.8.917
27. Johnson K.A. Risks and Outcomes of Equine Flat Bone Fractures. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*. 2019. Vol. 32. no. 4:v. DOI:10.1055/s-0039-1693467
28. Characteristics of complete tibial fractures in California racehorses / M. A. Samol et al. *Equine Veterinary Journal*. 2020. DOI:10.1111/evj.13375
29. Histopathological features of bone regeneration in a canine segmental ulnar defect model / R. Hobbenaighi et al. *Diagnostic Pathology*. 2014. Vol. 9. no. 1. DOI:10.1186/1746-1596-9-59
30. Cheng L.J., Yu T., Shi Z. Osteoinduction Mechanism of Calcium Phosphate Biomaterials In Vivo: A Review. *Journal of biomaterials and tissue engineering*. 2017. Vol. 7. P. 911–918.
31. Chim H.J. Biomaterials in craniofacial surgery: experimental studies and clinical application. *Craniofac. Surg.* 2009. Vol. 20 (1). P. 29–33.
32. Наноматеріали медичного призначення: монографія / І. В. Уварова та ін.; за ред. акад. НАН України В. В. Скорохода, Ін-т проблем матеріалознавства ім. І. М. Францевича. Київ: Наукова думка, 2014. 414 с.
33. Moore D.C., Chapman M.W., Manske D. The evaluation of a biphasic calcium phosphate ceramic for use in grafting long-bone diaphyseal defects. *Journal of Orthopaedic Research*. 1987. Vol. 5. no. 3. P. 356–365. DOI:10.1002/jor.11000 50307
34. Manjubala I., Sastry T.P., Kumar R.V.S. Bone In-growth Induced by Biphasic Calcium Phosphate Ceramic in Femoral Defect of Dogs. *Journal of Biomaterials Applications*. 2005. Vol. 19. no. 4. P. 341–360. DOI:10.1177/088 5328205048633
35. Fujii A. Effect of organic germanium compound (Ge-132) on experimental osteoporosis in rats / A. Fujii et al. *General Pharmacology: The Vascular System*. 1993. 24 (6). P. 1527–1532. DOI:10.1007/s10653-017-0061-0
36. Lingjun Li., Ruan T., Lyu Y., Wu B. Advances in Effect of Germanium or Germanium Compound on Animals. *Journal of Biosciences and Medicines*. 2017. 5. P. 56–73. DOI:10.4236/jbm.2017.57006
37. Ismail D.A., Noaman E. Synthesis and Antitumour Activity of Four Germanium Amino Acid Complexes. *Egyptian Journal of Chemistry*. 2007. Vol. 50. P. 29–37.

## REFERENCES

- Oryan, A., Alidadi, S., Moshiri, A., Maffulli, N. (2014). Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions. *J. Orthop Surg Res.*, Vol. 9 (1), pp. 29–36. DOI:10.1186/1749-799x-9-18
- Haaland, P.J., Sjöström, L. (2009). Appendicular fracture repair in dogs using the locking compression plate system: 47 cases. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*. Vol. 22, no. 4, pp. 309–315. DOI:10.3415/vcot08-05-0044
- Bumeister, V.I., Pohorelov, M.V. (2008). Suchasnyi pohliad na reparativnyi osteohenez [A mod-



ern view of reparative osteogenesis]. *Svit medycyny ta biolohii* [The world of medicine and biology]. 4, pp. 104–110. (In Ukrainian).

4. Rublenko, M.V., Dudka, V.B., Semeniak, S.A. (2015). Morfo-rentgenologichna i biokhimichna kharakterystyka reparatyvnoho osteohenezu za zamishchennia kistkovykh defektiv Biominom-HT u tvaryn [Morpho-radiological and biochemical characteristics of reparative osteogenesis for replacing bone defects with Biomin-HT in animals]. *Nauk. visnyk vet. medycyny: zb. nauk. prats* [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine: collection of scientific papers]. Bila Tserkva, no. 1 (118), pp. 98–106. (In Ukrainian).

5. Novitskyi, V.O., Sliusarenko, D.V. (2020). Osoblyvosti diahnozyky ta likuvannia nestabilnosti kryzhovo-klubovoho suhlobu u sobak [Features of diagnosis and treatment of sacroiliac joint instability in dogs]. *Veterynariia, tekhnolohii tvarynnytstva ta pryrodokorystuvannia* [Veterinary medicine, animal husbandry technologies and nature management]. pp. 105–109. DOI:10.31890/vttp.2020.05.19 (In Ukrainian).

6. Rublenko, M.V., Andriiets, V.H., Semeniak, S.A. (2015). Vykorystannia kompozytnykh materialiv za perelomiv trubchastykh kistok u tvaryn [The use of composite materials for fractures of tubular bones in animals]. Bila Tserkva, 86 p. (In Ukrainian).

7. Pustovit, R.V. (2007). Kharakterystyka perelomiv trubchastykh kistok u dribnykh domashnykh tvaryn [Characteristics of fractures of tubular bones in small domestic animals]. *Visnyk Bilotserkiv. derzh. ahrar. un-tu* [Bulletin of the Bilotserki State Agrarian University], Issue 44, pp. 124–127. (In Ukrainian).

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

9. Won, S., Chung, W.-J., Yoon, J. (2017). Clinical application of quantitative computed tomography in osteogenesis imperfecta-suspected cat. *Journal of Veterinary Science*, Vol. 18, no. 3, 415 p. DOI:10.4142/jvs.2017.18.3.415

10. Wang, J.W., Li, W., Xu, S.W. (2005). Osteoporosis influences the middle and late periods of fracture healing in a rat osteoporotic model. *Chin. J. Traumatol.*, 8, pp. 111–116.

11. Lelovas, P.P., Xanthos, T.T., Thoma, S.E., Lyritis, G.P., Dontas, I.A. (2008). The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research. *Comp Med*. 58 (5), pp. 424–430.

12. Lopez, M., Schachner, E. (2015). Diagnosis, prevention, and management of canine hip dysplasia: a review. *Veterinary Medicine: Research and Reports*. 181 p. DOI:10.2147/vmrr.s53266

13. Kobayashi, R. (2015). Spontaneous and bilateral necrosis of the femoral head in a young experimental beagle dog. *Journal of Toxicologic Pathology*, Vol. 28, no. 2, pp. 121–124. DOI:10.1293/tox.2014-0060

14. Dittmer, K.E., Pemberton, S.A. (2021). Holistic Approach to Bone Tumors in Dogs and Cats: Radiographic and Histologic Correlation. *Veterinary Pathology*. Vol. 58, no. 5, pp. 841–857. DOI:10.1177/0300985821999832

15. Agnoli, C. (2023). A retrospective study on bone metastasis in dogs with advanced-stage solid cancer. *Journal of Small Animal Practice*. DOI:10.1111/jsap.13621

16. Burton, A.G. (2015). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. Vol. 247, no. 7, pp. 778–785. DOI:10.2460/javma.247.7.778

17. Rubin, J.A. (2015). Factors associated with pathological fractures in dogs with appendicular primary bone neoplasia: 84 cases (2007–2013). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Vol. 247, no. 8, pp. 917–923. DOI:10.2460/javma.247.8.917

18. Fan, T.M. (2008). The Bone Biologic Effects of Zoledronate in Healthy Dogs and Dogs with Malignant Osteolysis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, Vol. 22, no. 2, pp. 380–387. DOI:10.1111/j.1939-1676.2008.0046.x

19. Szabó, Z., Szabó, G. (1978). The effect of haemorrhage and bone fracture on bone marrow circulation. *Research in Experimental Medicine*. Vol. 172, no. 1, pp. 7–17. DOI:10.1007/bf01851061

20. Remedios, A. (1999). Bone and Bone Healing. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. Vol. 29, no. 5, pp. 1029–1044. DOI:10.1016/S0195-5616(99)50101-0

21. Zheng, J.-S., Ruan, H.-R., Hou, K.-W. (2020). Therapeutic effects of revascularisation on the healing of free bone grafts in dogs. *Journal of Veterinary Research*, Vol. 64, no. 1, pp. 175–180. DOI:10.2478/jvetres-2020-0023

22. Todosiuk, T.P., Rublenko, M.V., Vlasenko, V.M., Ulianchych, N.V. (2022). Rentgeno-makromorfologichna i biokhimichna otsinka konsolidatsii perelomiv dovhykh trubchastykh kistok v umovakh osteozamishchennia kaltsii-fosfatnoiu keramikoiu, lehovanoi hermaniiem, za osteoporozy v kroliv [X-ray macro-morphological and biochemical assessment of consolidation of fractures of long tubular bones under the conditions of osteoreplacement with calcium-phosphate ceramics doped with germanium for osteoporosis in rabbits]. *Naukovyi visnyk LNUVMB imeni S.Z. Gzhitskoho* [Scientific Bulletin of LNUVMB named after S.Z. Gzhitskyi]. Serii: Veterynarni nauky [Series: Veterinary Sciences]. Vol. 24, no. 106, pp. 149–157. DOI:10.32718/nlvvet10623. (In Ukrainian).

23. Oheim, R. (2016). Can we induce osteoporosis in animals comparable to the human situation? *Injury*. Vol. 47, pp. 3–9. DOI:10.1016/S0020-1383(16)30002-X

24. Giannoudis, P. (2007). Fracture healing in osteoporotic fractures: Is it really different? *Injury*. Vol. 38, no. 1, pp. 90–99. DOI:10.1016/j.injury.2007.02.014

25. Besalti, O. (2016). Imaging and surgical outcomes of spinal tumors in 18 dogs and one cat. *Journal of Veterinary Science*, Vol. 17, no. 2, 225 p. DOI:10.4142/jvs.2016.17.2.225

26. Rubin, J. A. (2015). Factors associated with pathological fractures in dogs with appendicular primary bone neoplasia: 84 cases (2007–2013). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Vol. 247, no. 8, pp. 917–923. DOI:10.2460/javma.247.8.917

27. Johnson, K.A. (2019). Risks and Outcomes of Equine Flat Bone Fractures. *Veterinary and Compar-*

tive Orthopaedics and Traumatology. Vol. 32, no. 4:v. DOI:10.1055/s-0039-1693467

28. Samol, M.A. (2020). Characteristics of complete tibial fractures in California racehorses. *Equine Veterinary Journal*. DOI:10.1111/evj.13375

29. Hobbenaghi, R. (2014). Histopathological features of bone regeneration in a canine segmental ulnar defect model. *Diagnostic Pathology*. Vol. 9, no. 1. DOI:10.1186/1746-1596-9-59

30. Cheng, L.J., Yu, T., Shi, Z. (2017). Osteoinduction Mechanism of Calcium Phosphate Biomaterials In Vivo: A Review. *Journal of biomaterials and tissue engineering*, Vol. 7, pp. 911–918.

31. Chim, H.J. (2009). Biomaterials in craniofacial surgery: experimental studies and clinical application. *Craniofac. Surg.* Vol. 20 (1), pp. 29–33.

32. Uvarova, I.V. (2014). Nanomaterialy medychnoho pryznachennia: monohrafiia / za red. akad. NAN Ukrainy V.V. Skorokhoda, In-t problem materialoznavstva im. I. M. Frantsevycha [Nanomaterials for medical use: monograph / edited by Acad. NAS of Ukraine V.V. Skorokhoda, Institute of Problems of Materials Science named after I. M. Frantsevicha]. Kyiv, Scientific opinion, 414 p. (In Ukrainian).

33. Moore, D.C., Chapman, M.W., Manske, D. (1987). The evaluation of a biphasic calcium phosphate ceramic for use in grafting long-bone diaphyseal defects. *Journal of Orthopaedic Research*, Vol. 5, no. 3, pp. 356–365. DOI:10.1002/jor.1100050307

34. Manjubala, I., Sastry, T.P., Kumar, R.V.S. (2005). Bone In-growth Induced by Biphasic Calcium Phosphate Ceramic in Femoral Defect of Dogs. *Journal of Biomaterials Applications*, Vol. 19, no. 4, pp. 341–360. DOI:10.1177/0885328205048633

35. Fujii, A., Kuboyama, N., Yamane, J., Nakao, S., Furukawa, Y. (1993) Effect of organic germanium compound (Ge-132) on experimental osteoporosis in rats. *General Pharmacology: The Vascular System*, 24 (6), pp. 1527–1532. DOI:10.1007/s10653-017-0061-0

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

37. Ismail, D.A., Noaman, E. (2007). Synthesis and Antitumour Activity of Four Germanium Amino Acid Complexes. *Egyptian Journal of Chemistry*, Vol. 50, pp. 29–37.

### Histomorphological assessment of the germanium-doped calcium phosphate ceramics on reparative osteogenesis in rabbits with systemic osteoporosis

Todosiuk T., Rublenko A.

Bone fractures are mostly urgent in nature, complex in pathogenetic, diagnostic and therapeutic aspects, and reparative osteogenesis is multimodal and depends on the balanced and reciprocal interaction of many factors. The results of histological studies for osteoreplacement of bone defects in rabbits with systemic osteoporosis are presented.

The purpose of the work is histomorphological evaluation of bone regenerates after osteoreplacement with germanium-doped hydroxyapatite ceramics in rabbits with secondary osteoporosis.

Experimental osteoporosis in rabbits (n=18) was induced by administration of 0.4% dexamethasone solution. In animals of the experimental group, bone defects were replaced with granules of hydroxyapatite ceramics doped with germanium, and in animals of the control group, they healed under a blood clot. Histological sections were made on a rotary microtome with a thickness of 5 to 10 µm and stained with Weigert's iron hematoxylin and 1% alcohol-based eosin solution (manufactured by Diapath, Italy).

On the 60th day of reparative osteogenesis in the animals of the experimental group, the site of the bone defect was filled with compact bone tissue with minor remnants of spongy bone tissue. Slightly expanded Haversian canals were noted. In the control group, the defect site was filled with coarse and spongy bone tissue. Bone beams of various thicknesses with a small number of osteoblasts and single walled osteocytes were visualized. A significant number of osteocyte lacunae were empty due to the process of osteocyte lysis. Haversian canals are significantly dilated with a small number of vessels. Also, lacunae of bone tissue resorption and acellular areas were observed on histological specimens.

Histomorphological assessment of bone regenerates confirms the realization of osteoconductive, osteointegrative and osteoinductive properties of calcium-phosphate ceramics doped with germanium in conditions of osteoporotic fractures of tubular bones.

**Key words:** systemic osteoporosis, bone fractures, cancellous and compact bone tissue, histological sections, histomorphological changes, rabbits.



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

ORCID iD:

Тодосюк Т.П.

Рубленко А.М.

<https://orcid.org/0000-0002-9856-9793>

<https://orcid.org/0000-0001-9091-5949>

