

## Хірургія

УДК 619:616-0015:611-018.4:617.3:636.92

**РУБЛЕНКО М.В., ЧЕМЕРОВСЬКИЙ В.О.,  
ВЛАСЕНКО В.М.**

rublenko@meta.ua

*Білоцерківський національний аграрний університет*

**УЛЬЯНЧИЧ Н.В.**

*Інститут матеріалознавства ім. І.Н. Францевича*

### **ОЦІНКА ОСТЕОІНТЕГРАЦІЙНИХ І ОСТЕОІНДУКТИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КЕРАМІКИ, ЛЕГОВАНОЇ КРЕМНІЄМ, ЗА МОДЕЛЬНИХ ПЕРЕЛОМІВ СТЕГНОВОЇ КІСТКИ У КРОЛІВ**

Проведене дослідження, в якому на модельних переломах стегнової кістки у кролів вивчені остеointegraційні та остеoіндуктивні властивості гідроксиапатитної кераміки з  $\beta$ -трикальційфосфатом, легованої кремнієм. Воно включало клініко-рентгенологічні, макроморфологічні і гістоморфологічні дослідження на 21-у і 42-у добу репаративного остеогенезу. Рентгенологічно у дослідних тварин ознаки запальної реакції були відсутні, на відміну від контрольних, в яких відмічали ущільнення періосту по всій поверхні стегнової кістки. Клініко-рентгенологічну характеристику суттєво доповнила макроморфологічна картина, на якій чітко видно заповнення кісткового модельного дефекту у випадку застосування ГТлКг-2 фіброзно-хрящовим регенератом, який був обмежений з помірно вираженою періостальною реакцією, але у випадку загоєння під кров'яним згустком, дефекти виявились неповністю заміщеними фіброзною тканиною, про що свідчив його кратероподібний вигляд. Гістологічно у контрольних тварин кістковий дефект по периферії формувала хрящова тканина, а кісткові балки, які знаходились на деякій відстані від місця сформованого дефекту були на стадії резорбції. У випадку ж його заміщення гранулами ГТлКг-2 сформувався кістково-керамічний регенерат, тобто проміжки між гранулами заповнились кістковою тканиною. Отримані результати дають підставу вважати що ГТлКг-2 сприяє формуванню кісткової тканини за рахунок своїх остеointegraційних і остеoіндуктивних властивостей.

**Ключові слова:** репаративний остеогенез, остеointegraція, остеоцити, остеобласти, гідроксиапатитний композит з  $\beta$ -трикальційфосфатом, легований кремнієм.

**doi:** 10.33245/2310-4902-2018-144-2-44-53

**Постановка проблеми.** Регенерація кісткової тканини є одним із найскладніших і унікальних типів відновлення тканин, хоча і досить тривала у часі, порівняно, наприклад, із м'якими тканинами, однак забезпечує повну ідентичність пошкодженої ділянки із нормальною кісткою. У дрібних домашніх тварин частка переломів кісток у структурі хірургічної патології складає 6–15 % [1, 2]. При цьому основну питому вагу займають переломи кісток вільних кінцівок – 65–85 % від загальної кількості травм апарату руху [3]. За даними вітчизняних дослідників [4, 5], останні мають типову анатомо-топографічну локалізацію: фрактури стегнової кістки – 32–35 %, дещо рідше кісток передпліччя – 23–26 % та гомілки – 25–27 %. Водночас серед них найбільш складними вважаються [6] осколкові переломи, питома вага яких може коливатися в достатньо широких межах – 25–60 %. У цих випадках, унаслідок втрати зв'язку з м'якими тканинами, осколки втрачають кровозабезпечення і здатність до регенерації, що призводить до різних за розмірами кісткових дефектів. Тобто за таких умов обмежується реалізація основних механізмів консолідації переломів – ендостальної та інтрамембранної осифікації. При цьому відсутність кісткового матриксу унеможливорює міграцію мезенхімальних стовбурових клітин у ділянку перелому та їх диференціювання в хондробласти чи остеобласти. В зв'язку з цим стратегічним лікувальним заходом є заміщення кісткового дефекту біологічним чи синтетичним матеріалом, який створює площадку для процесів репаративного остеогенезу.

На сьогодні запропоновано низку таких матеріалів, у тому числі на основі гідроксиапатиту, колагену,  $\beta$ -трикальційфосфату, природних і синтетичних полімерів [7]. Вважається [8–11], що

остеопластичний матеріал має володіти наступними властивостями: біосумісністю; здатністю до резорбції та поступового заміщення кістковою тканиною, до швидкої інтеграції з нею, до остеокондуктивності та остеоіндуктивності; відносною простотою введення в місце дефекту та можливістю моделювання під час оперативного втручання [12].

Їх класифікують за походженням на біогенні (ауто-, ало- і ксенотрансплантанти) та синтетичні, а за здатністю впливати на остеогенез [13,14]: остеоіндуктивні (індукція диференціації клітин в остеогенні); остеокондуктивні (створення умов для адгезії та зв'язування остеогенних клітин, виконують роль матриці, забезпечують неоваскуляризацію); остеоінтеграційні (забезпечують прямий структурно-функціональний зв'язок між кісткою і трансплантантом); остеонейтральні (для заповнення афункціональних просторів, інертні та нерезорбтивні).

Водночас фізико-хімічні та структурно-функціональні алгоритми їх використання у ветеринарній ортопедії недостатньо опрацьовані.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Незважаючи на загальнобіологічні закономірності, репаративний остеогенез має певні видоспецифічні особливості. На жаль, у ветеринарній медицині здебільшого на сьогодні використовують остеотропні матеріали, розроблені для гуманної медицини. Здебільшого це композитні матеріали на основі колагену, неколагенових білків, колагенових мембран, пористого колагену, колагенового гелю («Коллост», «Zyplast», «Zyderm», «Resoplast», «Fibrel»), демінералізованого кісткового матриксу («ААА-кость», «Grafton» (з гліцеролом), «Osteofil» (з колагеном), а також препарати на основі пористого гідроксиапатиту («Algipore», «PNA Interpore 200», «Bio-Oss», «cerabone®», «Orthoss®», «OsteoGraf/N»), кераміки на основі силіконового карбїду [15–16].

Проте найбільшого поширення набули комбіновані біосумісні матеріали в різних комбінаціях β-трикальційфосфату та гідроксиапатиту («Maxresorb®», «Perossal®», «calc-i-oss®CRYSTAL», «easy-graft®CRYSTAL») [17, 18], або ж комбіновані композити на основі біоактивних і біогенних матеріалів: гідроксиапатит + колаген («Biostite», «Collagraft», «Avitene», «Коллаост», «Гапкол», «КоллапАн», МП «Композит»); гідроксиапатит + трикальційфосфат + колаген («Гидроксиапол», «Коллапол»); гідроксиапатит + колаген + сульфатовані глікозаміноглікани («Биоматрикс», «Остеоматрикс», «Биоимплант») [19, 20].

Останнім часом розробляється [21] окрема група біосумісних композитів на основі комбінації гідроксиапатита з β-трикальційфосфатом, леговані іонами магнію, натрію, калію, цинку, міді, алюмінію, стронцію, кремнію, германію з метою надання їм специфічних властивостей – антибактеріальних, остеоіндуктивних, протипухлинних, імуномодельюючих тощо. Проте спектр біологічного впливу зазначених іонів на кістковий метаболізм надзвичайно різноманітний, а тому використання композитної кераміки, легової іонами мікроелементів, потребує всебічного клініко-експериментального обґрунтування.

**Мета дослідження** – гістоморфологічна оцінка остеоінтеграційних та остеоіндуктивних властивостей кераміки на основі гідроксиапатиту і β-трикальційфосфату, легової кремнієм за модельних переломів стегнової кістки у кролів.

**Матеріал та методи дослідження.** Робота виконана на кролях каліфорнійської породи віком 3 міс. та масою тіла близько 2,5 кг. Тварин утримували в умовах віварію Білоцерківського національного аграрного університету в індивідуальних клітках, розміщених у кімнатах з примусовою вентиляцією та комбінованим освітленням і щоденним прибиранням. Годівлю забезпечували спеціалізованим комбікормом для кролів із розрахунку 200 г на одну голову за добу. Тварини мали необмежений доступ до води.

Експериментальні дослідження проводили відповідно до закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 28.03.2006 р. та правил Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях від 13.11.1987 р.

Синтез кераміки, легової кремнієм, проводили шляхом введення 1,0 мас.% наночастинок кремнезему в структуру нестехіометричного гідроксиапатиту в процесі його осадження з водних солей кальцію та фосфату. Після витримки осаду, термічної та механічної обробки були отримані двофазні гранули з гідроксиапатиту та 30 % β-трикальційфосфату. Фазовий склад визначений за допомогою рентгеноструктурного аналізу, інші фази на дифрактограмах не спостерігались, але зміна параметрів решітки підтверджує часткове заміщення групи PO<sub>4</sub> на кремне-

зем. Крім того, вагове визначення кремнезему в готових гранулах композиту підтвердило його наявність у кількості 1,0 мас.%. Розмір гранул для імплантації становив 2 мм.

Для обґрунтування остеointegraційних властивостей кераміки на основі  $\beta$ -трикальцій-фосфату і гідроксиапатиту, легованого кремнієм (ГТлКг-2) було сформовано 2 групи кролів по 10 голів у кожній, у яких формували модельні кісткові дефекти в дистальних ділянках діафіза стегнової кістки.

За оперативного втручання анестезіологічне забезпечення включало внутрішньом'язове введення 2 % розчину ацепромазину (0,5-1,0 мг/кг), і внутрішньовенне тіопенату (5-8 мг/кг) та місцеву інфільтраційну анестезію 0,5 % розчином лідокаїну (3-4 мг/кг). З дотриманням правил асептики і антисептики оперативний доступ здійснювали з латеральної поверхні дистальної ділянки діафіза стегнової кістки. Після розтину окістя формували кістковий дефект свердлом ( $d=3$  мм). Тваринам дослідної групи дефекти заповнювали гранулами кераміки. У кролів контрольної групи дефект залишали загоюватися під кров'яним згустком. Рани зашивали вузловими швами з синтетичного шовного матеріалу нуролон. У кролів щоденно проводили загальне клінічне дослідження з візуальною оцінкою ранового процесу. Оскільки операційні рани загоювались за первинним натягом, то шви знімали на 8-у добу в кролів обох груп.

Тварин виводили з експерименту на 21-у та 42-у добу шляхом внутрішньовенного введення тіопенату в дозі 50 мг/кг (тіопентал натрію, ООО Бровафарма, Україна). При цьому проводили рентгенологічні та гістоморфологічні дослідження. Кісткові біоптати фіксували в нейтральному формаліні, декальцинували 8 % розчином мурашиної кислоти, після чого їх зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації, просвітлювали в ксилолі та заливали в парафін «Plasti Wax, фірми KALTEK, Італія». Потім на ротаційному мікротомі робили парафінові гістологічні зрізи біоптатів товщиною 5-10 мкм, які фарбували гематоксиліном Вейгерта та 1 % спиртовим розчином еозину. Гістоморфологічний аналіз зрізів проводили під мікроскопом фірми ZEISS (Німеччина) з цифровим фотоапаратом Canon G5 та з використанням комп'ютерної програми ZoomBrowser.

**Основні результати дослідження. 1. Клінічні дослідження.** Після сформованих кісткових дефектів у кролів рухова активність починалась через 30-40 хв, а за 5-6 годин тварини приймали природне положення тіла у просторі, мали апетит та пили воду. На 1-у добу після операції у тварин усіх груп у ділянці травми спостерігали запальну реакцію, що проявлялась набряком та підвищенням місцевої температури. Порушень функції травмованої кінцівки не відмічали. На 2-у добу підвищення температури в ділянці травми не відмічали, через краї рани дещо просочувався серозний ексудат, який зникав до 3-4 доби після оперативного втручання. На 7-у добу післяопераційного періоду набряк та болючість були відсутні, краї ран утримувалися сполучнотканинною спайкою. Також відмічали процеси їх епітелізації, що було підставою для зняття швів.

Водночас на 14-у добу в ділянці кісткової травми пальпацією виявляли незначне ущільнення тканин, яке було досить вираженим у кролів контрольної групи. У тварин дослідної групи воно зникало до 21-ої доби репаративного остеогенезу, тоді як у контрольній групі кролів спостерігали до кінця терміну спостережень.

**2. Рентгенологічні дослідження.** На 21-у добу репаративного остеогенезу кролі всіх груп повноцінно опиралися на травмовану кінцівку, ознаки запальної реакції були відсутні у дослідній групі, а у контрольній відмічали виражене ущільнення періосту по всій поверхні стегнової кістки.

В цей період рентгенологічно кістки були цілісними без виражених ознак гіпер- чи дисрегенеративної (рис. 1). Водночас на рентгенограмах контрольних тварин спостерігали чітко виражену періостальну реакцію, яка охоплювала весь діафіз та зону метафізарної пластинки, остання була дещо розширена з вираженим ущільненням. Водночас вся площа дистальної ділянки діафіза мала плямистий вигляд, що відображало стан остеопорозу, тобто запальної резорбції кісткової тканини. Натомість на рентгенограмах дослідних кролів ці зміни були обмежені зоною кісткової травми без візуалізації її каналу, що спостерігалось на контрольних рентгенограмах. При цьому слід відмітити, що гідроксиапатитна кераміка не володіє рентгеноконтрастними властивостями.



ГТлКг-2



Контроль

Рис. 1. Рентгенограми стегнових кісток кролів на 21-у добу.

На 42-у добу репаративного остеогенезу кролі обох груп повноцінно опиралися на травмовану кінцівку, ознаки запальної реакції м'яких тканин у ділянці травми були відсутні. Рентгенологічно (рис. 2) в тварин дослідної групи в місці кісткового дефекту виявляли точковий остеосклероз у вигляді чітко окресленої білої плями, навпроти якої був ущільнений контур періосту. Це свідчило про заміщення кісткового дефекту остеоїдною тканиною. Водночас на контрольних рентгенограмах поряд із чітко окресленим, але більш подовженим ущільненням періосту, виявили кістково-мозковий панус в місці травми, з чітко окресленим продовгуватим затемненням, що швидше за все, є свідченням неоформленої грубоволокнистої кісткової тканини.



ГТлКг-2



Контроль

Рис. 2. Рентгенограми стегнових кісток кролів за сформованих модельних переломів на 42-у добу репаративного остеогенезу, місце дефекту відзначене стрілкою.

**3. Макроморфологічна оцінка кісткових біоптатів.** Клініко-рентгенологічну характеристику репаративного остеогенезу за використання гідроксиапатитного матеріалу, легovanого кремнієм, суттєво доповнює макроморфологічна картина кісткових біоптатів (рис. 3). Зокрема, у випадку заміщення кісткового дефекту ГТлКг-2, на 21-у добу у місцях травми відмічали обмежену і помірно виражену періостальну реакцію. Кістковий дефект був заповнений фіброзно-хрящовим регенератом, у товщі якого виявляли ледь помітні залишки гранул біокераміки. Поряд з цим ділянка кісткового дефекту, що загоювалася під кров'яним згустком, у цей період не повністю виявилася заміщеною фіброзно-хрящовою тканиною, про що свідчить його кратеро-

подібний вигляд, а масивні з поширенням за межі ушкодженої ділянки кістки розростання періосту – про досить інтенсивну запальну реакцію.

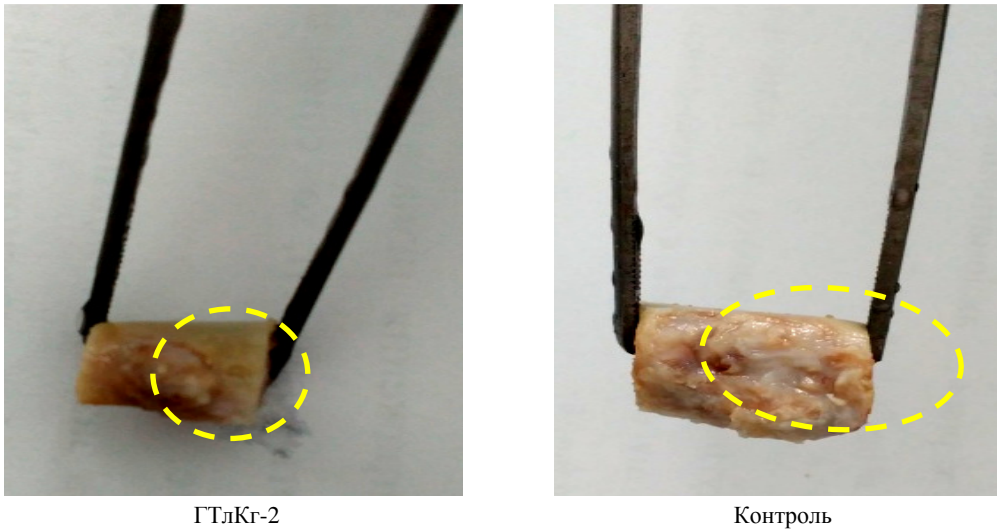


Рис. 3. Макроморфологічна характеристика кісткових фрагментів за використання композитних матеріалів на 21-у добу репаративного остеогенезу.

На 42-у добу на макропрепаратах контрольної групи спостерігали досить масивні розростання періосту та кратероподібний кістковий дефект з ознаками резорбції кісткової тканини в межах його стінок.

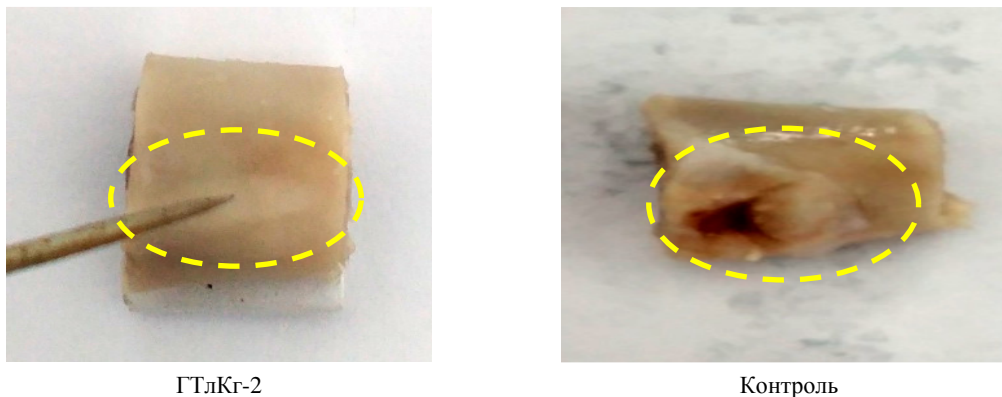


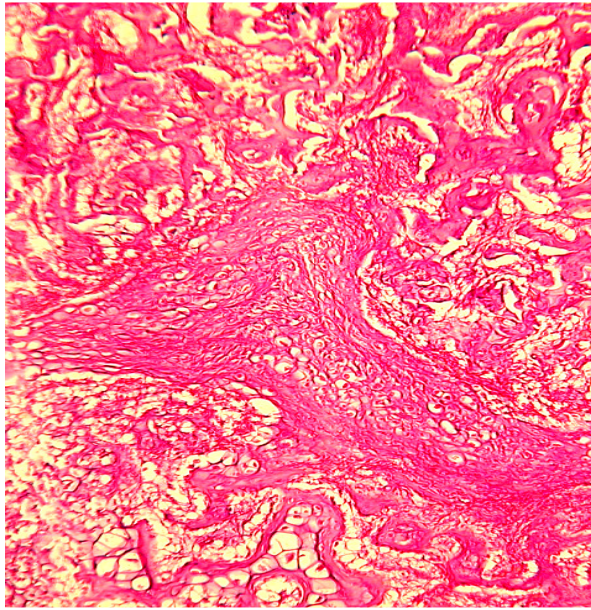
Рис. 4. Макроморфологічна характеристика фрагментів стегнових кісток кролів за використання композитних матеріалів на 42-у добу репаративного остеогенезу.

Натомість за використання GTlKg-2 кістковий дефект був заповнений до рівня площини поверхні кістки та вкритий періостом без видимих його розростань.

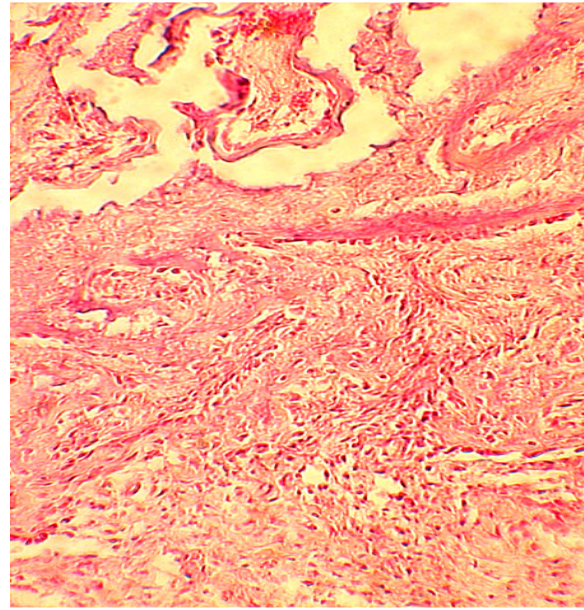
4. *Гістоморфологічна оцінка.* В тварин контрольної групи (рис. 5-б) на 21-у добу репаративного остеогенезу в ділянці модельного кісткового дефекту відмічали наявність капілярів і судинних каналів, а він сам був заповнений волокнистою хрящовою тканиною. У випадку ж його заповнення гранулами GTlKg-2 (рис. 5-а) центральна частина дефекту була заповнена гіаліновою хрящовою тканиною. По його периферії вона осифікується, а хрящові клітини разом з їх ядрами руйнуються. На місці хондроцитів починає утворюватись ретикулофіброзна кісткова тканина. Із сторони зони осифікації формуються пучки капілярів та судинних каналів, по яких мігрують різнодиференційовані мезенхімальні клітини гемопоетичного і остеогенного ряду.

На 42-у добу репаративного остеогенезу в тварин контрольної групи (рис. 6-б) кістковий дефект не повністю заповнений, а периферія дефекта сформована хрящовою тканиною. В кісткових балках губчастої кісткової тканини, які знаходяться на деякій відстані від місця сформованого перелому відмічаються досить великі осередки резорбції кісткової тканини. Репаратив-

ний остеогенез проходить шляхом епіформоза, тобто нарощування остеїдної тканини від краю пошкодження до центру дефекта. У випадку ж його заміщення композитом ГТЛКг-2 (рис. 6-а), утворюється кістково-керамічний регенерат, тобто проміжки між його гранулами заповнюються пластинчастою кістковою тканиною. При цьому в порах гранул знаходиться кісткова тканина з великою кількістю остеобластів, розташованих в один ряд, поряд з цим відмічаються поодинокі вкраплення грубоволокнистої кісткової тканини. Новоутворена кісткова тканина, швидше за все, формується шляхом остеоіндукції, оскільки кістковий регенерат виявляється між гранулами композиту та не залежить від контакту кісткою. Разом з тим його осередки з'являються в різних місцях дефекту.

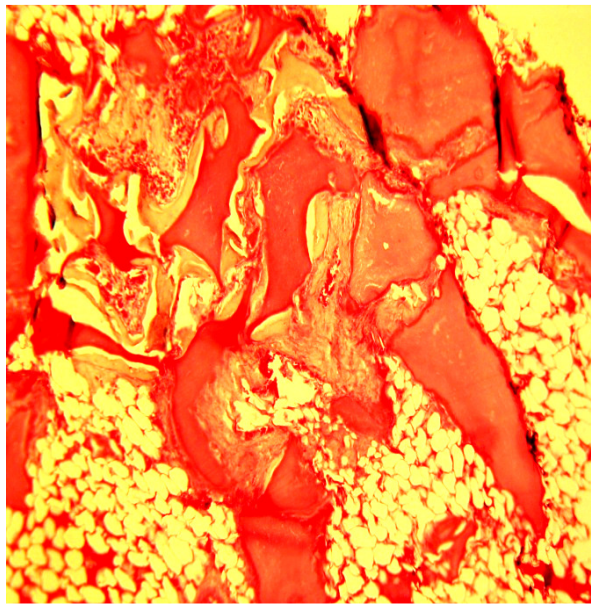


а

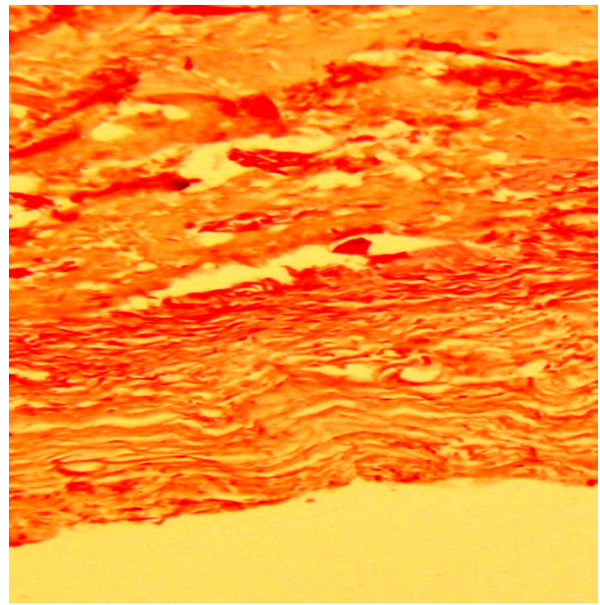


б

Рис. 5. Гістоструктура кісткового регенерату кроля на 21-у добу:  
а – дослідна, б – контрольна група. Забарв. гематоксиліном і еозин. зб. х 100.



а



б

Рис. 6. Гістоструктура кісткового регенерату кроля на 42-у добу:  
а – дослідна, б – контрольна група. Забарв. гематоксиліном і еозин., зб. х 100.

*Обговорення.* На відміну від інших біологічних тканин, регенерація кісткової відбувається за клітинним типом, що забезпечує повну ідентичність кісткового регенерата. За умов стійкої стабільності кісткових відламків і розміру щілини між ними не більше трьох міліметрів, відбувається первинна остеобластична реакція, що забезпечує формування невеликого за об'ємом кісткового регенерата без додаткової участі фіброзної та хрящової тканини. Проте у випадках великого діастазу та нестабільної фіксації відламків первинною стає реакція останніх тканин, а остеобластична, яка власне і забезпечує повну реституцію кісткових дефектів, – вторинною. Однак терміни та інтенсивність її розвитку залежать від багатьох факторів і, в першу чергу, від ступеня порушення кровозабезпечення. Саме переломи кісток навіть із невеликими дефектами є найбільш проблемними, консолідація яких ускладнена у зв'язку з пізньою остеобластичною реакцією. Використання різноманітних біокомпозитних матеріалів якраз і спрямоване не тільки на заповнення кісткового дефекту, а й на забезпечення цієї реакції матриксом. Попередньо нами [22] в серії експериментів і на клінічному матеріалі було доведено виражені остеокондуктивні та остеоінтеграційні властивості композитного матеріалу «Біоміну ГТ», синтезованого в Інституті проблем матеріалознавства НАН України, до складу якого входили гідроксиапатит і  $\beta$ -трикальційфосфат ( $\leq 50\%$ ). Його використання за модельних та осколкових переломів у кролів і собак сприяло формуванню ретикуло-фіброзного регенерату в період 21–35-ої доби репаративного остеогенезу з поступовим утворенням кістково-керамічного композиту, що супроводжувалося помірною судинною реакцією.

Остеоінтеграційні характеристики керамічних композитів можна удосконалювати шляхом зміни їх фазового складу, величини пор, морфології частинок і питомої поверхні, регульованої резорбції, а також надання їм остеоіндуктивних властивостей. Зокрема, останнє досягається за рахунок введення до складу композиту іонів мікроелементів. Так, силіційум (Si, кремній) відіграє суттєву роль у кістковому метаболізмі [23] завдяки здатності індукувати ангиогенез, васкуляризацію, диференціювання остеобластів і продукування ними колагену I типу. Як засвідчило представлене дослідження, гідроксиапатитний з  $\beta$ -трикальційфосфатом композит, легований силіційумом, сприяє більш ранній, вже з 21-ої доби, ендотеліальній реакції та міграції мезенхімальних клітин, що забезпечують інтенсивну остеобластичну реакцію. Це свідчить про остеоіндуктивні властивості нового остеокompозитного матеріалу керамічного типу.

**Висновки.** 1. За клініко-рентгенологічними та гістоморфологічними ознаками композитний матеріал Біомін ГТЛКг-2, поряд з вираженими остеоінтеграційними, володіє остеоіндуктивними властивостями, що підтверджують ранні судинна і остеобластична реакції.

2. Композитний матеріал Біомін ГТЛКг-2 може бути перспективним для корекції ускладненого перебігу репаративного остеогенезу в тварин, що потребує подальших досліджень.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Рубленко С.В., Єрошенко О.В. Моніторинг ветеринарної допомоги і структура хірургічної патології серед дрібних домашніх тварин в умовах міської клініки. Вісник Сумського НАУ. Суми. 2012. Вип. 1 (30). С. 150–154.
2. Семеняк С.А., Рубленко С.В., Данилейко Ю.М. Структура переломів кісток у собак в умовах мегаполісу. Вісник Білоцерків. нац. аграр. ун-ту. Біла Церква. 2014. Вип. 13 (108). С. 218–223.
3. Пустовіт Р.В., Данилейко Ю.М., Рубленко М.В. Моніторинг хірургічної патології серед дрібних домашніх тварин ДЛВМ у Київському районі м. Одеси за 2003–2005 роки. Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. Біла Церква. 2006. Вип. 36. С. 132–137.
4. Телятніков А.В. Поширення переломів кісток у собак. Науковий вісник ветеринарної медицини: зб. наук. праць. Біла Церква. 2013. Вип. 11 (101). С. 149–153.
5. Пустовіт Р.В. Характеристика переломів трубчастих кісток у дрібних домашніх тварин. Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. Біла Церква. 2007. Вип. 44. С. 124–127.
6. Appendicular fracture repair in dogs using the locking compression plate system: 47 cases / P.J. Haaland et al. Vet. Comp. Orthop Traumatol. 2009. Vol. 4. P. 309–315.
7. Nandi S.K., Ghosh S.K., Kundu B., De DK. Evaluation of new porous  $\beta$ -tri-calcium phosphate ceramic as bone substitute in goat model. Small Ruminant Res. 2008. Vol. 75. P. 144–153.
8. Oryan A., Alidadi S., Bigham-Sadegh A., Meimandi-Parizi A. Chitosan/gelatin/platelet gel enriched by a combination of hydroxyapatite and beta-tricalcium phosphate in healing of a radial bone defect model in rat. Int J Biol Macromol. 2017. Vol. 101. P. 630–637.
9. Podaropoulos L. Bone regeneration using b-tricalcium phosphate in a calcium sulfate matrix. Implantol. 2009. Vol. 35. P. 28–36.

10. 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.
11. Keating J. Substitutes for autologous bone graft in orthopaedic trauma. *J Bone Joint Surg Br.* 2001, Vol. 83-B. P. 3–8.
12. Fukui N., Sato T., Kuboki Y., Aoki H. Bone tissue reaction of nanohydroxyapatite collagen composite at the early stage of implantation. *Biomed Eng Mater.* 2008. Vol. 18 (1). P. 25–33.
13. Chim H. Biomaterials in craniofacial surgery: experimental studies and clinical application. *Craniofac. Surg.* 2009. Vol. 20 (1). P. 29–33.
14. 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.
15. Porous silicon matrix for applications in biology / Angelescu A. et al. *Rev. Adv. Sci.* 2003. Vol. 5. P. 440–449.
16. Effects of platelet-rich plasma and carbonated hydroxyapatite combination on cranial defect Bone Regeneration: An animal study / Maximillian C. O. et al. *Wound Medicine.* 2018. Vol. 21. P. 12–15.
17. In vivo response of porous hydroxyapatite and  $\beta$ -tricalcium phosphate prepared by aqueous solution combustion method and comparison with bioglass scaffolds / S.K. Ghosh, S.K. et al. *J. Biomed Mater Res B. Appl Bio-mater.* 2008. Vol. 86. P. 217–227.
18. Lee D.S., Pai Y., Chang S., Kim D. Microstructure, physical properties, and bone regeneration effect of the nano sized  $\beta$ -tricalcium phosphate granules. *Mater. Sci. Eng.* 2016. Vol. 58. P. 971–976.
19. Dorozhkin S. V. Calcium orthophosphate-containing biocomposites and hybrid biomaterials for biomedical applications. *Journal of Functional Biomaterials.* 2015. Vol. 6. P. 708–832.
20. Regulation of immune response by bioactive ions released from silicate bioceramics for bone regeneration. Huang Y. et al. *Acta Biomaterialia.* 2017. Vol. 3. P. 48–57.
21. Наноматеріали медичного призначення / Уварова І.В. та ін. за ред. В.В. Скорохода. К.: Наук. думка, 2014. 416 с.
22. Використання композитних матеріалів за переломів трубчастих кісток у тварин / М.В. Рубленко та ін. Біла Церква, 2015. 86 с.
23. The roles of ions on bone regeneration / E. O'Neill et al. *Drug discovery today.* 2018. Vol. 23 (4). P. 879–890.

#### REFERENCES

1. Rublenko, S.V., Croshenko, O.V., (2012). Monitoring veterinaranoi dopomogi i struktura hirurgichnoyi patologiyi sered dribnih domashnih tvarin v umovah mis'koyi kliniki [Monitoring of veterinary care and the structure of surgical pathology among small domestic animals in the conditions of a city clinic]. *Visnik Sums'kogo NA [Visnyk of Sumy NAU].* Sumy, Issue 1 (30), pp. 150-154.
2. Semenjak, S.A., Rublenko, S.V., Danilejko, Ju.M. (2014). Struktura perelomiv kistok u sobak v umovah megapolisu [Structure of fractures of bones in dogs in conditions of megacity]. *Visnik Bilocerktiv. nac. agrar. un-tu [ Bulletin Herald. nats agrar un-th].* Bila Tserkva, Issue 13 (108), pp. 218-223.
3. Pustovit, R.V., Danilejko, Ju.M., Rublenko, M.V. (2006). Monitoring hirurgichnoyi patologiyi sered dribnih domashnih tvarin DLVM u Kiyivs'komu rajoni m. Odesi za 2003–2005 roki [Monitoring of surgical pathology among small domestic animals of the DLVM in the Kyiv region of Odessa in 2003-2005]. *Visnik Bilocerktiv. derzh. agrar. un-tu. [Bulletin Herald. state agrar un-th].* Bila Tserkva, Issue 36, pp. 132–137.
4. Teljatnikov, A.V., (2013). Poshirennja perelomiv kistok u sobak [Distribution of bone fractures in dogs]. *Naukovij visnik veterinaranoi medicini: Zb. nauk. prac'. [Scientific Herald of Veterinary Medicine: Sb. sciences works].* Bila Tserkva, Issue 11 (101), pp. 149–153.
5. Pustovit, R.V., (2007). Charakteristika perelomiv trubchastih kistok u dribnih domashnih tvarin [Characteristics of fractures of tubular bones in small pet animals]. *Visnik Bilocerktiv. derzh. agrar. un-tu. [Bulletin Herald. state agrar un-th].* Bila Tserkva, Issue 44, pp. 124–127.
6. Haaland, P.J., Sjöström, L., Devor, M. Appendicular fracture repair in dogs using the locking compression plate system: 47 cases. *Vet. Comp. Orthop Traumatol.* 2009, Vol. 4, pp. 309–315.
7. Nandi, S.K., Ghosh, S.K., Kundu, B., De, D.K. Evaluation of new porous  $\beta$ -tri-calcium phosphate ceramic as bone substitute in goat model. *Small Ruminant Res.* 2008, Vol. 75, pp. 144–153.
8. Oryan, A., Alidadi, S., Bigham-Sadegh, A., Meimandi-Parizi, A. Chitosan/gelatin/platelet gel enriched by a combination of hydroxyapatite and beta-tricalcium phosphate in healing of a radial bone defect model in rat. *Int J Biol Macromol.* 2017, Vol. 101, pp. 630–637.
9. Podaropoulos, L., Veis, A.A., Papadimitriou, S., Alex andridis C. Oral. Bone regeneration using  $\beta$ -tricalcium phosphate in a calcium sulfate matrix. *Implantol.* 2009, Vol. 35, pp. 28–36.
10. 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), pp. 29–36.
11. Keating, J. Substitutes for autologous bone graft in orthopaedic trauma. *J Bone Joint Surg Br.* 2001, Vol. 83-B, pp. 3–8.
12. Fukui, N., Sato, T., Kuboki, Y., Aoki, H. Bone tissue reaction of nanohydroxyapatite collagen composite at the early stage of implantation. *Biomed Eng Mater.* 2008, Vol. 18 (1), pp. 25–33.
13. Chim, H. Biomaterials in craniofacial surgery: experimental studies and clinical application. *Craniofac. Surg.* 2009, Vol. 20 (1), pp. 29–33.
14. 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, pp. 911–918.
15. Angelescu, A., Kleps, I., Mihaela, M. Rev. Porous silicon matrix for applications in biology. *Adv. Sci.* 2003, Vol. 5, pp. 440–449.



16. Maximillian, C.O., Andi, A.I., Mochammad, H. Effects of platelet-rich plasma and carbonated hydroxyapatite combination on cranial defect Bone Regeneration: An animal study. *Wound Medicine*. 2018, Vol. 21, pp. 12–15.
17. Ghosh, S.K., Nandi, S.K., Kundu, B. In vivo response of porous hydroxyapatite and  $\beta$ -tricalcium phosphate prepared by aqueous solution combustion method and comparison with bioglass scaffolds. *J. Biomed Mater Res B. Appl Bio-mater*. 2008, Vol. 86, pp. 217–227.
18. Lee, D.S., Pai, Y., Chang, S., Kim, D. Microstructure, physical properties, and bone regeneration effect of the nano sized  $\beta$ -tricalcium phosphate granules. *Mater. Sci. Eng*. 2016, Vol. 58, pp. 971–976.
19. Dorozhkin, S. V. Calcium orthophosphate-containing biocomposites and hybrid biomaterials for biomedical applications. *Journal of Functional Biomaterials*. 2015, Vol. 6, pp. 708–832.
20. Huang, Y., Wu, C., Zhang, X., Chang, J. Regulation of immune response by bioactive ions released from silicate bioceramics for bone regeneration. *Acta Biomaterialia*. 2017, Vol. 3, pp. 48–57.
21. Uvarova, I.V., Gorbik, P.P., Gorobec, S.V. (2014). *Nanomateriali medicnogo priznachennja* [Nanomaterials for medical purposes]. Kyiv, Nauk. Dumka, 416 p.
22. Rublenko, M.V., Andrijev, V.G., Semenjak, S.A., Ul'janchich, N.V. (2015). *Vikoristannja kompozitnih materialiv za perelomiv trubchastih kistok u tvarin* [Use of composite materials for fractures of tubular bones in animals]. Bila Tserkva, 86 p.
23. O'Neill, E., Awale, G., Daneshmandi, L., Umerah, O. The roles of ions on bone regeneration. *Drug discovery today*. 2018, Vol. 23 (4), pp. 879–890.

**Оценка остеointеграционных и остеиндуктивных свойств керамики, легированной кремнием, при модельных переломах бедренной кости у кролей**

**Рубленко М.В., Чемеровский В.О., Власенко В.М., Ульянчик Н.В.**

Проведенное исследование, в котором на модельных переломах бедренной кости у кролей изучены остеointеграционные и остеиндуктивные свойства гидроксиапатитной керамики из  $\beta$ -трикальцийфосфатом, легированной кремнием. Оно включало клинико-рентгенологические, макроморфологические и гистоморфологические исследования на 21-е и 42-е сутки репаративного остеогенеза. Рентгенологически у опытных животных признаки воспалительной реакции отсутствовали, в отличие от контрольных, в которых отмечали уплотнение периоста по всей поверхности бедренной кости. Клинико-рентгенологическую характеристику существенно дополнила макроморфологическая картина, на которой четко видно заполнение костного модельного дефекта в случае применения ГТлКг-2 фиброзно-хрящевым регенератом, который был ограничен с умеренно выраженной периостальной реакцией, но в случае заживления под кровяным сгустком, дефекты оказались неполностью замещенными фиброзной тканью, о чем свидетельствовал его кратерообразный вид. Гистологически у контрольных животных костный дефект по периферии формировала хрящевая ткань, а костные балки, которые находились на некотором расстоянии от места сформированного дефекта были на стадии резорбции. В случае его замещения гранулами ГТлКг-2 сформировался костно-керамический регенерат, то есть промежутки между гранулами заполнились костной тканью. Полученные результаты дают основание считать что ГТлКг-2 способствует формированию костной ткани за счет своих остеointеграционных и остеиндуктивных свойств.

**Ключевые слова:** репаративный остеогенез, остеointеграция, остеоцит, остеобласт, гидроксиапатитный композит из  $\beta$ -трикальцийфосфатом, легированный кремнием.

**Evaluation of osteointegrative and osteoinductive properties of silicon doped ceramics in a model of rabbit's femur fractures**

**Rublenko M., Chemerovsky V., Vlasenko V., Ulyanchich N.**

Bone regeneration is one of the most complex and unique types of tissue regeneration, although quite long in time, comparatively, for example, with soft tissues, but provides the complete identity of the damaged site with normal bone. The most complex fractures are fragmentation, which can be occurs within wide range – 25-60% of the total number of all fractures. In such cases, due to the loss of contact with soft tissues, the fragments lose blood supply and regeneration, which leads to different bone size defect. This condition cause limitation of the main mechanisms of bone consolidation – endoosteal and intramembrane ossification. In this regard, a strategic medical treatment is the replacement of bone defect with biological or synthetic material, which creates a site for the processes of reparative osteogenesis.

The most widespread combined biocompatible materials in the various combinations of  $\beta$ -tricalcium phosphate and hydroxyapatite ("Maxresorb®", "Perossal®", "calc-i-oss@CRYSTAL", "easy-graft@CRYSTAL"), or composite composites based on bioactive and biogenic materials: hydroxylapatite + collagen (Biostite, Collagraft, Avitene, Collola, Napkol, Collapan, MP Composite); hydroxylapatite + tricalcium phosphate + collagen ("Hydroxyapol", "Collapolum"); hydroxylapatite + collagen + sulfated glycosaminoglycans ("Biomatrix", "Osteomatrix", "Bioimplant").

Unfortunately, in veterinary medicine osteotropic materials developed for humane medicine are used only. Recently, a separate group of biocompatible composites based on the combination of hydroxyapatite with  $\beta$ -tricalcium phosphate, doped with magnesium, sodium, potassium, zinc, copper, aluminum, strontium, silicon, germanium, in order to provide them with specific properties – antibacterial, osteoinductive, antitumor, immunomodulating, etc. However, the spectrum of biological effects of these ions on bone metabolism is extremely diverse, and therefore the use of composite ceramics doped with microelement ions requires a comprehensive clinical and experimental justification.

The purpose of the study is to evaluate the osteointegration and osteoinductive properties of ceramics based on hydroxyapatite and  $\beta$ -tricalcium phosphate doped with silicon for model fractures of the femur in rabbits.

The work is done on rabbits of Californian breed at the age of 3 months. and a weight of about 2.5 kg. To substantiate the ceramics GTlKg-2, 2 groups of 10 rabbits were formed in each, in which model bone defects were formed in the distal parts of the hip dysthymia. Animals of the experimental group defects filled with granules of ceramics. In the rabbits of the

control group, the defect was left to heal under a blood clot. Animals were extracted from the experiment at the 21st and 42nd day. X-ray and histomorphological studies were performed.

On the 21st day of reparative osteogenesis, rabbits of all groups fully rested on the injured limb, signs of inflammatory reaction were absent in the experimental group, and the control marked the pronounced seal of the periosteum across the entire surface of the femur. It should be noted that hydroxyapatite ceramics does not possess x-ray contrast properties.

On the 42nd day of regeneration of rabbits both groups fully rested on injured limb, signs of inflammatory reaction of soft tissues in the area of injury were absent. Radiologically, in animals of the experimental group in the place of bone defect, spot osteosclerosis was detected in the form of a clearly defined white heel, opposite to which the contour of the periosteum was sealed. At the same time, on the control X-rays, along with a well-defined, but more elongated septum of the periodontal, revealed a bone marrow panossus at the site of the injury, with a clearly defined extension of the eclipse. Substantially complemented macromorphological picture of bone biopsy. In particular, in the case of replacement of bone defect GTIKg-2, at the 21st day in the traumatic areas a limited and moderate periosteal reaction was noted. Along with this, in control animals, in this period, it was not completely replaced by fibrous cartilaginous tissue, as evidenced by its craterial appearance.

Histologically, in the control animals, the bone defect formed a cartilage tissue along the periphery, and the bone beams, which were at a certain distance from the place of the defect, were at the stage of resorption. In the case of its replacement granules GTIKg-2 formed bone-ceramic regenerate, that is, the intervals between the granules are filled with bone tissue. The obtained results give grounds to consider that GTIKg-2 contributes to the formation of bone tissue due to its osteointegration and osteoinductive properties.

**Key words:** reparative osteogenesis, osteointegration, osteocytes, osteoblasts, hydroxyapatite composite with  $\beta$ -tricalcium phosphate, doped with silicon.

*Надійшла 15.11.2018 р.*