

АНОТАЦІЯ

Чемеровський В.О. Клініко-експериментальне обґрунтування імплантації кальцій-фосфатної кераміки, легованої кремнієм, за осколкових переломів кісток у собак. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 211 – Ветеринарна медицина (21 – Ветеринарна медицина). Білоцерківський національний аграрний університет. Біла Церква, 2021.

Клініко-експериментально обґрунтовано вплив на репаративний остеогенез остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою з різними фізико-хімічними властивостями, в тому числі леговою кремнієм, що є новим у вирішенні проблеми оптимізації консолідації осколкових переломів довгих трубчастих кісток у тварин. Клініко-рентгенологічно, макро- і гістоморфологічно та на підставі гематологічних, біохімічних і молекулярно-біологічних критеріїв оцінювання репаративного остеогенезу доведено, що у кролів і собак імплантована у дефекти компактної чи губчастої кісткової тканини кальцій-фосфатна кераміка у складі гідроксиапатиту (72 %), β -трикальційфосфату (28 %) та кремнію (1,3 ваг.%) з адсорбційною активністю більше 220 мг/г проявляє високі остеокондуктивні, остеointegraційні та остеоіндуктивні властивості з помірною біодеградацією остеозаміщувального матеріалу, завдяки чому за осколкових переломів трубчастих кісток у собак скорочується термін їх консолідації в 1,5 рази ($p < 0,001$).

Заразом за клініко-рентгенологічного оцінювання осколкових переломів довгих трубчастих кісток у собак встановлено, що найбільший їх відсоток припадає на гомілку – 38,5 %, дещо менше на передпліччя – 26,9 %, стегнову – 19,2 % та найменше на плечову кістки – 15,4 %. Здебільшого вони локалізуються у ділянці діафіза – 46,2 %, дещо менше метафіза – 42,3 %, тим часом епіфіза – лише 11,5 %.

Вперше за принципами міжнародної класифікації AO/ASIF встановлено, що найбільша частка осколкових переломів довгих трубчастих кісток – у 50 % – належить до типу С, 46,2 % – до типу В і найменша – 3,8 % – до найпростішого типу А. В межах підгруп найбільшою – 19,2 % – виявилась частка для підгруп В₁, В₂ та С₂, дещо меншою – 15,4 % – для С₁ і С₃ і зовсім невеликою – 7,8 та 3,8 % – для В₃ та А₂ відповідно. Це є підґрунтям для більш раціонального вибору методів і засобів остеосинтезу з використанням остеозаміщувальних матеріалів для оптимізації репаративного остеогенезу.

Вперше у ветеринарній ортопедії проведено клініко-експериментальний моніторинг низки кальцій-фосфатної кераміки з різними фізико-хімічними характеристиками за ступенем їх остеокондуктивних, остеointegraційних і остеоіндуктивних властивостей для цілей остеозаміщення кісткових дефектів у тварин. Вивчали такі кальцій-фосфатні матеріали: двофазні гранули гідроксиапатиту (70 %) і α -трикальційфосфату (30 %) з адсорбційною активністю 118,7 мг/г (ГТ α -500); трифазні гранули гідроксиапатиту (55 %), α -трикальційфосфату (30 %) та β -трикальційфосфату (15 %) з адсорбційною активністю 220,5 мг/г (ГТ α + β -700); двофазні гранули гідроксиапатиту (70 %) та β -трикальційфосфату (30 %), леговані кремнієм (1,3 ваг.%) з адсорбційною активністю 117,9 мг/г (ГТлКг-2); відмиті двофазні гранули, гідроксиапатиту (72 %) і β -трикальційфосфату (28 %), леговані кремнієм (1,3 ваг.%) з адсорбційною активністю 229,1 мг/г (ГТлКг-700).

Рентгенологічно остеозаміщення кальцій-фосфатною керамікою характеризувалося, порівнюючи із загоєнням кісткових дефектів під кров'яним згустком, помірними періостальною та ендостальною реакціями лише у межах кісткової травми, динамічним наростанням явищ остеосклерозу як ознаки остеогенних процесів, інтенсивність якого була вищою за використання легованих кремнієм керамік з більш динамічною їх біодеградацією.

Водночас макроморфологічно кісткові регенерати компактної кісткової тканини на 21-у добу в контрольній групі були нещільні, кратероподібної форми з масивними розростаннями періосту, за використання $\text{ГТ}\alpha\text{-500}$ – кісткові дефекти повністю виповнені з великою кількістю гранул кераміки, міцно з'єднані з регенератом, за помірної періостальної реакції, за $\text{ГТ}\alpha+\beta\text{-700}$ – матеріал разом із новоутвореною кістковою тканиною формував моноліт і повністю інтегрувався з материнською кісткою, за ГТлКг-2 – кістковий мозоль дещо виокремлювався і знаходився чітко над сформованим кістковим дефектом, а за ГТлКг-700 – його гранули ледь проглядалися у моноліті кісткового регенерата, надзвичайно інтегрованого в материнську кісткову тканину без розростань періосту. Подібною була і макроморфологічна картина кісткових регенератів у губчастій кістковій тканині.

За гістоморфологічною бальною оцінкою встановлено, що репаративний остеогенез в компактній кістці у кролів за остеозаміщення $\text{ГТ}\alpha\text{-500}$ чи $\text{ГТ}\alpha+\beta\text{-700}$ прискорювався в 1,4 раза ($p<0,01$), ГТлКг-2 – в 1,5 ($p<0,001$), а ГТлКг-700 – в 1,6 ($p<0,001$), в губчастій – в 1,4–1,5 ($p<0,001$), в 1,8 та 2,0 ($p<0,001$), відповідно. Водночас гістоморфологічна оцінка ГТлКг-700 достовірно виявилася вищою в 1,1 раза, ніж у групах з використанням нелегованої кераміки.

Доведено, що кераміка, легована кремнієм, забезпечує ранню реакцію ендотеліальних клітин з індукцією ангиогенезу, швидке і якісне формування кісткового регенерату із трабекул губчастого типу завдяки ранній остеобластичній реакції, утворенню у короткі терміни нової компактної кісткової тканини, інтегрованої з материнською.

За сукупністю клініко-рентгенологічних, макро- і гістоморфологічних ознак доведено наступну закономірність ступеня впливу кальцій-фосфатних матеріалів на оптимальний перебіг репаративного остеогенезу в кролів за модельних переломів губчастої та компактної кістки: $\text{ГТлКг-700}>\text{ГТлКг-2}\geq\text{ГТ}\alpha+\beta\text{-700}>\text{ГТ}\alpha\text{-500}$. Водночас усі матеріали мають

остеокондуктивність, ступінь їх остеointegraційних властивостей визначається двофазністю у складі 72 % гідроксиапатиту і 28 % β -трикальційфосфату та адсорбційною активністю більшою за 220 мг/г, а остеоіндуктивність зумовлена легованістю кераміки іонами кремнію (1,3 ваг.%).

Встановлено, що остеозаміщення кісткових дефектів у кролів кальцій-фосфатною керамікою супроводжується усуненням посттравматичної анемії на 14-у добу репаративного остеогенезу, а у контрольній групі – лише на 21-у. Нормалізація лейкоцитарної реакції відбувається найбільш динамічно за використання ГТлКг-700, оскільки вже на 14-у добу кількість лейкоцитів у крові була меншою, ніж у контрольній групі, в 1,3 раза ($p < 0,001$), та в 1,1 раза порівняно з рештою дослідних груп. Загалом тромбоцитоз утримувався впродовж 21-ї доби у контрольній та всіх дослідних групах. Його рівень до 7-ої доби в дослідних кролів достовірно був вищим, ніж у контрольних, тим часом у період 14-ї та 21-ї, навпаки, що свідчить про більш динамічний перебіг тромбоцитарної реакції за остеозаміщення.

Рівень у сироватці крові загального білка за використання у кролів кальцій-фосфатної кераміки, легованої кремнієм, на 21 і 42-у добу виявився достовірно більшим, ніж у тварин решти груп, що свідчить про інтенсивність пластичних процесів. Зміни вмісту в крові Са, Р та Mg відбувалися в межах фізіологічної норми. Заразом на підставі динаміки Са : Р коефіцієнта встановлено, що консолідація перелому супроводжується перерозподілом мінеральних речовин у межах кісткового скелету. Цей показник значно збільшується за інтенсивних процесів остеогенезу, зокрема у фазі мінералізації кісткового регенерату. Його пік у контрольній групі – 1,7 : 1, був на 14-у добу, тобто у запально-резорбтивну стадію репаративного остеогенезу. Натомість у групах із використанням легованої кремнієм кераміки Са : Р індекс досяг піку на 21-у добу – 1,8–1,9, та утримувався приблизно на цьому самому рівні до 42-ї доби, тим часом у решті груп він становив 1,4 : 1.

Динаміка біохімічних кісткових маркерів у крові кролів узгоджується з гістоморфологічними критеріями перебігу репаративного остеогенезу. Так, рівень оксиду азоту найбільш ранній і тривалий за використання керамічних імплантів, особливо легованих кремнієм, що відображає ранній ангіогенез. Активність кісткового ізоферменту лужної фосфатази у контрольних тварин свідчила про пізній (42-а доба) остеогенез, за імплантації $\text{GT}\alpha\text{-500}$ – про довготривалу остеобластичну реакцію, з $\text{GT}\alpha+\beta\text{-700}$ – про її двостадійність і подовженість у часі, GTлКг-2 – про довготривалу, тим часом за GTлКг-700 – про ранню і короткочасну остеобластичну реакцію. Тартратрезистентна кисла фосфатаза відображає у контрольній групі довготривалу резорбцію, за $\text{GT}\alpha\text{-500}$ – ранню впродовж запально-резорбтивної стадії та періоду раннього остеогенезу, за $\text{GT}\alpha+\beta\text{-700}$ – запально-резорбтивну фазу тривалу в часі, за GTлКг-2 – запально-резорбтивну фазу в період 7–14-ї доби, а за GTлКг-700 процеси резорбції короткі і тривають лише впродовж переходу запально-резорбтивної фази в стадію остеогенезу.

Встановлено, що гематологічно і патохімічно осколкові переломи довгих трубчастих кісток у собак характеризуються еритроцитопенією (зменшення в 1,2 раза, $p<0,001$), лейкоцитозом (збільшення в 1,3 раза, $p<0,01$), гіперфібриногенемією (підвищення в 1,7 раза, $p<0,001$), посиленням продукції оксиду азоту (в 1,2 раза, $p<0,01$) та активністю фосфатаз (в 1,2–1,3 раза, $p<0,01$), формуванням прозапальної цитокінемії та цитокінового дисбалансу.

Вперше доведено, що остеозаміщення таких переломів кальцій-фосфатною керамікою, легованою кремнієм, за даними клініко-рентгенологічного оцінювання скорочує термін їх консолідації в середньому на 18–20 діб. Водночас остеозаміщення сприяє усуненню посттравматичної анемії та нормалізації лейкоцитарної реакції до 42-ї доби, а гіперфібриногенемії – на 21-у добу. Хоча зміни вмісту в сироватці крові Ca, P та Mg відбувалися в межах фізіологічної норми і не мали достовірного характеру, однак динаміка Ca : P коефіцієнта виявилася досить показовою.

Якщо у контрольних тварин цей коефіцієнт динамічно знижувався з $1,9 : 1$ до мінімального значення на 21-у добу – $1,4 : 1$ і не відновлювався навіть на 60-у добу – $1,7 : 1$, то за остеозаміщення він не опускався нижче $1,7 : 1$, а вже з 42-ї доби досяг показника клінічно здорових собак – $1,9 : 1$. Отже, це засвідчує надзвичайно виражену і тривалу остеорезорбцію за відсутності остеозаміщення.

Заразом встановлено, що патохімічна фаза репаративного остеогенезу за остеозаміщення, легованою кремнієм керамікою характеризується підвищенням рівня оксиду на його ранніх стадіях на 3-ю добу, що є опосередкованою ознакою раннього ангіогенезу, на протизапагу лише тенденції до цього в контрольній групі. Піки активності кісткового ізофермента лужної фосфатази встановлено на 12-у добу, тим часом у контрольній – на 21 та 42-у, тартратрезистентної – на 21-у та упродовж всього періоду досліджень. Водночас динаміка співвідношення активності кислої до лужної фосфатази: чим він нижчий, тим більш посилені процеси остеогенезу, засвідчила, що вони більш ранні та інтенсивні за остеозаміщення у проміжку 3–21-а доба з посиленням остеорезорбції в період 42–60-ї доби, що відображає ремоделювання кісткового регенерату. Тим часом за його відсутності має місце дисбаланс між процесами остеогенезу і остеорезорбції, яка має перманентний характер, що відображає подовжений термін консолідації осколкових переломів.

Встановлено також, що накістковий остеосинтез за відсутності остеозаміщення осколкових переломів супроводжується перманентною і досить потужною прозапальною цитокінемією з піками на 12 та 42-у добу зі збільшенням рівня IL-1 β в крові в 1,5 та 1,8 раза ($p < 0,01$), відповідно. У разі заміщення кісткових осколків легованою кремнієм керамікою рівень IL-1 β з 12-ї доби репаративного остеогенезу та упродовж наступних термінів виявився меншим, ніж у контрольній групі. Попри те, що пікові значення рівня в крові протизапального IL-10 в контрольній групі були вищі, динаміка цитокінового індекса – IL-10 : IL-1 β в період 21-ї доби засвідчила майже його

нормалізацію в дослідній групі – 1,4 : 1 за норми – 1,5 : 1 та контрольного – 1,2 : 1, що надзвичайно важливо для контролю остеорезорбтивної індукції з боку $IL-1\beta$ за розгортання остеогенних процесів. Водночас у тварин з остеозаміщення в 1,3 рази ($p < 0,01$) був більшим, ніж у контрольній групі, рівень трансформуючого фактора росту- β , що загалом відображає оптимізований перебіг репаративного остеогенезу. Натомість двофазна гіперреактивність фактора росту в контрольних тварин зумовлює переважне стимулювання хондрогенезу.

Отже, остеозаміщення кісткових осколків кальцій-фосфатною керамікою, легованою кремнієм, поряд із скороченням запально-резорбтивної стадії та прискоренням проліферативної фази репаративного остеогенезу супроводжується помірною і контрольованою цитокінемією та урівноваженою продукцією факторів росту.

Обґрунтовано і запропоновано імплантацію кальцій-фосфатної кераміки у складі гідроксиапатиту (72 %), β -трикальційфосфату (28 %) та кремнію (1,3 ваг.%) для остеозаміщення у разі осколкових переломів довгих трубчастих кісток у собак для оптимізації та прискорення їх консолідації, що апробовано і підтверджено відповідними актами про впровадження в низці клінік дрібних домашніх тварин України. Водночас запропоновано визначення в сироватці крові вмісту і співвідношення ТрКФ та КЛФ, а також $Ca : P$ коефіцієнта для контролю перебігу репаративного остеогенезу за консолідації переломів у собак.

Матеріали дисертації використовуються під час вивчення дисциплін «Загальна і спеціальна хірургія», «Травматологія і ортопедія дрібних тварин» та у наукових дослідженнях 6-ти факультетів ветеринарної медицини і 3-х науково-дослідних інститутів України, що підтверджено відповідними актами.

Ключові слова: остеозаміщення, репаративний остеогенез, остеокондукція, остеointegraція, остеoіндукція, маркери кісткового метаболізму, інтерлейкіни, трансформуючий фактор росту- β .

SUMMARY

Chemerovskiy V. Clinical and experimental substantiation of implantation calcium-phosphate ceramics alloyed with silicon in case of fragmentary bone fractures in dogs. – Qualifying scientific paper within the manuscript rights. The dissertation to obtain a scientific degree of philosophy doctor on specialty 211 – Veterinary medicine (21 – Veterinary medicine). – Bila Tserkva National Agrarian University, Bila Tserkva, 2021.

There was clinically and experimentally substantiated the influence on reparative osteogenesis of osteo-substitution by calcium-phosphate ceramics with various physicochemical properties, including silicon alloyed, which is new in solving the problem of optimizing the consolidation of fragmentary fractures of long tubular bones in animals. It was proved by clinical-radiological, macro- and histo-morphological way and on the basis of hematological, biochemical and molecular-biological criteria for the assessment of reparative osteogenesis, that in rabbits and dogs the calcium-phosphate ceramics within the hydroxyapatite (72%), β -tricalcium phosphate (28%) and silicon (1.3 wt.%) with adsorption activity of more than 220 mg/g, implanted into defects of compact or spongy bone tissue, exhibits high osteoconductive, osteo-integrative and osteo-inductive properties with moderate biodegradation of osteo-substituting material, due to which in case of fragmentary fractures of tubular bones in dogs their consolidation time decreases by 1.5 times ($p < 0.001$).

Thus, the clinical and radiological evaluation of fragmentary fractures of long tubular bones in dogs showed that their largest percentage include the leg - 38.5%, slightly less the forearm - 26.9%, femoral bone - 19.2% and the least humerus - 15.4%. They are mostly localized in the diaphysis area - 46.2%, slightly less in metaphysis area - 42.3%, while the pineal gland - only 11.5%.

For the first time, according to the international classification AO/ASIF principles, it was established that the largest part of fragmentary fractures of long tubular bones - 50% - belongs to type C, 46.2% - to type B and the smallest - 3.8% - belongs to the simplest type A. Within the subgroups, the largest part - 19.2% -

was for subgroups B₁, B₂ and C₂, slightly smaller part - 15.4% – for C₁ and C₃ subgroups and very small part – 7.8 and 3.8% - for B₃ and A₂ subgroups, respectively. This is the basis for a more rational choice of methods and means of osteosynthesis using osteo-substitute materials to optimize reparative osteogenesis.

For the first time in veterinary orthopedics there was performed clinical and experimental monitoring of a number of calcium-phosphate ceramics with different physicochemical characteristics according to the degree of their osteoconductive, osteo-integrational and osteo-inductive properties for the purpose of osteo-substitution of bone defects in animals. The following calcium phosphate materials were studied: biphasic granules of hydroxyapatite (70%) and α -tricalcium phosphate (30%) with adsorption activity of 118.7 mg/g (GT α -500); three-phase granules of hydroxyapatite (55%), α -tricalcium phosphate (30%) and β -tricalcium phosphate (15%) with adsorption activity of 220.5 mg/g (GT α + β -700); two-phase granules of hydroxyapatite (70%) and β -tricalcium phosphate (30%), doped with silicon (1.3 wt.%) with adsorption activity of 117.9 mg/g (GT1Kg-2); washed two-phase granules, hydroxyapatite (72%) and β -tricalcium phosphate (28%), doped with silicon (1.3 wt.%) with adsorption activity of 229.1 mg/g (GT1Kg-700).

Radiologically, the calcium-phosphate ceramics osteo-substitution was characterized, while comparing with bone defects healing under the blood clot, by moderate periosteal and endo-osteal reactions only within the bone injury, by dynamic increase of osteosclerosis phenomenon as a sign of osteogenic processes, which intensity was higher than the use of ceramics alloyed with silicon with their higher dynamic biodegradation.

At the same time, macromorphologically, the bone regenerates of compact bone tissue on the 21st day in the control group were loose, crater-shaped with massive periosteal growths, when using GT α -500 - bone defects were completely filled with a large number of ceramic granules, firmly connected to the regenerator, during moderate periosteal reaction, with GT α + β -700 – the material together with the newly formed bone tissue formed a monolith and fully integrated with the maternal bone, with GT1Kg-2 – callus was somewhat isolated and was clearly

above the formed bone defect, and with GTIKg-700 – its granules were barely visible in the bone regenerate monolith, extremely integrated into the maternal bone tissue without periosteal growths. The macromorphological picture of bone regenerates in spongy bone tissue was similar.

According to the histo-morphological score, it was found that reparative osteogenesis in compact bone in rabbits during osteo-substitution with GT α -500 or GT α + β -700 was accelerated by 1.4 times ($p<0.01$), with GTIKg-2 – by 1.5 times ($p<0.001$), and with GTIKg-700 – by 1.6 times ($p<0.001$), in spongy – by 1.4-1.5 times ($p<0.001$), by 1.8 and by 2.0 ($p<0.001$), respectively. At the same time, the histo-morphological evaluation of GTIKg-700 was significantly higher by 1.1 times than in the groups with unalloyed ceramics.

It was proved that silicon-alloyed ceramics provides early reaction of endothelial cells with induction of angiogenesis, fast and high-quality formation of bone regenerate from spongy trabeculae due to early osteoblastic reaction, formation in a short time of new compact bone tissue, integrated with the maternal one.

The following regularity of the calcium-phosphate materials influence degree on the optimal course of reparative osteogenesis in rabbits with model fractures of cancellous and compact bone was proved by a set of clinical-radiological, macro- and histo-morphological features: GTIKg-700>GTIKg-2 \geq GT α + β -700>GT α -500. At the same time, all materials have osteo-conductivity, the degree of their osteointegration properties is determined by two-phase within 72% hydroxyapatite and 28% β -tricalcium phosphate and adsorption activity greater than 220 mg/g, and osteo-inductivity is due to the alloying of ceramics with silicon ions (1.3 wt.%).

It was found that osteo-substitution of bone defects in rabbits by calcium-phosphate ceramics is accompanied by the elimination of post-traumatic anemia on the 14th day of reparative osteogenesis, and in the control group – only on the 21st day. Normalization of the leukocyte response occurs most dynamically with the use of GTIKg-700, because on the 14th day the number of leukocytes in the blood was less than in the control group by 1.3 times ($p<0.001$), and by 1.1 times as compared

with the rest of the experimental groups. In general, thrombocytosis was maintained during the 21st day in the control and all experimental groups. Its level up to the 7th day in experimental rabbits was significantly higher than in control ones, meanwhile in the period of the 14th and the 21st days, it was on the contrary, which indicates a more dynamic course of platelet reaction during osteo-substitution.

The total protein level in the blood serum under application of calcium-phosphate ceramics alloyed with silicon in rabbits, on the 21st and the 42nd day was significantly higher than in animals of other groups, which indicates the intensity of plastic processes. Changes of Ca, P and Mg levels in blood occurred within the physiological norm. Thus, on the basis of dynamics of the Ca : P coefficient, it was established that the consolidation of the fracture is accompanied by a redistribution of minerals within the bone skeleton. This indicator increases significantly during intensive processes of osteogenesis, in particular in the mineralization phase of bone regenerate. Its peak in the control group – 1,7 : 1, was on the 14th day, i.e. during the inflammatory-resorptive stage of reparative osteogenesis. In contrast, in the groups with silicon-alloyed ceramics Ca : P index reached peak on the 21st day – 1,8–1,9, and remained at approximately the same level until the 42nd day, while in the other groups it was 1,4 : 1.

The dynamics of biochemical bone markers in rabbit blood is consistent with histo-morphological criteria for reparative osteogenesis. Thus, the level of nitric oxide is the earliest and longest with the use of ceramic implants, especially alloyed with silicon, which reflects early angiogenesis. The activity of the bone isoenzyme alkaline phosphatase in control animals testified for late (42nd day) osteogenesis, with implantation of GT α -500 – for a long-term osteoblastic reaction, with GT α + β -700 – about its two-stage and elongation over time, with GTIKg-2 – about long-term, meanwhile with GTIKg-700 – about early and short-term osteoblastic reaction. Tartrate-resistant acid phosphatase reflects long-term resorption in the control group, with GT α -500 – early during the inflammatory-resorptive stage and the period of early osteogenesis, with GT α + β -700 – long time inflammatory-resorptive phase, with GTIKg-2 – inflammatory-resorptive phase in

the period of 7–14 days, and with GTIKg-700 resorption processes are short and last only during the transition of the inflammatory-resorptive phase into the osteogenesis stage.

It was found that fragmentary fractures of long tubular bones in dogs are hematologically and patho-chemically characterized by erythro-cytopenia (decrease by 1.2 times, $p < 0.001$), by leukocytosis (increase by 1.3 times, $p < 0.01$), hyperfibrinogenemia (increase by 1.7 times, $p < 0.001$), by increased nitric oxide production (by 1.2 times, $p < 0.01$) and by phosphatase activity (by 1.2–1.3 times, $p < 0.01$), by formation of pro inflammatory cytokinemia and cytokine imbalance.

It was proved for the first time, that osteo-substitution of such fractures by calcium-phosphate ceramics alloyed with silicon, according to clinical and radiological evaluation, reduces their consolidation period on average by 18–20 days. At the same time, osteo-substitution helps to eliminate post-traumatic anemia and normalize the leukocyte response by the 42nd day, and hyperfibrinogenemia - by the 21st day. Although content changes of Ca, P and Mg in the blood serum occurred within the physiological norm and were not reliable, but the dynamics of the Ca: P coefficient was quite indicative. If in control animals, this coefficient was dynamically reducing from 1,9 : 1 to a minimum value on the 21st day – 1,4 : 1 and was not restored even on the 60th day – 1,7 : 1, then with osteo-substitution, it did not fall below 1,7 : 1, and from the 42nd day it reached the indicator of clinically healthy dogs – 1,9 : 1. Thus, this indicates an extremely pronounced and prolonged osteo-resorption in the absence of osteo-substitution.

There were established regularities of the reparative osteo-genesis patho-chemical phase during osteo-substitution. In particular, the level of nitric oxide had a peak value on the 3rd day, which is an indirect sign of early angiogenesis, in contrast to only the tendency of it in the control group. Peaks of alkaline phosphatase bone isoenzyme activity were found on the 12th day, meanwhile in the control group - on the 21st and 42nd days, in tartrate-resistant - on the 21st day and throughout the study period. At the same time, the dynamics of the acidic to alkaline phosphatase activity ratio: the lower it is, the more intensified the

osteogenesis processes, showed that they are earlier and more intense than osteo-substitution in the period 3–21 days with increased osteo-resorption during the 42–60th days period, which reflects the remodeling of bone regenerate. Meanwhile, in its absence, there is an imbalance between the processes of osteogenesis and osteo-resorption, which is permanent, reflecting the extended period of fragmentary fractures consolidation.

It was also found that bone osteosynthesis in the absence of osteo-substitution of fragmentary fractures is accompanied by permanent and strong pro-inflammatory cytokinemia with peaks on the 12th and 42nd day with increase in IL-1 β levels in the blood by 1.5 and 1.8 times ($p < 0.01$), respectively. In the case of bone fragments replacement with silicon-alloyed ceramics, the level of IL-1 β from the 12th day of reparative osteogenesis and during the following periods was lower than in the control group. Despite the fact that the peak values of anti-inflammatory IL-10 levels in blood in the control group were higher, the dynamics of cytokine index - IL-10 : IL-1 β in the period of the 21st day showed almost its normalization in the experimental group – 1,4 : 1 with norms of – 1,5 : 1 and control – 1,2 : 1, which is extremely important for the control of osteo-resorptive induction by IL-1 β during the development of osteogenic processes. At the same time, the level of transforming growth factor- β was by 1.3 times higher ($p < 0.01$) in animals with osteo-substitution than in the control group, which generally reflects the optimized course of reparative osteogenesis. In contrast, biphasic hyperreactivity of growth factor in control animals causes the predominant stimulation of chondrogenesis.

Thus, osteo-substitution of bone fragments by silicon-alloyed calcium-phosphate ceramics, along with reduction of the inflammatory-resorptive stage and acceleration of the proliferative phase of reparative osteogenesis is accompanied by moderate and controlled cytokinemia and balanced production of growth factors.

There was substantiated and proposed implantation of calcium-phosphate ceramics in the composition of hydroxyapatite (72%), β -tricalcium phosphate

(28%) and silicon (1.3 wt.%) for osteo-substitution in case of fragmentary fractures of long tubular bones in dogs for optimization and acceleration of their consolidation, which was tested and confirmed by relevant acts of implementation in a number of small pets clinics in Ukraine. At the same time, it is proposed to determine the content and ratio of TrKF and KLF in blood serum, as well as Ca : P coefficient to control the course of reparative osteogenesis with consolidation of fractures in dogs.

The dissertation materials are being used during the study of disciplines "General and Special Surgery", "Traumatology and Orthopedics of Small Animals" and in research of 6 veterinary medicine faculties and 3 research institutes of Ukraine, which is confirmed by relevant acts.

Key words: osteo-substitution, reparative osteogenesis, osteo-conduction, osteointegration, osteo-induction, markers of bone metabolism, interleukins, transforming growth factor- β .

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях України:

1. Рубленко М.В., Чемеровський В.О., Власенко В.М., Ульянчик 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: 10.33245/2310-4902-2018-144-2-37-46 (здобувач організував проведення дослідю, виконав гістологічні та рентгенологічні дослідження, 1 д.а)
2. Чемеровський В.О. Рентгенографічна, макроморфологічна і гематологічна оцінка гідроксиапатитної кераміки з різними фізико-хімічними властивостями. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2020. № 1. С. 140–152. Doi: 10.33245/2310-4902-2020-154-1-140-152 (здобувач організував проведення дослідю, виконав макроморфологічне, рентгенологічне і гематологічне дослідження, 1,1 д.а).

3. Rublenko M.V., Chemerovskiy V.A., Andriiets V.G., Ulyanchich N.V., Kolomiets V.V., Koryak A.S. Evaluation of usage of silicon-doped hydroxyapatite ceramics for treatment of fragmented bone fractures in dogs. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*. 2020. Vol 22. № 99. P. 29–37. Doi: 10.32718/nvlvet9905 (здобувач організував проведення дослідю, виконав екстракортикальний остеосинтез, провів рентгенологічне і гематологічне дослідження, 0,9 д.а).

4. Rublenko M.V., **Chemerovskiy V.A.**, Ulyanchich N.V., Savchuk A.N., Zgalenova T.I., Raksha N.G. Dynamics of cytokines in osteosis splinter fractures replacement in dogs with hydroxyapatite ceramics silicon-doped. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences*. 2021. Vol. 23 № 102. P. 29–36. Doi: 10.32718/nvlvet10205 (здобувач організував проведення дослідю, виконав екстракортикальний остеосинтез, провів відбір зразків крові, 0,8 д.а).

5. Рубленко М.В., **Чемеровський В.О.**, Власенко В.М., Ульянчич Н.В., Клименко П.П. Динаміка біохімічних кісткових і ендотеліальних показників за заміщення кісткових дефектів у собак гідроксиапатитною керамікою, легованою кремнієм. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2021. № 1. С. 191–200. Doi: 10.33245/2310-4902-2021-165-1-191-200 (здобувач організував проведення дослідю, виконав екстракортикальний остеосинтез, провів лабораторні дослідження, 0,9 д.а).

Стаття у науковому виданні, включеному до міжнародної наукометричної бази даних Web of Science:

6. **Chemerovskiy V.O.**, Rublenko M.V., Rublenko S.V., Ulanchych N.V., Firstov S.O., Kolomiets V.V. Effect of implants of hydroxyapatite with tricalcium phosphates alloyed with Si on histomorphological and biochemical parameters in cases of bone defects of rabbits. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2021. Vol. 12. № 2. С. 281–288. Doi: 10.15421/022137 (здобувач організував проведення дослідю, виконав гістологічні та біохімічні дослідження, 1,1 д.а).

Матеріали науково-практичних конференцій:

7. **Чемеровський В.О.,** Рубленко М.В. Гістоморфологічні аспекти впливу на репаративний остеогенез біокераміки, легованої кремнієм. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту. Сучасний розвиток ветеринарної медицини та технології тваринництва», м. Біла Церква, 27–28 вересня 2018 року. С. 20–22 (*здобувач організував проведення дослідів, виконав гістологічні дослідження, 0,1 д.а*).

8. **Чемеровський В.О.,** Рубленко М.В., Ульянович Н.В. Гістоморфологическая оценка репаративного остеогенеза при использовании керамики, содержащей α -трикальцийфосфат. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Актуальные вопросы и пути их решения в ветеринарной хирургии», яка присвячена 80 – річчю з дня народження професора Е.І. Веремея, м. Вітебск, Республіка Білорусь, 31 жовтня 2019 року. С. 116–118 (*здобувач організував проведення дослідів, виконав гістологічні дослідження, 0,12 д.а*).

9. Чемеровський В.О. Гістологічна характеристика застосування кераміки на основі α -і β -трикальційфосфату за модельних діафізарних переломів у кролів. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту. Сучасний розвиток ветеринарної медицини та технології тваринництва», м. Біла Церква, 27–28 жовтня 2019 року. С. 95–97 (*0,15 д.а*).

10. **Чемеровський В.О.,** Рубленко М.В. Динаміка ІЛ-1 β у собак за осколкових переломів трубчастих кісток та використання гідроксиапатитної кераміки, легованої кремнієм. Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин», Інститут ветеринарної медицини НААН. м. Київ, 09 липня 2020 року. С. 37 (*здобувач організував проведення дослідів, виконав біохімічне дослідження, 0,04 д.а*).