

UDC 616.718.4/.5-001.5]-089.2-003.93-092.9:599.323.4

<https://doi.org/10.32345/SUPPLEMENT.2.2024.129-132>

## Особливості регенерації експериментального перелому стегнової кістки щурів з інтрамедулярною фіксацією імплантатами з вуглець-вуглецевого композитного матеріалу

Богданов Павло

Кафедра анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, м. Запоріжжя, Україна.

### Address for correspondence:

Bohdanov Pavlo

E-mail: Pavel\_bogdanov@ukr.net

**Анотація:** Питання пошуку сучасних біоінертних матеріалів для використання в хірургічній ортопедії і травматології, а також інших медичних галузях пов'язаних з хірургічним лікуванням захворювань кістково-рухового апарату є найбільш актуальним на сьогодні. Метою дослідження було встановлення особливостей перебігу регенерації перелому стегнової кістки щурів з інтрамедулярною фіксацією уламків композитним вуглець-вуглецевим матеріалом. В роботі досліджено стегнову кістку 12 щурів лінії Вістар. 6 щурів – з модельованим поперечним діафізарним переломом та інтрамедулярною фіксацією вуглець-вуглецевим композитним матеріалом та шість щурів – з модельованим поперечним діафізарним переломом та інтрамедулярною фіксацією медичною сталлю. Останні використовувались в якості групи порівняння. Виготовлені за стандартними методиками гістологічні зрізи для оглядової мікроскопії забарвлювали гематоксиліном та еозином. Для дослідження процесів реваскуляризації виконували постановку імуногістохімічної реакції з антитілами CD-34. В результаті дослідження встановлено, що у тварин з модельованим повним поперечним діафізарним переломом стегнової кістки та інтрамедулярною фіксацією імплантатами з композитного вуглець-вуглецевого матеріалу в кістковому регенераті вірогідно збільшується відносна площа CD-34<sup>+</sup> ендотеліальних клітин судин порівняно з групою тварин, яким фіксацію виконували з використанням медичної іржостійкої сталі. Таким чином використання вуглець-вуглецевого композитного матеріалу виявляє ангіогенний ефект в кістковому регенераті, що пришвидшує темпи репарації та ремоделювання переломів.

**Ключові слова:** Фіксація переломів, інтрамедулярна, вуглецеві сполуки, ремоделювання кістки, біосумісні матеріали.

### Вступ

Однією з проблем хірургічного лікування захворювань і травм кістково-рухового апарату є пошук сучасних інертних матеріалів, які можуть використовуватись при їх лікуванні, адже в загоєнні переломів при інтрамедулярній фіксації важливу роль відіграє біомеханіка імплантата, його біосумісність, стійкість до корозії та навантажень (Nak et al., 2014; Pesare et al., 2024). Такі матеріали можуть використовуватись не тільки в ортопедії і травматології, а й хірургічній стоматології, ортопедичній онкології та інших галузях сучасної медицини. Так, наприклад, важливим етапом лікування в ортопедичній онко-

логії є етап післяопераційної променевої терапії. Фіксуючі матеріали мають відповідати ще й додатковим вимогам, таким як низькій рівень поглинання опромінення, не викликати виникнення додаткових артефактів та інше (Yeung et al., 2022; Kang et al., 2021). Однією з груп матеріалів, яка відповідає більшості вимог є композитні матеріали на основі вуглецю (Чорний et al., 2023; Zhao et al., 2021).

### Мета

Мета дослідження: встановити особливості перебігу регенерації перелому стегнової кістки щурів з інтрамедулярною фіксацією уламків композитним вуглець-вуглецевим матеріалом.

### Матеріали і методи

В роботі було досліджено стегнову кістку 12 білих лабораторних щурів лінії Вістар, яким шляхом оперативного втручання в асептичних умовах під загальним знеболенням з використанням «Тіопенату» моделювали повний поперечний перелом середньої третини діафіза лівої стегнової кістки з подальшою відкритою інтрамедулярною фіксацією кісткових фрагментів. Тварин було поділено на дві групи по шість в кожній. Першу групу склали експериментальні тварини, яким фіксацію кістки проводили з використанням вуглець-вуглецевого композитного матеріалу виробництва АТ «Мотор Січ». Другу групу тварин склали щури, яким фіксацію кісткових фрагментів здійснювали з використанням медичної іржостійкої сталі. Данна група тварин використовувалась в якості групи – порівняння. З метою контролю належної фіксації кісткових уламків всім тваринам інтраопераційно виконували рентгенологічний контроль. В ранньому післяопераційному періоді виконували обробку операційної рани розчином йоду. Тварин виводили з експерименту на 30 добу шляхом передозування наркозу. Вилучали задню ліву кінцівку. Стегнову кістку виділяли з оточуючих тканин та фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну протягом 72 годин. В подальшому промивали та виконували декальцинацію використовуючи 5% розчин мурашиної кислоти протягом 3-5 діб контролюючи ступінь декальцинації шляхом проколювання голкою. Перед проведенням дегідратації вилучали фіксуючий імплант. Зневоднювали у висхідній батареї спиртів від 50% до 100% з подальшим формуванням парафінових блоків. Використовуючи ротаційний мікроскоп НМ 340e (Thermo Fisher Scientific) виготовляли серійні зрізи товщиною 5-6 мкм. Для оглядової мікроскопії зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином за стандартною методикою. З метою вивчення процесів ревазуляризації в ділянці регенерату використовували постановку імуногістохімічної реакції з антитілами CD-34 (C-18): sc-7045 (Santa Cruz Biotechnology). Для вивчення експресії маркера користувалися програмним забезпеченням ImageJ. Статистичний аналіз отриманих результатів виконували методами варіаційної статистики, з використанням програми Statistica 13.0 (StatSoft Inc., № JPZ804I382130ARCN10-J). Достовірність відмінностей оцінювали використовуючи t-критерій Стьюдента для рівня вірогідності не менше ніж 95 % ( $p < 0,05$ ), що є достатнім для медико-біологічних досліджень.

Щурів утримували в умовах віварію ННМ-ЛЩ з віварієм ЗДМФУ в клітинах по 4-6 тварин в кожній з вільним цілодобовим доступом до їжі та води. При роботі з тваринами дотримувались Директиви Європейського Парламенту з захисту тварин 2010/63/ЄС, Гельсінської Декларації та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447-IV.

### Результати

Ранній післяопераційний період в обох групах спостереження протікав без особливостей та без ускладнень. Всім тваринам виконували лише місцеве оброблення післяопераційної рани розчином йоду. Додаткового лікування не призначалось. На тридцять добу дослідження при оглядовій мікроскопії у щурів експериментальної групи з інтрамедулярною фіксацією вуглець-вуглецевим композитним матеріалом в міжуламковій ділянці регенерат здебільшого представлений хондрійною тканиною. Періостальна та інтермедіарна мозоль представлена грубоволокнистою тканиною з осередками мінералізації та утворення первинних кісткових балок на периферії. Звертає увагу значне відстояння проксимального та дистального уламків діафіза стегнової кістки. Виявляються окремі щілинні простори в міжуламковій частині регенерату, що вірогідно пов'язане з недостатньою фіксацією кісткових фрагментів, яке привело до діастазу між уламками кістки. В окремих препаратах в регенераті виявляються частинки композитного матеріалу циліндричної зломленої на кінцях форми чорного кольору, які могли утворитися при встановленні та вилученні імпланта.

Схожа морфологічна картина спостерігається в регенераті у тварин після інтрамедулярної фіксації з використанням медичної іржостійкої сталі. Регенерат представляє собою грубоволокнисту тканину з осередками хондрійної тканини в якій виявляються ділянки гіпертрофії та резорбції хряща. В обох групах в регенераті виявляється помірна кількість новоутворених судин з елементами крові у просвіті. Однак, порівняльний аналіз експресії маркера CD-34 показав, що в групі тварин, де фіксація кістки виконувалась з використанням композитного матеріалу збільшена відносна площа CD-34+ ендотеліальних клітин судин, що знаходяться в регенераті ( $4,80 \pm 0,40$  – в групі з фіксацією композитним матеріалом та  $2,80 \pm 0,30$  – в групі з фіксацією сталевим стрижнем).

### Обговорення та висновки

Таким чином в результаті проведеного дослідження встановлено, що у тварин з модельованим повним поперечним діафізарним переломом стегнової кістки та інтрамедулярною фіксацією імплантатами з композитного вуглець-вуглецевого матеріалу в кістковому регенераті вірогідно збільшується відносна площа CD-34<sup>+</sup> ендотеліальних клітин судин порівняно з групою тварин, яким фіксацію виконували з використанням медичної іржостійкої сталі. Пришвидшення темпів проростання судин в тканинах регенерату може позитивно впливати на процеси репарації та ремоделювання кістки. В літературі зустрічається низка публікацій авторів, які також спостерігали схожий позитивний вплив на процеси регенерації переломів кісток з використанням композитних матеріалів на основі вуглецю (Zhao et al., 2021; Wright et al., 2019; Cheng et al., 2018).

В подальшому планується продовжити вивчення особливостей регенерації, біоінтеграції та місцевої запальної реакції тканин у щурів з модельованим переломом довгих трубчастих кі-

сток та інтрамедулярною фіксацією імплантатами на основі композитного вуглець-вуглецевого матеріалу.

### Фінансування

Данна робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії ЗДМФУ «Морфологічні особливості перебудови кісток в умовах їх полісегментарного ушкодження та хірургічної корекції», номер державна реєстрація №0120U103164, та виконується в рамках договору про спільну науково-дослідну діяльність між АТ «Мотор Січ» та ЗДМУ № 6125/19-к (УЕУ и ГПА) від 17 квітня 2019 року.

### Конфлікт інтересів

Автори засвідчують відсутність конфліктів інтересів.

### Згода на публікацію

Всі автори ознайомлені з текстом рукопису та надали згоду на його публікацію

### ORCID та внесок авторів

0000-0002-1533-6370 (A, B, C, D, E, F)  
Bohdanov Pavlo

## ЛІТЕРАТУРА

- Cheng, X., Wan, Q., & Pei, X. (2018). Graphene Family materials in bone tissue Regeneration: Perspectives and challenges. *Nanoscale Research Letters*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s11671-018-2694-z>
- Hak, D.J., Mauffrey, C., Seligson, D., & Lindeque, B.G. (2014). Use of carbon-fiber-reinforced composite implants in orthopedic surgery. *Orthopedics*, 37 12, 825-30 .
- Kang, M. S., Lee, J. H., Hong, S. W., Lee, J. H., & Han, D. (2021b). Nanocomposites for enhanced osseointegration of dental and orthopedic implants revisited: Surface functionalization by carbon nanomaterial coatings. *Journal of Composites Science*, 5(1), 23. <https://doi.org/10.3390/jcs5010023>
- Pesare, E., Meschini, C., Caredda, M., Messina, F., Rovere, G., Solarino, G., & Ziranu, A. (2024). Carbon vs. Titanium Nails in the Treatment of Impending and Pathological Fractures: A Literature Review. *Journal of Clinical Medicine*, 13.
- Wright, Z.M., Arnold, A.M., Holt, B.D. et al. (2019). Functional Graphenic Materials, Graphene Oxide, and Graphene as Scaffolds for Bone Regeneration. *Regen. Eng. Transl. Med.*5, 190–209 <https://doi.org/10.1007/s40883-018-0081-z>
- Yeung, C. M., Bhashyam, A. R., Patel, S. S., Ortiz-Cruz, E., & Lozano-Calderón, S. A. (2022). Carbon fiber implants in orthopaedic oncology. *Journal of Clinical Medicine*, 11(17), 4959. <https://doi.org/10.3390/jcm11174959>
- Zhao, F., Zhang, L., Guo, Y., Sheng, H., Zhang, P., Zhang, Y., Li, Q., Yang, H., & Mikhailovsky, S. V. (2021). Mechanically strong and bioactive carbon fiber-SiC nanowire-hydroxyapatite-pyrolytic carbon composites for bone implant application. *Ceramics International*, 47(3), 3389–3400. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.09.184>
- Чорний, В. В. (2023). Вуглицеві композитні матеріали як імплантати для ортопедії і травматології (огляд літератури). *SWorldJournal*, (22 Part 2), 77-83. <https://doi.org/10.30888/2663-5712.2023-22-02-040>

## Peculiarities of regeneration of an experimental femur fracture in rats with intramedullary fixation with carbon-carbon composite material implants

Bohdanov Pavlo

Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Zaporizhzhia, Ukraine

### Adress for correspondence:

Bohdanov Pavlo

E-mail: [Pavel\\_bogdanov@ukr.net](mailto:Pavel_bogdanov@ukr.net)

**Abstract:** *the issue of finding modern bioinert materials for use in surgical orthopedics and traumatology, as well as other medical fields related to the surgical treatment of diseases of the musculoskeletal system, is the most urgent today. The aim of the study was to establish the features of the course of regeneration of a femur fracture in rats with intramedullary fixation of fragments with a carbon-carbon composite material. The femur of 12 Wistar rats was studied in the work. Six rats – with simulated transverse diaphyseal fracture and intramedullary fixation with carbon-carbon composite material and six rats – with simulated transverse diaphyseal fracture and intramedullary fixation with medical steel. The last one were used as a comparison group. Histological sections prepared according to standard methods for inspection microscopy were stained with hematoxylin and eosin. To study revascularization processes, an immunohistochemical reaction with CD-34 antibodies was performed. As a result of the study, it was established that in animals with a simulated complete transverse diaphyseal fracture of the femur and intramedullary fixation with implants made of carbon-carbon composite material in the bone regenerate, the relative area of CD-34+ vascular endothelial cells probably increases compared to the group of animals in which fixation was performed using medical stainless steel. Thus, the use of carbon-carbon composite material reveals an angiogenic effect in bone regeneration, which accelerates the rate of repair and remodeling of fractures.*

**Key words** Fracture Fixation, Intramedullary, Carbon Compounds, Bone Remodeling, Biocompatible Materials



Copyright: © 2024 by the authors; licensee USMYJ, Kyiv, Ukraine.

This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution License

(<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).