

П.В. Богданов

Запорізький державний
медико-фармацевтичний
університет
Запоріжжя, Україна

Надійшла: 05.09.2024
Прийнята: 15.10.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.3.145-148>

УДК 616.717/.718-001.5-092.9:599.323.4

РОЗРОБКА СПОСОБУ ЕКСПЕРИМЕН- ТАЛЬНОГО МОДЕЛЮВАННЯ ПЕРЕЛО- МІВ ТРУБЧАСТИХ КІСТОК У ЩУРІВ

Bohdanov P.V.  ✉ **Development of a method for experimental modeling of tubular bone fractures in rats.**
Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Zaporizhzhia, Ukraine.

ABSTRACT. Today in orthopedics and traumatology there are many ways to model different types of bone fractures, which have different modifications based on the need to model a particular clinical situation. In our study, we set out to develop and select the optimal model of tubular bone fracture in rats for its intramedullary fixation with pivots from different types of implants. The study was performed in two stages: at the first stage, the femur of 24 mature Wistar rats was examined and a complete transverse diaphyseal fracture of the left femur was modeled by surgical intervention, followed by retrograde intramedullary osteosynthesis. The second stage was performed on 24 mature Wistar rats with modeling of incomplete transverse fracture of the left tibia and antegrade insertion of the implant into the bone marrow cavity through a separate hole in the bone. All animals underwent radiological control. Bones were removed on days 7 and 30 after surgery. Histological preparations were made according to standard methods. Regeneration was assessed by observation microscopy with hematoxylin and eosin staining. The results of X-ray and microscopic studies showed that in animals with a model of complete transverse fracture, a significant difference in the ends of bone fragments was determined, which affected the stages of regenerate formation. These shortcomings were leveled in our proposed model of incomplete transverse fracture and also allowed us to form a control group.

Key words: experimental model, fracture, tubular bones, implants, osteosynthesis.

Citation:

Bohdanov P.V. [Development of a method for experimental modeling of tubular bone fractures in rats]. *Morphologia*. 2024;18(3):145-8. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.3.145-148>

 **Bohdanov P.V.** 0000-0002-1533-6370

✉ Pavel_bogdanov@ukr.net

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Перелом – це часткове або повне порушення цілісності кістки в результаті дії (або) впливу різних факторів на неї. На сьогодні в ортопедії та травматології існує значна кількість класифікаційних систем переломів кісток [1-3]. В літературі можна знайти описання способів моделювання різних типів переломів кісток, які мають різне цільове призначення [4, 5]. Так само існує і низка способів лікування різних типів переломів, як консервативних так і оперативних. Виконуючи дослідження в рамках спільного проекту між ЗДМФУ та АТ «Мотор Січ» перед нами постало завдання дослідити морфологічні особливості кістково-м'якотканинного регенерату та біоінтеграції при використанні різних типів імплантів для

інтрамедулярного остеосинтезу переломів довгих трубчастих кісток у щурів. Поставлена задача вказувала на необхідність пошуку або розробки та обрання оптимальної моделі перелому кістки з подальшою її інтрамедулярною фіксацією стрижнями з різних матеріалів.

Мета

Розробити оптимальну експериментальну модель перелому трубчастої кістки у щурів.

Матеріали та методи

На першому етапі було досліджено стегнову кістку 24 білих статевозрілих щурів лінії «Вістар». В умовах експериментальної операційної навчально-наукового медико-лабораторного центра з віварієм ЗДМФУ щурам було змодельо-

вано повний поперечний перелом діафіза стегнової кістки задньої лівої кінцівки. Тварин умовно було поділено на дві групи по шість щурів в кожній. В першу групу увійшли тварини, котрим в асептичних умовах під загальним знеболенням шляхом внутрішньо-очеревинного введення розчину «Тіопенат» (тіопентал натрію) в дозуванні 30 мг/кг виконували бічний доступ до діафіза стегнової кістки. Після виконання оперативного доступу, кістку за допомогою кусачків Лістона перекушували в поперечному напрямку. В кістковомозкову порожнину центрального уламку в проксимальному напрямку вводили стрижень з вуглець-вуглецевого композитного матеріалу (УУКМ ТУ У 33.1-13312223-004:2007). Після чого вільний кінець стрижня просовували в дистальний уламок з фіксацією обох кінців стегнової кістки. Контроль гемостаза. Рану пошарово зашивали. Одразу після операції виконували рентгенологічний контроль фіксації кістки за допомогою апарата X-MIND Unity (Італія).

В другу групу увійшли тварини, яким за аналогічною методикою було змодельовано повний поперечний діафізарний перелом стегнової кістки задньої лівої кінцівки з подальшою ретроградною фіксацією уламків з використанням стрижня з іржостійкої медичної сталі. Даних щурів використовували в якості групи порівняння.

На другому – основному етапі дослідження було розроблено іншу модель експериментального перелому довгих трубчастих кісток, а саме 24 білим статевозрілим щурам лінії Вістар, яких умовно було поділено на 2 групи: експериментальну та контрольну, по 6 тварин в кожній. 12 щурів експериментальної групи в асептичних умовах під загальним знеболенням шляхом внутрішньоочеревинного введення розчину «Тіопенат» (тіопентал натрію) в дозуванні 30 мг/кг по передньо-медіальній поверхні гомілки лівої задньої кінцівки робили розріз шкіри довжиною 1,5 см. Оголяли великогомілкову кістку в області верхньої та середньої третини. В ділянці горбистості великогомілкової кістки використовуючи стоматологічний бур накладали трепанаційний отвір в напрямку до діафіза кістки досягаючи входження в кістковомозкову порожнину. Другим етапом оперативного втручання в середній третині діафіза великогомілкової кістки використовуючи сталевий диск з обмежуючою до 1 мм глибини проникнення диска пластиковою вставкою виконували надпилювання кістки по передній поверхні в поперечному її напрямку на глибину 1 мм до візуалізації кістковомозкової порожнини. Через отвір в ділянці горбистості великогомілкової кістки в кістковомозкову порожнину в дистальному напрямку вводили стрижень з вуглець-вуглецевого композитного матеріалу, візуально контролюючи його проходження в каналі через місце надпилювання кістки в середній третині її діафіза. Виконували контроль гемостаза. Рану пошарово

зшивали. Рентгенологічний контроль в двох проєкціях виконували двічі – інтраопераційно та перед виведенням тварин з експерименту. Другу групу тварин склали 12 щурів, яким в асептичних умовах під загальним знеболенням виконували розріз шкіри по передньо-медіальній поверхні гомілки лівої задньої кінцівки довжиною 1,5 см. Оголяли великогомілкову кістку в ділянці середньої третини. Використовуючи сталевий диск з обмежуючою до 1 мм глибини проникнення диска пластиковою вставкою виконували надпилювання кістки по передній поверхні в поперечному її напрямку на глибину 1 мм до візуалізації кістковомозкової порожнини. Після досягнення гемостаза рану пошарово зашивали. Також виконували рентгенологічний контроль інтраопераційно та при виведенні тварини з експерименту. Данна група слугувала в якості групи контролю.

Всіх тварин виводили з експерименту на 7 та 30 добу шляхом передозування наркозу. Вилучені стегові та великогомілкові кістки фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну. Після фіксації кістки декальцинували у 5% розчині мурашиної кислоти протягом 3 діб контролюючи достатність декальцинації проколюванням голкою. Промивали та зневоднювали у висхідній батареї спиртів. Заливали у парафін. В якості перехідної середі використовували хлороформ. На ротаційному мікротомі НМ 340е виготовляли серійні зрізи завтовшки 5-6 мкм, які після депарафінізації забарвлювали гематоксиліном та еозином за стандартною гістологічною методикою для проведення в подальшому оглядової мікроскопії.

При роботі з тваринами під час виконання всіх етапів дослідження дотримувались Директиви Європейського Парламенту 2010/63/ЄС з захисту тварин, принципів Гельсінської Декларації та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 1759-VI від 15.12.2009).

Результати та їх обговорення

У тварин першого етапу дослідження, яким виконували повний поперечний перелом діафіза стегнової кістки в післяопераційному періоді на етапах спостереження при рентгенологічному дослідженні місця модельованого перелому в експериментальній групі тварин з фіксацією композитним матеріалом на 30 добу спостерігали негомогенні тіні регенерату низької щільності, які заповнюють діастаз між уламками. Відмічалась виражена періостальна й ендостальна реакція, фіксувалась чітка лінія перелому. Композитний матеріал не контрастується. Звертає увагу значний діастаз між проксимальним та дистальним уламками кістки. Схожа рентгенологічна картина спостерігалась і в групі тварин яким фіксацію виконували використовуючи стрижні з іржостійкої сталі.

При гістологічному дослідженні на 7 добу спостерігається значне відстояння кісткових уламків в місці модельованого перелому. Регенерат

складається з грануляційної та хондроїдної тканин. Періостальна, інтермедіарна й ендостальна мозолі що формуються представлені переважно з хондроїдної тканини. Ділянки між дрібними уламками кісток виповнені грубоволокнистою сполучною тканиною, що містить фрагменти уламків кістки з ознаками некрозу та сформовані гематоми. В окремих препаратах в регенераті спостерігаються щільні простори, які не заповнені тканиною, що вірогідно виникли в результаті значного діастазу між кістковими уламками. Вздовж місця розташування імпланту починає формуватися сполучнотканинна капсула, серед волокон якої виявляються залишки композитного матеріалу у вигляді чорного кольору уламків циліндричної форми та різні за розмірами.

В гістологічних препаратах шурів, яким виконували неповний поперечний діафізарний перелом великогомілкової кістки міжуламковий простір заповнений грануляційною сполучною тканиною, відстань між проксимальним та дистальним уламками кістки незначна. На кінцях відламків спостерігаються зони некрозу. Така гістологічна картина відповідає ранній стадії регенерації переломів.

Підсумок

Таким чином, експериментальна модель повного поперечного перелому стегнової кістки виявляє ряд недоліків, а саме – за рахунок того, що остеотомія проводилась за допомогою кісткових кусачок Лістона утворювались дрібні уламки в ділянці перелому та крайові дефекти кістки; невеликі розміри кістки, кістковомозкової порожнини та самої операційної рани ускладнювали етап ретроградного введення імпланту в кістковомозкову порожнину. Невеликі розміри стрижня з композитного матеріалу робили його крихким, що також ускладнювало процес його установки та приводило в післяопераційному періоді до втрати стабільності фіксації проксимального і дистального уламків, що в свою чергу виявлялось як при

рентгенологічному контролі у вигляді діастазу різного ступеня між уламками, так і приводило до розбіжностей в морфологічному складі регенерату залежно від ступеня розходження кісткових уламків. Ще одним з недоліків даної методики є утруднення формування групи контролю, адже повний поперечний діафізарний перелом без фіксації може привести до значних змін в етапах регенерації перелому та виникнення патологічних варіантів протікання регенерації таких як формування «хлибного суглоба». Запропонована нами методика антеградного введення стрижня в кістковомозкову порожнину та виконання неповного стандартного за глибиною поперечного діафізарного перелому кістки створює можливість формування групи контролю без додаткової зовнішньої фіксації, забезпечує однакове відстоєння між дистальним та проксимальним кінцями кістки в ділянці перелому, що створює однакові умови для формування регенерату і залишає можливість досліджувати процеси взаємодії між тканинами організму тварини та досліджуванним матеріалом.

Перспективи подальших розробок

В подальшому планується продовжити дослідження морфологічних особливостей формування кістково-м'якотканинного регенерату при використанні різних типів імплантів для остеосинтезу кісток.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Дослідження проведено в рамках науково-дослідної теми «Морфологічні особливості перебудови кісток в умовах їх полісегментарного ушкодження та хірургічної корекції» (номер державної реєстрації 0120U103164), а також виконувалось в рамках договору про спільну науково-дослідну діяльність між АТ «Мотор Січ» та ЗДМУ № 6125/19-к (УЕУ и ГПА).

Літературні джерела

References

1. Lasanianos NG, Kanakaris NK, Giannoudis PV, authors; Lasanianos NG, Kanakaris NK, Giannoudis PV, editors. Trauma and Orthopaedic Classifications. Long Bone Fractures. London: Springer; 2015. (Chapter 109), 477–480. doi:10.1007/978-1-4471-6572-9_109
2. Mubarak SJ, Kim JR, Edmonds EW, Pring ME, Bastrom TP. Classification of proximal tibial fractures in children. J Child Orthop. 2009;3(3):191-197. doi: 10.1007/s11832-009-0167-8.
3. Zhang Y, Wang J, authors; Zhang Y, editor. Classification of Tibial and Fibular Fractures. Clinical Classification in Orthopaedics Trauma. Singapore: Springer; 2018. [https://doi.org/10.1007/978-](https://doi.org/10.1007/978-981-10-6044-1_10)

981-10-6044-1_10

4. Popandopulo AH, Bushe VV, Oksymets VM, Enhlezi AP, Hrebeniuk AM, inventors; State institution "Institute of emergency and Reconstructive Surgery named after VK Gusak NASM of Ukraine", assignee. A method of modeling fractures of long tubular bones that do not heal for a long time, which includes immobilization of bone fragments, which is characterized by the fact that the fracture is formed without surgery using a spring impactor. Ukrainian patent UA 61090. 2011 Jul 11. Int.CL. A61B17/56;A61B17/16. Ukrainian.

5. Romanenko KK, Ashukina NO, Horydova LD, Prozorovskyi DV, inventors; State institution

"Institute of spine and joint pathology named prof. E. Sitenko of the national academy of medical sciences of Ukraine", assignee. A method of modeling fractures of the long bones of the limbs, which includes transverse osteotomy of the long bone and intramedullary osteosynthesis. Intramedullary osteosynthesis

is performed using a pin bent at an angle of no more than 145°, the length of which does not exceed the length of the intramedullary canal, and the formation of the type of deformation is monitored. Ukrainian patent UA 92613. 2014 Aug 26. Int.CL. A61B17/56. Ukrainian.

Богданов П.В. Розробка способу експериментального моделювання переломів трубчастих кісток у щурів.

РЕФЕРАТ. На сьогодні в ортопедії та травматології існує багато способів моделювання різних типів переломів кісток, які мають різні модифікації виходячи з необхідності моделювання тієї чи іншої клінічної ситуації. В нашому дослідженні перед нами постало завдання розробити та обрати оптимальну модель перелому трубчастої кістки у щурів для її інтрамедулярної фіксації стрижнями з різних типів імплантів. Дослідження було виконано в два етапи: на першому етапі було досліджено стегнову кістку 24 статевозрілих щурів лінії «Вістар» яким шляхом оперативного втручання було змодельовано повний поперечний діафізарний перелом лівої стегнової кістки методом перекушування останньої з використанням кісткових кусачок Лістона з подальшим ретроградним інтрамедулярним остеосинтезом. Другий етап виконаний на 24 статевозрілих щурах лінії Вістар з моделюванням неповного поперечного перелому лівої великогомілкової кістки та антеградним введенням імпланту в кістковомозкову порожнину через окремий отвір в кістці. Всім тваринам виконували рентгенологічний контроль. Кістки вилучали на 7 та 30 добу після операції. Виготовляли гістологічні препарати за стандартними методиками. Регенерацію оцінювали при оглядовій мікроскопії з забарвленням гематоксиліном та еозином. Результати рентгенологічного та мікроскопічного досліджень показали, що у тварин з моделюванням повного поперечного перелому визначається значне розходження кінців уламків кістки, що впливало на етапи формування регенерату. Данні недоліки були нівельовані в запропонованій нами моделі неповного поперечного перелому, а також дозволили сформулювати групу контролю.

Ключові слова: експериментальна модель, перелом, трубчасті кістки, імпланти, остеосинтез.