

УДК 619:615.37:619:616-001.5:636028
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.3.285

КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ КОЛЛАПАНА - Л И ТИМОГЕНА, ИХ СОЧЕТАНИЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПЕРЕЛОМОВ ТРУБЧАТЫХ КОСТЕЙ У БЕЛЫХ КРЫС

Искалиев Е. А., ветеринарный врач ветеринарной клиники ФГБОУ ВО Костромской
ГСХА

Ключевые слова: крысы, остеосинтез, коллапан-Л, тимоген, эффективность. **Key words:** rats, osteosynthesis, collapan-L, thymogen, effectiveness.

РЕФЕРАТ



В данной работе представлены результаты по применению коллапана-Л и тимогена, а также их комбинаций на процессы репаративного остеогенеза при экспериментальных переломах бедренной кости у крыс. Установлено, что их использование в значительной степени снизило негативное влияние перелома на основные маркеры костного метаболизма - кальций, фосфор, щелочная фосфатаза. Наиболее значимые изменения регистрировали в четвертой группе, где использовали сочетанное применение препаратов, иммуностимулятор сразу после операции курсом 5 дней. Результаты рентгенологических и гистологических исследований также указывают о более активно протекающих процессах остеогенеза и репаративной регенерации костной ткани в четвертой подопытной группе. Так на 45-й день после хирургического вмешательства костная мозоль была однородной, линия перелома едва заметна. Кроме этого, отмечены, более высокая доля костной и низкое содержание соединительной ткани в месте перелома по сравнению с другими группами животных. Так в сравнении с контрольной группой животных содержание костной ткани в четвертой подопытной группе выше на 8,86 %, а соединительной ниже на 46,06%. Полученные результаты по определению прочности кости к механическому воздействию также указывают, что наиболее эффективным приемом для стимуляции репаративного остеогенеза при переломах является сочетанное использование коллапана-Л и тимогена, начиная сразу после операции в течение пяти дней. Так на 45-й день после оперативного вмешательства прочность бедренной кости в четвертой группе достигала 53,02% от уровня интактной, что на 9,39% превышало показатели контрольной.

ВВЕДЕНИЕ

Крысы до настоящего времени являются одной из наиболее широко используемых моделей в лабораторной практике. Результаты опытов, выполненные на них, довольно часто служат клинично-экспериментальным обоснованием для решения многих вопросов. Так, на примере переломов у животных показано, что классические методы их лечения, допол-

ненные стандартным терапевтическим сопровождением, не в полной мере дают положительные результаты. Все это вынуждает ветеринарных специалистов к поиску и внедрению в практику новых приемов, средств терапевтического воздействия для стимуляции процессов регенерации костной ткани.

В практике медицины в последнее время при переломах получили распростра-

нение биоконпозиционные материалы, в частности – коллапан [3, 4]. Новым направлением в данной области является использование для стимуляции процессов остеорепарации иммуностропных препаратов – тимогена [2, 5]. Как правило, в сообщениях приводят данные об эффективности какого-либо одного из приемов. Наряду с этим представляет интерес о совместном их применении. В доступной нам литературе в этом плане данных мы не нашли.

Исходя из этого, перед нами стояла цель – дать клинко-экспериментальное обоснование применения коллапана-Л и тимогена в различных сочетаниях, при лечении переломов трубчатых костей у беспородных белых крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на базе ФГБОУ ВО Костромской ГСХА. Биохимические исследования проведены в ветеринарной лаборатории «Веттест» г. Москва, рентгенологические на Костромской станции по борьбе с болезнями животных, гистологические исследования в лаборатории Центра доклинических исследований ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир). Материалом для исследования степени распространения травматизма мелких домашних животных послужили данные, взятые из журналов регистрации больных животных клиник г. Кострома.

Экспериментальной моделью явились беспородные белые крысы, подобранные по принципу пар-аналогов с учетом пола, возраста (5 – 6 месяцев) и массы (от 180 до 250 г). Было сформировано 6 групп (контрольная и пять подопытных) по 18 крыс в каждой.

Материалом для исследования послужили остеопластический биоконпозиционный материал коллапан-Л и синтетический дипептид – тимоген.

Всем экспериментальным животным в стерильных условиях под наркозом (золетил 100 в дозе 5мг/100г) моделировали простой поперечный перелом бедренной кости с последующей фиксацией костных обломков. Во время репозиции дефект между обломками в 1-, 4- и 5-й

подопытных группах на 2/3 заполняли гранулами коллапана-Л, а в послеоперационный период вводили в течение 5 дней во 2- и 4-й подопытных группах сразу, а в 3- и 5-й – на пятый день, тимоген в дозе 10 мкг на 1 кг живой массы.

Биохимические показатели сыворотки крови определяли на автоматическом анализаторе CatalystOne компании IDEXX до операции, на 7-, 14-, 21-, 28- и 45-е сутки после остеосинтеза.

Сразу после операции и каждые 7 дней проводили рентгенологические исследования на аппарате диагностическом переносном 10Л6-01 системы цифровой радиографии Vita GR (США), продолжительностью опыта 45 дней.

Всех животных на 45-е сутки после операции выводили из эксперимента путем эвтаназии диоксидом углерода и отбирали материал для проведения гистологических исследований и определения прочности костной мозоли к воздействию механического фактора.

Статистическая обработка полученного материала проводилась на персональном компьютере с вычислением критерия Стьюдента, определения средней величины и ошибки ($M \pm m$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ степени распространения травматизма у мелких домашних животных (собак и кошек) показал, что его уровень, без включения операционного травматизма, по данным клиник г. Кострома составляет в среднем 11,03%. На примере одной из ветеринарных клиник (АйБолиит), с учетом операционного травматизма в период с 2017 по 2018 гг. он увеличивается с 11 до 30 и с 10,81 до 31,8%, соответственно

Результаты опытов указывают, что большая часть изменений биохимических показателей в послеоперационный период совпадает с фазами заживления переломов. Стоит отметить, что характер изменений во многом зависит и от используемых препаратов и схем применения. Кальций, фосфор и щелочная фосфатаза являются главными маркерами костного метаболизма, отражающих процесс остео-

регенерации. В связи с этим для прогнозирования течения заживления кости могут быть использованы референтные значения соотношения показателей щелочной фосфатазы на 21-28-й день к 14-суточному периоду, а также кальций-фосфорное отношение на 45-е сутки. Так, при соотношении не выше 1,5 единиц может свидетельствовать о на благоприятном течении процессов заживления, в то время как увеличение этого показателя в пределах 1,6-1,9 – о неудовлетворительном.

При анализе этапных рентгенограмм бедренных костей после операции установлено, что репозиция отломков правильная, с допустимым диастазом, обломки иммобилизованы внутрикостными штифтами. На 7-е сутки эксперимента во всех группах четко прослеживали линию перелома в области средней трети диафиза, без признаков консолидации обломков. К 14-м суткам в 1-, 4- и 5-й группе, где использовали коллапан-Л отдельно и в сочетании с тимогеном в разные сроки, была выявлена тенденция краевой периостальной реакции, тогда как в контрольной и в группах с использованием тимогена в разные сроки – на неделю позже.

На завершающем этапе опыта (45-е сутки) во всех группах процесс заживления костной ткани протекал по вторичному типу, сопровождаясь при этом формированием периостальной костной мозоли. Такая картина, по-видимому, обусловлена интрамедуллярным способом фиксации костных обломков, что подтверждают результаты Justin N. Williamset. al. [1]. У крыс в контрольной группе сформированная периостальная мозоль была веретенообразной формы и имела неоднородную структуру. Это проявлялось различной рентгеноконтрастностью, обусловленной, вероятно, процессом ремоделирования вторичной мозоли в костную ткань. Во 2-, 3- и 5-й подопытных группах, костная мозоль была менее выраженной с неоднородной рентгеноконтрастностью. Кроме того, на снимках четко прослеживается линия перелома. В 1- и 4-й группе, где использовали коллапан-Л отдельно и в

сочетании с тимогеном, сразу после операции костная мозоль была однородной, линия перелома была едва заметна, что указывает на более активно протекающие процессы остеогенеза.

При изучении влияния коллапана-Л и тимогена, а также их комбинаций на репаративный гистогенез костной ткани установлено, что ремоделирование первичной костной мозоли во вторичную, носил разноплановый характер. Наиболее выраженное стимулирующее действие на репаративный остеогенез оказало совместное применение коллапана-Л и тимогена на фоне пятидневного курса иммунокоррекции, начиная с первого дня после операции. Это подтверждается на 45-й день опыта более высокой долей костной ткани и низким содержанием соединительной в месте перелома по сравнению с другими группами животных. Так, на долю костной, хрящевой и соединительной ткани в 4-й подопытной группе приходилось $60,21 \pm 2,62$; $23,58 \pm 1,93$; $16,37 \pm 1,33$ % соответственно, в то время как в контрольной, эти показатели регистрировали на уровне $55,31 \pm 2,80$; $14,43 \pm 1,26$; $30,35 \pm 2,46$; в подопытных: при использовании только коллапана-Л (1-я группа) – $42,43 \pm 3,62$; $15,77 \pm 1,41$; $41,91 \pm 3,67$; на фоне пятидневного курса тимогеном сразу после операции – во 2-й или начиная с пятых суток после операции в 3-й – $44,60 \pm 2,96$; $16,51 \pm 1,54$; $38,94 \pm 2,92$ или $40,64 \pm 3,38$; $23,06 \pm 1,87$; $36,45 \pm 2,87$ % соответственно; в 5-й, при использовании комбинации препаратов, но в отличии от 4-й, тимоген начинали применять на пятый день после оперативного вмешательства – $33,11 \pm 2,14$; $18,42 \pm 1,76$; $48,52 \pm 3,28$ %. Таким образом, применение коллапана-Л в сочетании с пятидневным курсом иммунокоррекции с первого дня после операции способствовало более быстрому формированию костной ткани, характеризовалось активно протекающими процессами оссификации и появлению элементов пластинчатой костной ткани.

Данное заключение подтверждается результатами наших опытов по определению устойчивости кости к механическо-

му воздействию на 45-й день после операции. Прочность (на разрыв) определяли на разрывной машине путем определения нагрузки на интактную (здоровую) и оперируемую кость, выраженную в ньютонах (Н). Расчет проводили по соотношению нагрузки бедренной кости после перелома к интактной (в %). Особенностью наших исследований явилось то что контрольный и испытуемый материал отбирали от одного и того же животного.

Как и в предыдущей серии опытов установлено, что наиболее эффективным приемом для стимуляции остеогенеза при переломах является применение комбинации коллапана-Л и тимогена, начиная сразу после операции в течение пяти дней. Так к концу опыта (на 45-й день после оперативного вмешательства) прочность бедренной кости достигала 53,02% от уровня интактной. В остальных группах этот показатель составлял в контрольной, 1-, 2-, 3- и 5-й 48,47%; 50,00%; 43,22%; 44,90 % и 43,62% соответственно. Можно предположить, что действие комбинации коллапана-Л и тимогена, во многом зависит от сроков его применения.

Материалы исследований, полученные в данной серии опытов, послужили основанием для оформления патента, опубликованного в Бюл. №16 16.09.2021г.

ВЫВОДЫ

Перелом костей ведет к изменениям метаболических процессов на местном и общем уровне и характеризуется зависимостью биохимических показателей с фазами заживления переломов и схемами применения препаратов.

Показатели щелочной фосфатазы на 21-28 день к 14 суточным и кальций-фосфорное соотношение на 45-й день после операции могут быть использованы в прогнозировании эффективности течения репаративного остеогенеза. Результаты не выше 1,5 могут свидетельствовать о благоприятном течении свыше о неудовлетворительном

При оценке различных схем применения препаратов установлено, что наиболее эффективна схема применения колла-

пана-Л в сочетании с пятидневным курсом тимогена сразу после операции, что подтверждено результатами рентгенологических, гистологических исследований и определению устойчивости кости к механическому воздействию (на разрыв).

Применение коллапана-Л на фоне иммунокорригирующего пятидневного курса тимогена, начиная сразу после операции, способствует интенсивному процессу остеогенеза, консолидации отломков кости за счет формирования периостальной мозоли, состоящей на $60,2 \pm 2,1$ из костной ткани (срок наблюдений 45 суток) и на 9,39% превышающей показатели контрольной группы устойчивости к воздействию механического фактора – на разрыв.

CLINICAL AND EXPERIMENTAL REASONING OF THE USE OF COLLAPAN-L AND THYMOGEN, AND THEIR COMBINATIONS IN THE TREATMENT OF FRACTURES OF TUBULAR BONES IN WHITE RATS

Iskaliev Evgeny Aidarkhanovich – veterinarian of the veterinary clinic of the Kostroma State Agricultural Academy

ABSTRACT

This paper presents the results of the use of collapan-L and thymogen, as well as their combinations, on the processes of reparative osteogenesis in experimental femur fractures in rats. It was found that their use significantly reduced the negative impact of the fracture on the main markers of bone metabolism - calcium, phosphorus, alkaline phosphatase. The most significant changes were recorded in the fourth group, where we used the combined treatment of drugs, an immunostimulator immediately after surgery for a course of 5 days. The results of X-ray and histological studies also indicate more active processes of osteogenesis and reparative regeneration of bone tissue in the fourth experimental group. Thus, on the 45th day after surgery, the callus was homogeneous, the fracture line was barely visible. In addition, a higher proportion of bone and a low content of connective tissue at the fracture site were noted compared to other groups of animals. Thus, in comparison to the control group of animals, the content of bone tissue

in the fourth experimental group is higher by 8.86%, and the connective tissue is lower by 46.06%. The results obtained in determining the strength of bone to mechanical stress also indicate that the most effective method for stimulating reparative osteogenesis in fractures is the combined use of collapan-L and thymogen, starting immediately after surgery for five days. Thus, on the 45th day after surgery, the strength of the femur in the fourth group reached 53.02% of the intact level, which was 9.39% higher than the control values.

ЛИТЕРАТУРА

1. Williams JN, Li Y, Valiya Kambrath A, Sankar U. The Generation of Closed Femoral Fractures in Mice: A Model to Study Bone Healing. *J Vis Exp*. 2018 Aug 16; (138):58122. doi: 10.3791/58122. PMID: 30176027; PMCID: PMC6128110
2. Каримов, М. Ю. Провоспалительные цитокины сыворотки крови больных с сочетанными и множественными травмами / М. Ю. Каримов, Ф. Б. Салохиддинов, Ф. Х. Иноятова, и др. // *Журнал теоретической и клинической медицины*. – 2018. – № 1. – С. 62-65.
3. Мигулёва, И. Ю. Практика хирургического лечения энхондром костей кисти с применением биоматериала «коллапан». / И. Ю. Мигулёва, А. М. Савотченко, А. М. Файн // *Вопросы реконструктивной и пластической хирургии*. 2017. Т. 20. № 2 (61). С 67 - 79.
4. Особенности регенерации костной ткани альвеолярного гребня челюстей при применении материала на основе гидроксиапатита / А. Ю. Дробышев, Н. А. Редько, Е. Г. Свиридов, Р. В. Деев // *Травматология и ортопедия России*. – 2021. – Т. 27. – № 1. – С. 9-18. – DOI 10.21823/2311-2905-2021-27-1-9-18. – EDN MDLCIE.
5. Регенеративная активность регуляторных пептидов в условиях экспериментального перелома костей / М. Ю. Смахтин, И. И. Бобынцев, В. Т. Дудка [и др.] // *Человек и его здоровье*. – 2021. – Т. 24. – № 4. – С. 59-67. – DOI 10.21626/vestnik/2021-4/08. – EDN EONKUE.