

УДК 616.718.4-089.843-092:534.321.9](045)

Вплив імпульсного ультразвуку на перебіг остеорепації в ділянці імплантації титанових зразків (експериментальне дослідження)

С. В. Малишкіна, В. І. Маколінець, О. А. Нікольченко, І. В. Вишнякова, Т. М. Гращенкова

ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України», Харків

Purpose: to study osteoreparative process in experiment on rats in region of implantation of titanium samples after exposure of pulsed ultrasound with oscillations' intensity of 0.4 and 0.7 W/cm² applied since the third day after surgery. Materials: fragments of femurs with titanium (BT-16) implants of 57 six-month rat became as a material of study. We used morphological and morphometric methods of investigation. We determined area of the newly formed tissue (granulation, fibroreticular and bone) around the implants, active osteoblastic surface (length of bone trabeculae occupied by active osteoblasts), the index of osseointegration (the length of contact surface of the implant with the bone tissue), the thickness of the connective tissue capsule around the perimeter of implant removed. Results: it was found that the pulsed ultrasound accelerates restructuration of granulation tissue to fibroreticular one with its differentiation in osteogenic direction. Presence of significant osteoblastic differon cell density in this tissue also indicates to this fact. Ultrasound with oscillations' intensity of 0.4 and 0.7 W/cm² stimulates bone formation in area of implantation which confirmed by data of active osteoblastic surface, area of newly formed bone tissue, and index of osseointegration which were larger in animals of the experimental groups than in control ones in all terms of the research. Conclusions: more pronounced positive effect of ultrasound on osteoreparation was in the case of the oscillations' intensity of 0.4 W/cm² which is confirmed by data of area of newly formed bone and osseointegration index obtained at 14, 30 and 45 day of study, and which is veraciously higher than in the case of using of ultrasound intensity of 0.7 W/cm². Results of the study will be used for substantiation of the development of indications and methods of application of ultrasound in patients after reconstructive surgery with using of fixing devices. Key words: low-intensity pulsed ultrasound, titanium implant, femur of the rat, histological investigation.

Цель: изучить в эксперименте на крысах течение остеорепаративного процесса в зоне имплантации титановых образцов после воздействия импульсным ультразвуком с интенсивностью колебаний 0,4 и 0,7 Вт/см², примененного с третьих суток после операции. Материалом исследования были фрагменты бедренных костей с титановыми (BT-16) имплантатами 57 крыс шестимесячного возраста. Определяли площадь новообразованных тканей (грануляционной, фиброретикулярной и костной) вокруг имплантатов, активную остеобластическую поверхность (длину костных трабекул, занятых активными остеобластами), индекс остеоинтеграции (длину контакта поверхности имплантата с костной тканью), толщину соединительнотканной капсулы по периметру удаленного имплантата. Установлено, что импульсный ультразвук ускоряет перестройку грануляционной ткани в фиброретикулярную с ее дифференциацией в остеогенном направлении, на что указывает присутствие в последней значительной плотности клеток остеобластического дифферона. Ультразвук с интенсивностью колебаний 0,4 и 0,7 Вт/см² стимулирует костеобразование в зоне имплантации, что подтверждают показатели активной остеобластической поверхности, площади новообразованной костной ткани и индекса остеоинтеграции, которые на всех сроках исследования у животных опытных групп были больше, чем в контроле. Более выраженным положительный эффект ультразвука на остеорепаративный процесс вокруг титановых имплантатов был в случае применения интенсивности колебаний ультразвука 0,4 Вт/см², что подтверждают полученные на 14, 30 и 45-е сутки исследования показатели площади новообразованной костной ткани и индекса остеоинтеграции, достоверно превышающие соответствующие показатели в случае использования ультразвука интенсивностью 0,7 Вт/см². Результаты исследования будут основой для обоснования показаний и разработки методики применения ультразвука у пациентов после реконструктивно-восстановительных хирургических вмешательств с использованием фиксирующих устройств. Ключевые слова: низкоинтенсивный импульсный ультразвук, титановый имплантат, бедренная кость крысы, гистологическое исследование.

Ключові слова: низькоінтенсивний імпульсний ультразвук, титановий імплантат, стегнова кістка щура, гістологічне дослідження

Вступ

Проблема лікування післятравматичних ушкоджень довгих кісток у галузі травматології є невирішеною. У реконструктивно-відновлювальних хірургічних втручаннях на кістязку широко використовують різні фіксувальні системи, проте питання щодо їх тривалого функціонування та остеоінтеграції в кістку наразі залишається актуальним і до кінця не вивченим [2, 6, 10]. З метою зміцнення кістки навколо імплантата та профілактики асептичної нестабільності металевих фіксаторів розробляють та застосовують різні методи оптимізації остеорепації. Поряд з медикаментозною терапією використовують фізичні чинники, зокрема ультразвук (УЗ) [2, 4, 7, 9, 12, 14]. Проте стосовно особливостей перебудови кістки в разі використання титанових фіксаторів в умовах дії УЗ існує чимало суперечливих поглядів, немає об'єктивної оцінки активності та якості кісткоутворення залежно від використаної інтенсивності УЗ-коливань, визначення оптимального терміну (тобто стадії регенерації кістки) початку дії УЗ після хірургічного втручання, загального періоду лікування тощо.

Мета роботи: дослідити в експерименті на щурах перебіг остеорепаративного процесу в ділянці імплантації титанових зразків після дії імпульсного УЗ з інтенсивністю коливань 0,4 та 0,7 Вт/см², застосованого з 3-ї доби після імплантації.

Матеріал та методи

Матеріалом дослідження взято фрагменти стегнових кісток із титановим імплантатом 57 щурів шестимісячного віку. У роботі зі щурами дотримувались міжнародних вимог гуманного ставлення до піддослідних тварин [3]. План експерименту та його виконання відповідно до сучасних вимог біоетики затверджені локальним профільним комітетом ІПХС ім. проф. М. І. Ситенка (протоколи № 75 від 18.10.2010, № 124 від 23.12.2013). Хірургічні втручання виконували під загальним знеболюванням (аміназин 10 мг/кг та кетамін 50 мг/кг, внутрішньом'язово). У зону латерального відділу дистального метафіза стегнової кістки імплантували титанові (ВТ-16) зразки циліндричної форми (діаметр основи 2 мм, висота 3 мм). Через 3 доби після операції (термін завершення стадії травматичного запалення із міграцією клітин у ділянку дефекту і реорганізацією гематоми та початку стадії проліферації та диференціювання клітин) щурів розподілили на три групи:

1-а, контрольна (19 тварин) — УЗ не застосовували;

2-а, перший дослід (18 тварин) — на ділянці кістки з імплантатом діяли імпульсним УЗ, використовуючи апарат УЗТ-1.01 з інтенсивністю коливань 0,4 Вт/см² (частота коливань 0,88 МГц, тривалість імпульсу 4 мс, пауза 16 мс, експозиція по 5 хв упродовж 10 діб);

3-я, другий дослід (20 тварин) — на ділянці кістки з імплантатом діяли імпульсним УЗ, використовуючи апарат УЗТ-1.01 з інтенсивністю коливань 0,7 Вт/см².

Тварин виводили з експерименту через 7, 14, 30 та 45 діб після операції (терміни відповідають різним стадіям репаративного остеогенезу).

У роботі використані морфологічні та морфометричні методи дослідження. Фрагменти стегнових кісток з імплантованими зразками готували для дослідження за методами гістологічної обробки кісткової тканини [5]. Імплантати видаляли з кістки після її декальцинації. Гістологічні зрізи (центральні поздовжні товщиною 6–10 мкм) забарвлювали гематоксиліном Вейгерта та еозином, досліджували у світлових мікроскопах «Micros» та «Primo Star». Гістопрепарати фотографували цифровою фотокамерою «EOS 300 D». Морфометричні дослідження виконували за рекомендаціями Г. Г. Автанділова [1], використовуючи окуляр-мікромір МОВ-1-15^х та квадратно-сітчасту окулярну вставку з 289 точками. Оцінювали такі показники:

1) товщину (мкм) сполучнотканинної капсули по периметру видаленого імплантата, (вимірювання проводили в п'ятьох ділянках периметру порожнини за допомогою окуляра-мікромітра);

2) площу новоутворених тканин (грануляційної, фіброретикулярної, кісткової) навколо імплантатів (умовні одиниці (ум. од.), кількість точок-перетинів квадратно-сітчастої окулярної вставки, які попадали на досліджувану тканину по периметру імплантаційної порожнини);

3) активну остеобластичну поверхню (відсоток, відношення довжини кісткових трабекул, вкритих активними остеобластами, до загальної довжини трабекул, визначених за допомогою окуляра-мікромітра);

4) індекс остеоінтеграції, який характеризує безпосередній контакт поверхні імплантата з кістковою тканиною (відношення кількості точок-перетинів квадратно-сітчастої окулярної вставки, які припадали на кісткову тканину на межі з імплантатом, до

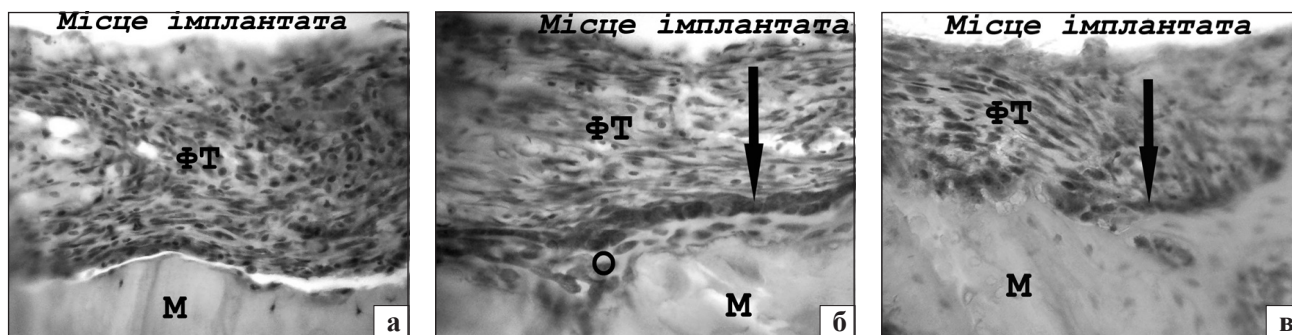


Рис. 1. Фото гістопрепаратів ділянки стінки порожнини від видаленого імплантата через 7 діб після операції: а) осередок фіброретикулярної тканини (ФТ) з високою щільністю клітин фібробластичного диферону на материнській кістці (М), контроль; б) фіброретикулярна тканина, остеоїд (О) з шаром остеобластів (стрілка) на материнській кістці, перший дослід; в) фіброретикулярна тканина та материнська кістка з осередками остеобластів (стрілка) на її поверхні, другий дослід. Гематоксилін та еозин. Зб. 200

загальної кількості точок-перетинів по периметру імплантаційної порожнини).

Отримані цифрові показники опрацьовували методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента. Результати вважали статистично значущими за умов $p < 0,05$.

Виконане дослідження є фрагментом НДР «Вивчити перебудову кістки в ділянці введення титанових імплантатів під впливом ультразвуку» (держреєстрація № 0111U000071).

Результати та їх обговорення

7 діб після імплантації. На гістопрепаратах метафіза стегнових кісток шурів контрольної групи по периметру імплантаційної порожнини від видалених зразків спостерігали ділянки фіброретикулярної тканини (рис. 1, а). Переважала грануляційна тканина з лімфоцитами, ретикулярними клітинами, поодинокими великими макрофагами, фібробластиками та капілярами різного калібру. Площа фіброретикулярної тканини, $(23,11 \pm 1,4)$ ум. од., була вірогідно меншою (в 1,3 раза) за площу грануляційної — $(29,33 \pm 1,5)$ ум. од. (таблиця). У кортексі та губчастій кістці на межі з імплантатом визначали післятравматичні деструктивні зміни — ділянки без остеоцитів, тріщини, базофілію цементних ліній, осередки роз-

шарування кісткового матриксу та «рідкої кістки». На поверхні окремих кісткових трабекул спостерігали дрібні зазублини. У деяких з них розташовувались остеокласти, що вказує на процеси резорбції кісткової тканини за типом лакунарного розсмоктування. У міжтрабекулярних просторах виявляли значні ділянки некрозу кісткового мозку та кістоподібні порожнини. Репаративні зміни були пов'язані з появою фіброретикулярної тканини в міжтрабекулярних просторах материнської губчастої кістки.

Періост поблизу імплантатів був розширеним переважно через розшарування колагенових волокон внаслідок набряку. Серед останніх виявляли проліферати клітин фібробластичного диферону, а також поодинокі остеобласти.

У шурів обох дослідних груп на відміну від контрольної по периметру імплантаційної порожнини спостерігали переважно фіброретикулярну тканину з високою щільністю фіброblastів та значною кількістю яскраво базофільно забарвлених клітин остеобластичного диферону. Виявляли поодинокі лімфоїдні клітини та макрофаги. Території фіброретикулярної тканини у тварин першого та другого дослідів були вірогідно збільшеними порівняно з контролем — у 1,7 та 1,3 раза відповідно. Осередки грануляційної тканини визначали лише

Таблиця

Відносні площі ($M \pm m$, ум. од.) грануляційної та фіброретикулярної тканин по периметру порожнини від видаленого титанового зразка на 7-у добу після імплантації та дії ультразвуку

| Група експерименту | Кількість досліджених зрізів, n | Тканина | |
|---|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|
| | | грануляційна | фіброретикулярна |
| Контроль (без УЗ) | 18 | $29,33 \pm 1,5$ | $23,11 \pm 1,4$ ¹⁾ |
| Перший дослід (УЗ інтенсивністю $0,4 \text{ Вт/см}^2$) | 16 | $21,67 \pm 1,2$ ²⁾ | $39,33 \pm 1,6$ ^{1), 2)} |
| Другий дослід (УЗ інтенсивністю $0,7 \text{ Вт/см}^2$) | 18 | $24,11 \pm 1,4$ ²⁾ | $30,56 \pm 1,4$ ^{1), 2), 3)} |

Примітки: ¹⁾ — статистично значуща різниця ($p < 0,05$) з показником грануляційної тканини; ²⁾ — статистично значуща різниця ($p < 0,05$) з показником контролю; ³⁾ — статистично значуща різниця ($p < 0,01$) між дослідними групами.



Рис. 2. Фото гістопрепаратів ділянки стінки порожнини від видаленого імплантата через 14 днів після операції: а) щільна сполучна тканина з фібробластиками між колагеновими волокнами, деструктивні зміни материнської кістки, контроль; б) новоутворена кісткова тканина у вигляді дрібнопетлястої сітки молодих трабекул з високою щільністю остеоцитів та остеобластів, перший дослід; в) новоутворені кісткові трабекули та фіброретикулярна тканина з високою щільністю клітин фібробластичного та остеобластичного диферонів, другий дослід. Гематоксилін та еозин. Зб. 200

в ділянці кортексу. Клітинний склад був аналогічним описаному в контрольних тварин. Відмінною була наявність значної кількості кровоносних судин різного діаметру. Площі грануляційної тканини були меншими в 1,21 та 1,35 рази відповідно (таблиця). Подекуди по периметру імплантаційної порожнини формувався остеод (рис. 1, б) та шар остеобластів на материнській кістці (рис. 1, в).

Отримані результати свідчать про активнішу перебудову грануляційної тканини та ранішу остеогенну диференціацію клітин у фіброретикулярній тканині дослідних тварин під впливом застосованого УЗ, що не суперечить даним наукової літератури. Так, в експерименті на щурах за допомогою методу електронної мікроскопії доведено, що в разі застосування УЗ з інтенсивністю коливань до $0,6 \text{ Вт/см}^2$ остеогенна диференціація клітинного регенерату на ранніх стадіях процесу остеорепарації відбувається швидше, ніж у контролі [9]. У дослідженні органної культури зачатків кінцівок 17-добових ембріонів мишей після дії низькоінтенсивного УЗ впродовж 7 днів спостерігали ріст діафіза, який був більшим у три рази, ніж у контролі [13]. Автори пов'язують таку стимуляцію з безпосередньою дією УЗ на проліферацію та диференціацію попередників остеогенних клітин.

У кортексі та трабекулярній кістці на межі з ділянкою імплантації у тварин обох дослідних груп відзначали післятравматичні деструктивні зміни, аналогічні до відмічених у контролі. Проте на відміну від контрольних щурів більша частина міжтрабекулярних просторів, які межували з імплантаційною порожниною, була заповнена червоним кістковим мозком із високою щільністю кровоносних судин і лише місцями виявляли поодинокі осередки некрозу кісткового мозку. На відстані від дефекту в материнській кістці щурів дослідних груп зафіксовані репаративні зміни, які пов'язані з наявністю не тільки

фіброретикулярної тканини у міжтрабекулярних просторах, а й вузьких смужок остеоду на окремих кісткових трабекулах.

Періост поблизу дефекту був потовщеним завдяки гіперплазії волокнистого шару та проліферації клітин фібробластичного диферону. Остеогенний шар був неактивним, спостерігали лише поодинокі клітини остеобластичного диферону. Ознак запалення в періості не виявлено.

14-а доба після імплантації. У щурів контрольної групи по периметру імплантаційної порожнини у вигляді широкої смужки розташовувалася щільна сполучна тканина (рис. 2, а). Її товщина становила $(116,7 \pm 4,1) \text{ мкм}$. На окремих ділянках периметру порожнини виявляли фіброретикулярну тканину з високою щільністю фіброblastів, а також новоутворену кісткову тканину та остеод. На окремих материнських кісткових трабекулах поблизу ділянки імплантації відзначали осередки нашарувань остеобластів.

У щурів обох дослідних груп на відміну від контрольної на значній частині периметру імплантаційної порожнини спостерігали новоутворену кісткову тканину (рис. 2, б, в), остеод та фіброретикулярну тканину з високою щільністю клітин остеобластичного диферону. Лише місцями по периметру імплантаційної порожнини виявляли вузьку смужку щільної сполучної тканини, товщина якої була статистично значущо меншою, ніж у тварин контрольної групи (у 2,2 рази для першого дослідження та у 1,95 рази для другого) (рис. 3).

Молода кісткова тканина по периметру імплантаційної порожнини в дослідних тварин утворювала дрібнопетлясту сітку (рис. 2, б, в), трабекули якої характеризувались значною щільністю остеоцитів та остеобластів на поверхні, округла форма та базофільна цитоплазма котрих свідчать про їх біосинтетичну активність.

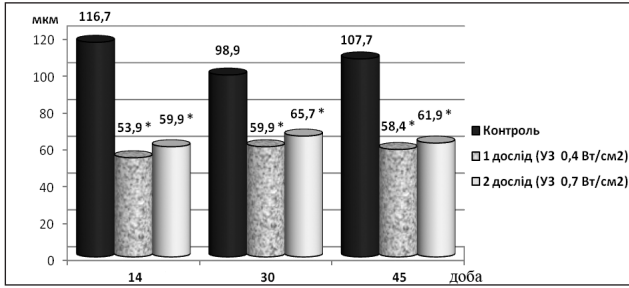


Рис. 3. Діаграма ширини сполучнотканинної капсули навколо титанових зразків після дії УЗ (* — статистично значуща різниця порівняно з контролем)

З метою об'єктивізації відмінностей у структурній організації кісткової тканини навколо імплантаційної порожнини у щурів контрольної та дослідних груп проведено морфометричне дослідження. Встановлено, що у щурів першої та другої дослідних груп порівняно з контролем були вірогідно підвищеними такі показники остеогенезу, як активна остеобластична поверхня (в 2,2 та 1,4 раза відповідно), площа новоутвореної кісткової тканини (в 2,3 та 1,6 раза), а також індекс osteointegraції (в 1,9 та 1,65 раза) (рис. 4).

Встановлені результати вказують на активний перебіг остеорепаративного процесу навколо імплантованих зразків під впливом УЗ. Під час порів-

няння морфометричних показників у щурів двох дослідних груп між собою зафіксовані відмінності. Так, у щурів першого дослід, яким застосовували УЗ інтенсивністю 0,4 Вт/см², були статистично значущо більшою площа новоутвореної кісткової тканини (в 1,4 раза) та активна остеобластична поверхня (в 1,6 раза), ніж у тварин другого дослід (УЗ інтенсивністю 0,7 Вт/см²). Різниця показників індексу osteointegraції між дослідними групами була статистично незначущою.

У науковій літературі є інформація про позитивний вплив УЗ низької інтенсивності на активність «дозрівання» кісткового регенерату. Так, в експерименті на щурах в умовах моделювання перелому стегна та застосування низькоінтенсивного УЗ методом кісткової денситометрії встановлено, що вже на початковій стадії остеорепарації мінеральна щільність регенерату та прилеглої кістки вірогідно вища порівняно з контролем [15].

S. H. Sadraie і співавт. [10] спостерігали в остеобластах кісткового регенерату кролів після дії УЗ інтенсивністю 30 мВт/см² розвинуту ендоплазматичну сітку з великою кількістю рибосом у раніші терміни, ніж у контрольних тварин. Наявність у клітинах таких органел свідчить про активний біосинтез білків.

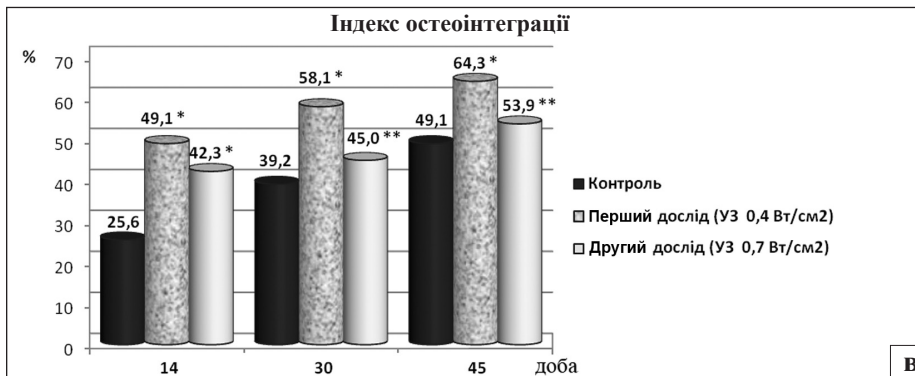
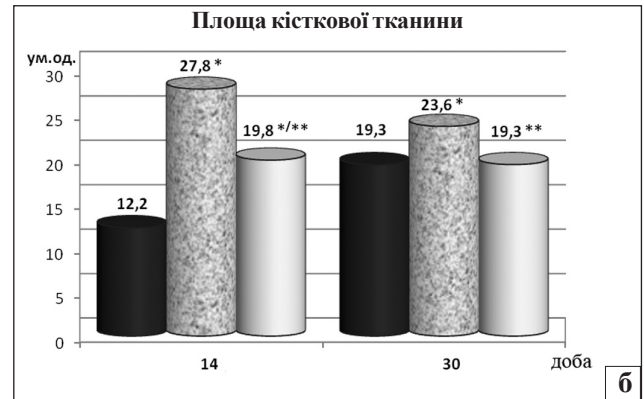
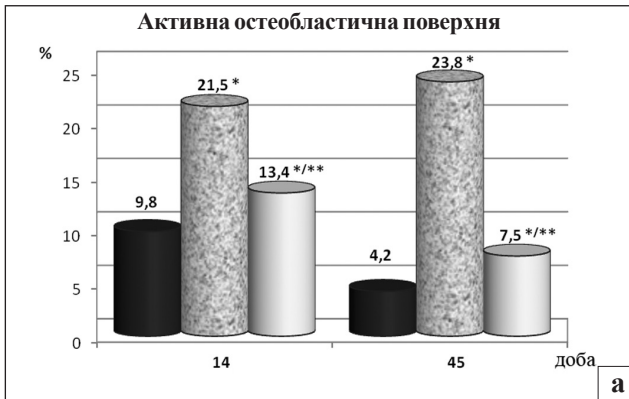


Рис. 4. Діаграми показників перебудови кісткової тканини навколо титанових імплантатів після дії УЗ: а) активна остеобластична поверхня; б) площа новоутвореної кісткової тканини; в) індекс osteointegraції (* — статистично значуща різниця порівняно з контролем; ** — статистично значуща різниця між першим і другим дослідом)

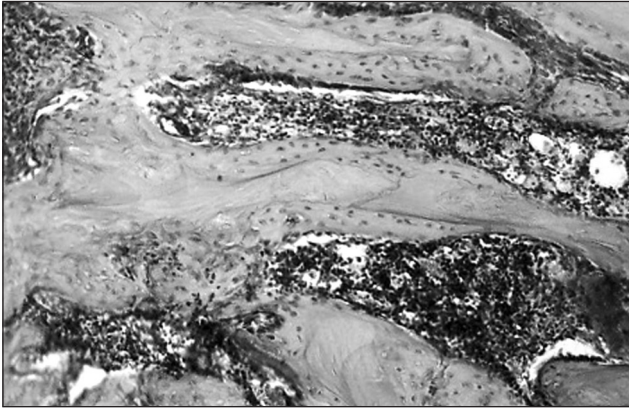


Рис. 5. Фото гістопрепарату. Материнські кісткові трабекули з нашаруванням молодого кісткової тканини. 14-а доба, перший дослід. Гематоксилін та еозин. Зб. 200

У материнській компактній та губчастій кістці на межі з імплантатом на цей термін дослідження в щурів обох дослідних груп лише на окремих ділянках виявляли ознаки післятравматичної перебудови. Репаративні зміни в материнській кістці на відстані від ділянки імплантації були пов'язані з формуванням на ушкоджених кісткових трабекулах прошарків остеоїду та молодого кісткової тканини з високою щільністю остеоцитів та остеобластів на поверхні (рис. 5).

У більшій частині міжтрабекулярних просторів материнської кістки містився червоний кістковий мозок, в якому виявляли численні розширені мікросудини, заповнені еритроцитами. Відомо, що васкуляризація — необхідний та важливий етап остеорепарації та osteointegration імплантатів, бо стан мікроциркуляції впливає на диференціацію остеобластів та осифікацію тканин. Зафіксоване в дослідних тварин на 7 та 14-у добу збільшення щільності судин різного діаметру в грануляційній тканині та кістковому мозку міжтрабекулярних просторів узгоджується з результатами дослідження G. J. Della Rocca [7], який в експериментах *in vivo* довів, що дія УЗ позитивно впливає на ангиогенез, а ще з результатами B. G. Dijkman і співавт. [8], які в культурі клітин спостерігали підвищення експресії судинного ендотеліального фактора росту остеобластами та періостальними клітинами в разі застосування УЗ низької інтенсивності.

Періост поблизу ділянки імплантації був товщеним завдяки фібробластичному шару і проліферації клітин остеобластичного диферону.

30-а доба після імплантації. Значних якісних відмінностей у структурній організації тканин навколо ділянки імплантації титанових зразків порівняно з описаними на 14-у добу в усіх досліджених щурів не встановлено. У тварин обох дослідних груп

по периметру імплантаційної порожнини волокниста сполучна тканина розташовувалася на невеличких ділянках, водночас у контрольних щурів її території були значними, а ширина смужки цієї тканини перевищувала показник контролю в 1,65 та 1,5 раза для першого і другого дослідів відповідно (рис. 3). Площа новоутвореної кісткової тканини в ділянці імплантації в контрольних тварин збільшилась від попереднього терміну дослідження, проте була меншою в 1,2 раза порівняно з першим дослідом, а від показників другого не відрізнялась (рис. 4, б).

У щурів дослідних груп новоутворена кісткова тканина мала переважно пластинчасту структуру, тобто була зрілою. Індекс osteointegration був вищим у першому і другому досліді за показник контрольних тварин в 1,5 та 1,15 раза відповідно. Порівняння морфометричних показників osteogenesis між першим і другим дослідом показало, що площа новоутвореної кісткової тканини та індекс osteointegration були більші у першому досліді в 1,2 та 1,3 раза відповідно (рис. 4, б, в).

У материнській компактній та трабекулярній кістці поблизу імплантата в контрольних щурів зберігались відмічені на попередньому терміні дослідження післятравматичні зміни. Репаративні явища були пов'язані з формуванням фібронетикулярної тканини в судинних каналах та тріщинах на кісткових трабекулах. На окремих материнських кісткових трабекулах виявлені нашарування остеоїду.

У дослідних щурів переважали остеорепаративні зміни. Спостерігали значні території новоутвореної кісткової тканини та ділянок нашарування остеоїду на окремих материнських трабекулах. На відстані від імплантата трабекулярна та компактна кістка не мали порушень структурної організації. У періості поблизу зони імплантації відзначено активацію остеогенного шару та формування новоутворених кісткових трабекул.

45-а доба після імплантації. У тварин контрольної групи навколо зони імплантації виявлені значні території фібронетикулярної та сполучної тканини. Товщина щільної сполучної тканини статистично незначуще відрізнялась від встановленої на 14-у добу (рис. 3). Пластинчаста кісткова тканина розташовувалась вузькою смужкою на невеличких ділянках по периметру імплантаційної порожнини. Подекуди на новоутвореній кістковій тканині виявляли прошарки щільної сполучної тканини (рис. 6, а). Відмічені також новоутворені кісткові трабекули з високою щільністю остеоцитів. Межа з'єднання новоутворених кісткових трабекул з материнськими чітко визначалась. Індекс osteointegration підвищився в 1,25 раза порівняно з 30-ю



Рис. 6. Фото гістопрепаратів. Ділянка імплантації титанових зразків через 45 днів після операції: а) новоутворена пластинчаста кісткова тканина. Прошарок щільної сполучної тканини на її поверхні, контроль; зріла пластинчаста кісткова тканина з судинними каналами, заповненими кістковим мозком, перший (б) та другий (в) дослід. Гематоксилін та еозин. $\times 360$

добою та в 1,9 раза порівняно з 14-ю (рис. 4, в). Материнські кісткові трабекули на цей термін також зберігали сліди післятравматичної перебудови, лише на окремих кісткових трабекулах виявлені нашарування остеоїду. Структура компактної кістки навколо імплантата відрізнялась від материнської топографією розташування остеонів та судинних каналів, деякі з них були порожніми та розширеними.

У тварин обох дослідних груп на відміну від контрольної по периметру порожнини від видаленого імплантата спостерігали новоутворену кісткову тканину пластинчастої структури (рис. 6, б, в). У зоні губчастої кістки розташовувалась новоутворена кісткові трабекули, які формували дрібно- та великопетлясту сітку. На значній частині кісткових трабекул виявляли ланцюги остеобластів. У зоні кортексу була новоутворена компактна кістка, структурна організація якої відрізнялась від материнської орієнтаційним розташуванням остеонів та судинних каналів. Фіброретикулярну тканину з клітинами остеобластичного диферону та тонкі смужки щільної сполучної тканини спостерігали лише на невеликих ділянках по периметру імплантата. Товщина сполучної тканини у шурів першого та другого дослідів була меншою за показник контролю в 1,8 та 1,7 раза відповідно (рис. 3).

Сліди післятравматичної перебудови кісткової тканини зберігались лише на поодиноких материнських кісткових трабекулах поблизу імплантаційної порожнини. Висока щільність остеобластів на поверхні материнських кісткових трабекул у шурів першого та другого дослідів обумовила збільшений порівняно з контролем показник активної остеобластичної поверхні (в 5,7 та 1,8 раза відповідно). Індекс остеоінтеграції був вірогідно більшим у першому досліді, ніж у контролі (в 1,3 раза), водночас у другому досліді він статистично незначуще відрізнявся від контрольного показника (рис. 4, в). Це свідчить про позитивну дію УЗ з інтенсивністю коливань

$0,4 \text{ Вт/см}^2$ на перебіг остеоінтеграції. Визначити в зоні імплантації площу новоутвореної кісткової тканини було неможливо, бо межа її з'єднання з материнською, особливо в ділянці губчастої кістки, майже не простежувалась. Періост поблизу зони імплантації був представлений тонким шаром кісткових трабекул.

Інформація про механізм дії УЗ на кісткоутворення в умовах імплантації біоматеріалів перебуває на стадії накопичення. Нині відомо, що одним із механізмів стимуляції репаративного остеогенезу як навколо біоматеріалів, так і після переломів є підвищення клітинної адгезії завдяки експресії фібронектину, а стимуляція формування кісткового регенерату може відбуватися завдяки індукції в остеобластах експресії факторів росту [11, 12, 15]. Необхідно підкреслити, що більшість зарубіжних дослідників виконували експерименти з імпульсним низькоінтенсивним УЗ, інтенсивність коливань якого становила від 30 до 70 мВт/см², і лише в деяких роботах використано УЗ з інтенсивністю коливань від 0,6 до 0,8 Вт/см². При цьому дію УЗ починали в різні терміни після імплантації біоматеріалів та застосовували впродовж різного часу (від 7 до 28 днів) [4].

Отже, у дослідженні особливостей перебудови кістки навколо металевих фіксувальних систем в умовах дії УЗ існує чимало невирішених питань, а саме: аналіз швидкості та якості кісткоутворення залежно від інтенсивності УЗ, визначення оптимального терміну дії УЗ від хірургічного втручання і стадії регенерації кістки, загальної тривалості лікування тощо. Подане дослідження свідчить про важливість розробок щодо впливу імпульсного УЗ різної інтенсивності коливань.

Висновки

Імпульсний УЗ, застосований з 3-ї доби (кінець першої та початок другої стадії остеоінтеграції) після імплантації титанових зразків, не порушує

стадійності остеорепаративного процесу. Відповідно до стадій репаративного остеогенезу навколо імплантатів формуються грануляційна, фіброретикулярна та кісткова тканина. УЗ з інтенсивністю коливань 0,4 та 0,7 Вт/см² прискорює перебудову грануляційної тканини у фіброретикулярну, на що вказують статистично значуще більші порівняно з контролем території фіброретикулярної (у 1,7 та 1,3 раза відповідно) та менші площі грануляційної тканини (у 1,35 та 1,2 раза відповідно). Про активацію ангиогенезу свідчить значна щільність кровоносних судин різного діаметру в грануляційній тканині та кістковому мозку міжтрабекулярних просторів материнської кістки.

В умовах застосування УЗ інтенсивністю 0,4 та 0,7 Вт/см² у фіброретикулярній тканині виявлена значна щільність клітин остеобластичного диферону, чим обумовлено формування остеоїду та грубо-волоконистих кісткових трабекул навколо титанового зразка вже на 7-у добу після його імплантації, що не встановлено в контрольній групі. На всіх подальших термінах дослідження процес кісткоутворення в ділянці імплантації активніше перебігав у тварин, яким застосовували УЗ інтенсивністю 0,4 Вт/см², про що свідчать найвищі показники площі новоутвореної кісткової тканини та індексу остеоінтеграції.

У перспективі одержані результати особливостей перебудови кісткової тканини в ділянці імплантації титанових зразків після дії низькоінтенсивного імпульсного УЗ стануть основою для обґрунтування показань і розроблення методики його використання в пацієнтів після реконструктивно-відновлювальних хірургічних втручань із застосуванням фіксувальних пристроїв.

Список літератури

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия / Г. Г. Автандилов. — М.: Медицина, 1990. — 381 с.
2. Дедух Н. В. Остеоінтеграція кісткової тканини з титановими імплантатами / Н. В. Дедух, С. В. Малишкіна // Ортопедия, травматология и протезирование. — 2010. —

- № 1. — С. 45–49.
3. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Страсбург, 18 березня 1986 року: офіційний переклад [Електронний ресурс]. — Режим доступу: http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?reg=994_137.
4. Малишкіна С. В. Влияние импульсного низкоинтенсивного ультразвука на остеоинтеграцию имплантатов (обзор литературы) / С. В. Малишкіна, В. И. Маколинет, И. В. Вишнякова // Ортопедия, травматология и протезирование. — 2012. — № 2. — С. 122–130.
5. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника. Руководство / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов. — М.: Медицина, 1996. — 544 с.
6. Шимон В. М. Покриття на титанові імплантати та остеоінтеграція / В. М. Шимон, С. В. Малишкіна, Н. В. Дедух // Український медичний альманах. — 2010. — № 5. — С. 239–244.
7. Della Rocca G. J. The science of ultrasound therapy for fracture healing / G. J. Della Rocca // Indian. J. Orthop. — 2009. — Vol. 43, № 2. — P. 121–126.
8. Dijkman B. G. Low-intensity pulsed ultrasound: Nonunions / B. G. Dijkman, S. Sprague, M. Bhandari // Indian J. Orthop. — 2009. — Vol. 43, № 2. — P. 141–148.
9. Effects of different therapeutic ultrasound intensities on fracture healing in rats / C.-H. Fung, W.-H. Cheung, N. M. Pounder [et al.] // Ultrasound Med. Biol. — 2012. — Vol. 38, № 5. — P. 745–752.
10. Effects of low intensity pulsed ultrasound on healing of denervated tibial fracture in the rabbit / S. H. Sadraie, Gh. R. Kaka, M. Mofid [et al.] // Iran. Red Crescent Med. J. — 2011. — Vol. 13, № 1. — P. 34–41.
11. Effects of near-field ultrasound stimulation on new bone formation and osseointegration of dental titanium implants in vitro and in vivo / S. K. Hsu, W. T. Huang, B. S. Liu [et al.] // Ultrasound Med Biol. — 2011. — Vol. 37, № 3. — P. 403–416.
12. Low-intensity pulsed ultrasound accelerates fracture healing by stimulation of recruitment of both local and circulating osteogenic progenitors / K. Kumagai, R. Takeuchi, H. Ishikawa [et al.] // J. Orthop. Res. — 2012. — Vol. 30, № 9. — P. 1516–1521.
13. Low-intensity pulsed ultrasound for bone healing: an overview / K. N. Malizos, M. E. Hantes, V. Protopoulos, A. Papachristos // Injury Int. Care Injured. — 2006. — Vol. 37S. — P. 56–62.
14. The evidence of low-intensity pulsed ultrasound for in vitro, animal and human fracture healing / M. P. de Albornoz, A. Khanna, U. G. Longo [et al.] // Br. Med. Bull. — 2011. — Vol. 100. — P. 39–57.
15. Ultrasound for fracture healing: current evidence / Y. Watanabe, T. Matsushita, M. Bhandari [et al.] // J. Orthop. Trauma. — 2010. — Suppl. 1. — P. 56–61.

DOI: <http://dx.doi.org/10.15674/0030-59872014316-23>

Стаття надійшла до редакції 15.03.2014

EFFECT OF PULSED ULTRASOUND ON OSTEOREPARATION PROGRESS IN THE AREA OF IMPLANTATION OF TITANIUM SAMPLES (EXPERIMENTAL STUDY)

S. V. Malyshkina, V. I. Makolinet, O. A. Nikolchenko, I. V. Vyshnyakova, T. M. Grashchenkova

SI «Sytenko Institute of Spine and Joints Pathology National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv