

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

ЗЕЛЕНСЬКА НАТАЛІЯ ВОЛОДИМИРІВНА  
УДК 616.71-013.34-06:[366.238](043.5)

МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ КІСТКИ ПРИ ВВЕДЕННІ  
МЕТАЛЕВИХ ІМПЛАНТАТІВ РІЗНОГО СКЛАДУ

14.03.01 – нормальна анатомія

дисертація  
на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних наук

Науковий керівник -  
Погорелов Максим Володимирович,  
доктор медичних наук, доцент

СУМИ – 2017

## ЗМІСТ

ВСТУП .....	с. 3
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ .....	с. 8
1.1. Будова кістки та процеси ремоделювання навколо імплантату..	с. 9
1.2. Регуляція процесів остеоінтеграції навколо імплантатів різного складу.....	с. 19
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ .....	с. 29
РОЗДІЛ 3. ОСОБЛИВОСТІ РОСТУ, БУДОВИ, ХІМІЧНОГО СКЛАДУ ТА МІКРОТВЕРДОСТІ КІСТОК ТВАРИН ІНТАКТНОЇ ТА КОНТРОЛЬНОЇ СЕРІЙ.....	с. 34
3.1. Ріст, будова, хімічний склад та мікротвердість кісткової тканини інтактних тварин.....	С. 34
3.2. Ріст, будова, хімічний склад та мікротвердість кісткової тканини різних відділів стегнової кістки після нанесення дірчастого дефекту.....	С. 39
РОЗДІЛ 4. ОСОБЛИВОСТІ РОСТУ, БУДОВИ, ХІМІЧНОГО СКЛАДУ ТА МІКРОТВЕРДОСТІ КІСТОК ТВАРИН ПРИ ІМПЛАНТАЦІЇ МЕТАЛЕВИХ СПЛАВІВ РІЗНОГО СКЛАДУ .....	с. 51
4.1. Ріст, будова, хімічний склад та мікротвердість стегнової кістки при імплантації сплаву TiVT6.....	с. 51
4.2. Ріст, будова, хімічний склад та мікротвердість стегнової кістки при імплантації сплаву КТЦ-125.....	с. 67
4.3. Ріст, будова, хімічний склад та мікротвердість стегнової кістки при імплантації сплаву КТЦ-125 з гідроксиапатитним покриттям...	с. 83
4.4. Ріст, будова, хімічний склад та мікротвердість стегнової кістки при імплантації сплаву $\beta$ (Ti-Zr).....	с. 98
4.5. Ріст, будова, хімічний склад та мікротвердість стегнової кістки при імплантації сплаву $\beta$ (Ti-Zr) з гідроксиапатитним покриттям.....	с. 111
РОЗДІЛ 5. ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ .....	с. 123
ВИСНОВКИ .....	с. 137
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ .....	с. 140
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....	с. 141
ДОДАТОК А .....	с. 162

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Використання металевих імплантатів бере свій початок з середини 20 сторіччя, коли почали широко використовувати простези з нержавіючої сталі для пластики кульшового суглоба [78]. Зважаючи на значну кількість ускладнень, які призводили до необхідності повторної операції із заміни простезу, на сьогодні в клінічну практику впроваджені імплантати зі сплавів титану, алюмінію, ванадію, танталу, цирконію тощо, які часто комбінуються з синтетичним чи природним покриттям на кшталт гідроксиапатиту для покращення їх біосумності.

Не зважаючи на значні успіхи в імплантології, кількість післяопераційних ускладнень залишається значною. Так, за даними різних авторів, необхідність повторної операції після відновлення шийки стегна складає від 10% до 64%, а необхідність заміни дентального імплантату через 5 років досягає 10% [107, 117, 118]. На відсоток ускладнень в першу чергу впливає вік пацієнта, стан кісткової тканини до операції та біологічні і біомеханічні властивості імплантатів. Більшість авторів пов'язують наявність ускладнень з локальними змінами кісткової тканин внаслідок явища стресового зміщення з подальшим розвитком гіпермобільності імплантату та його недостатності [108]. Стресове зміщення виникає внаслідок невідповідності між модулем пружності імплантату та кісткової тканини, яка його оточує. В нормі, навантаження, яке діє на орган рівномірно розподіляється кістковою тканиною, що визначає активність процесів ремоделювання і формоутворення органу [139]. За умов імплантації матеріалу з високим модулем пружності, більша частина навантаження сприймається безпосередньо штучним протезом і навколо нього формується зона низької щільності, що призводить до втрати кісткової тканини навколо матеріалу.

Іншим фактором, який впливає на інтерфейс «кістка-імплантат» є остеоінтегративні властивості простезу, які залежать в основному від виду

матеріалу та структури його поверхні [139]. Значною мірою вплив на даний процес має покриття імплантату, яке може значно підвищити остеointegraцію простезу [56, 162].

Таким чином, на сьогодні є достатньо даних щодо процесів взаємодії в системі «кісткова тканина – імплантат», що дозволяє впливати на процеси остеointegraції простезу шляхом покращення поверхні матеріалу чи зміни складу імплантату [1, 8, 97]. Проте, наявність стороннього тіла в кістці може змінювати не лише оточуючі тканини, а й впливати на орган у цілому. Зміна біомеханічних параметрів органу має відобразитись у компенсаторних реакціях, які призведуть до перебудови кістки в цілому [1]. З іншого боку, під час використання, металеві імплантати піддаються процесам електрохімічної корозії та механічного зносу, що обумовлює вивільнення їх складових в оточуючі тканини [16]. Так, протягом року колінний суглоб виконує біля 1 млн рухів, ще більша кількість циклів навантаження спостерігається на зубні простези, тому проблема механічного зносу імплантатів є актуальною на сьогодні [107]. Елементи простезів, що вивільнюються у оточуючі тканини можуть мати як локальну дію на орган, так і системну, обумовлюючи комплексний вплив на організм пацієнта [90].

На сьогодні недостатньо вивченою є проблема змін віддалених ділянок кістки у ранній післяопераційний та віддалений періоди після імплантації металевих простезів та імплантатів з модифікованою поверхнею [5]. Одним з найбільш перспективних матеріалів в сучасній імплантології є сплави на основі цирконію через їх оптимальні біологічні та біомеханічні властивості. При цьому, в клінічній практиці використовуються як чисті сплави, так і матеріали з біоактивним покриттям. Найбільш доступним та біологічно активних матеріалів для покриття імплантатів є гідроксиапатит кальцію та аморфний фосфат кальцію [4, 85]. Проте, досліджень впливу таких матеріалів як покриття цирконій-вмісних простезів на кісткову тканину навколо імплантату та на віддалених ділянках органу недостатньо.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація виконана відповідно до плану наукових досліджень Сумського державного університету і є складовою частиною науково-дослідної теми другої половини дня Сумського державного університету «Дослідження процесів остеоінтеграції дентальних імплантатів різного складу» (№ держреєстрації 0215U001812).

**Мета і завдання дослідження.** Метою нашої роботи було встановлення особливостей будови, механічних властивостей та хімічного складу стегнової кістки після імплантації металевих простезів різного складу.

Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

1. З метою проведення коректного порівняльного аналізу в експерименті визначити морфо-функціональні особливості кісткової тканини та біомеханічні параметри кістки після формування дірчастого дефекту.
2. Визначити особливості будови та біомеханічних параметрів стегнової кістки при імплантації титанового сплаву TiVT6 (TiVT6).
3. Вивчити особливості будови періімплантаційної зони, діафізу та проксимальних відділів стегнової кістки після імплантації в дистальний епіфіз металевих сплавів - КТЦ-125 та  $\beta$ -(Ti-Zr).
4. Визначити особливості будови та біомеханічних параметрів стегнової кістки при використанні сплавів КТЦ-125 та  $\beta$ -(Ti-Zr) з гідроксиапатитним покриттям.
5. Визначити особливості елементного складу періімплантаційної зони та проксимальних відділів стегнової кістки в різні терміни після імплантації сплавів TiVT6, КТЦ-125 та  $\beta$ -(Ti-Zr) а також їх модифікації за допомогою гідроксиапатитного покриття.

*Об'єкт дослідження* – процеси остеоінтеграції металевих імплантатів.

*Предмет дослідження* – будова кісткової тканини та процеси остеоінтеграції металевих імплантатів різного складу TiVT6, КТЦ-125 та  $\beta$ -(Ti-Zr).

*Методи дослідження:*

- остеометрія – для оцінки процесів росту стегнової кістки після імплантації металевих простезів;
- гістологічний метод – для визначення особливості будови періімплантаційної зони та віддалених ділянок кістки в процесі остеоінтеграції;
- гістоморфометрія – для визначення кількісних змін будови кісткової тканини в процесі остеоінтеграції металевих простезів;
- растрова електронна мікроскопія з мікроаналізом – для вивчення особливостей будови поверхні кісткової тканини та імплантатів і визначення розподілу хімічних елементів в різних ділянках ушкодженої кістки;
- визначення мікротвердості кісткової тканини – для оцінки якості кісткової тканини в різні терміни після введення металевих імплантатів;
- статистичний – для визначення достовірності отриманих відмінностей кількісних показників.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше на достатньому експериментальному матеріалі встановлені зміни в ділянках стегнової кістки при імплантації сплавів різного складу. Встановлені особливості процесів остеоінтеграції в залежності від виду сплаву та наявності гідроксиапатитного покриття. Доведені структурні зміни діяфізу та дистального епіфізізу в ранні та віддалені періоди після імплантації металевих простезів та прослідковані особливості змін в залежності від типу імплантату. В роботі визначені зміни хімічного складу у віддалених від місця імплантації ділянках кістки, які викликані процесами дифузії складових компонентів імплантату та встановлений факт зменшення вивільнення елементів за умов нанесення гідроксиапатитного наплення на поверхню імплантатів.

Визначені особливості показників мікротвердості кісткової тканини в різних ділянках органу в залежності від типу імплантату та встановлена можливість зменшення втрати міцності кістки при використанні гідроксиапатитного покриття.

**Практичне значення отриманих результатів.** Дані щодо змін будови та біомеханічних властивостей кісткової тканини в залежності від складу імплантату та особливостей його поверхні можуть бути використані для розробки нових протезів з підвищеними біоміметичними властивостями. Отримані результати можуть слугувати морфологічним підґрунтям для вибору типу імплантатів в клініках ортопедії та при протезуванні зубо-щелепного апарату. Встановлені особливості будови, хімічного складу та біомеханічних параметрів кісткової тканини в процесі остеоінтеграції металевих імплантатів можуть бути використані в практичній роботі клінік ортопедії та травматології, імплантології, щелепно-лицевої хірургії.

Результати експериментальних досліджень впроваджені у навчальний процес на кафедрах анатомії людини Буковинського державного медичного університету, Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, Дніпропетровського державного медичного університету, Запорізького державного медичного університету, кафедрі пропедевтичної та хірургічної стоматології Запорізького державного медичного університету, відділені щелепно-лицевої хірургії Запорізької лікарні екстреної та швидкої медичної допомоги.

**Особистий внесок дисертанта.** Дисертантом здійснений інформаційний пошук літературних даних, самостійно проведені всі експериментальні дослідження, статистичне опрацювання результатів і їхній аналіз. Автором проведено узагальнення отриманих результатів, підготовлені праці до друку і висновки дисертації.

**Апробація результатів дисертації.** Основні матеріали дисертації обговорені на науково-практичних конференціях студентів та молодих вчених Сумського державного університету, м. Суми (2014, 2015), науково-практичній конференції «Морфологічні дослідження – виклики сучасності», м. Суми (2015), IV Міжнародній конференції «Розвиток науки у XXI сторіччі», м. Харків (2015), VI Національному конгресі анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України, Запоріжжя (2015).

**Публікації.** Основний зміст дисертаційної роботи відображений у 8 наукових працях, з яких – 5 у фахових наукових журналах, 3 у матеріалах конференцій, 1 стаття опублікована у журналі, який індексується НМБД «SCOPUS». З них 5 наукових роботи опубліковано одноосібно.



## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1. Будова кістки та процеси ремоделювання навколо імплантату

Скелет ссавців та людини забезпечує зовнішню форму тіла та його підтримку у просторі. В процесі еволюції кістка сформувала багаторівневу ієрархічну структуру, яка представлена від макроскопічного до молекулярного рівня [149, 167]. При цьому сформована структура має унікальні властивості, які здатні забезпечити одночасно пружність та гнучкість, міцність та легкість а також стабільність складу та здатність до самовідновлення [190].

Перший рівень ієрархічної будови кістки представлений мінералізованим тропоколагеном, яким само збирається в четвертичну структуру діаметром біля 150 нм та стабілізований боковими зв'язками на кінцях молекули [84]. Наступний рівень відповідає структурам, які утворені в результаті енуклеації і росту кристалів гідроксиапатиту в проміжках та борідках між окремими молекулами четвертинної структури колагену. Мінеральний компонент являє собою пластинкоподібні кристали нестехіометричного гідроксиапатиту розміром біля 45x20x3 нм [159]. Даний процес має назву – інтерфібрилярна кристалізація та відбувається одночасно з екстрафібрилярною кристалізацією, яка включає в себе формування кристалічних агрегатів навколо вже мінералізованих молекул колагену. Таким чином відбувається формування ембріональної грубоволокнистої кісткової тканини. Наступне ремоделювання призводить до формування кісткових пластинок з упорядкованими колагеновими волокнами та стабільною мінералізацією. Лакуни між пластинами вміщують сформовані кісткові клітини – остецити, які на ряду з остеобластами та остеобластами являють собою третій рівень організації. Остецити формують сітку, яка забезпечує підтримку постійної структури та функції кістки. Дана сітка є

сенсорним механізмом, яка відповідає за модуляцію механічних сигналів в біохімічні стимули. Даний механізм забезпечує постійну адаптацію структури кістки до впливів зовнішнього середовища, зокрема, механічного навантаження [127].

Концентрично розташовані кісткові пластинки формують остеони, які є структурно-функціональною одиницею зрілої компактної кісткової тканини. Вони представлені циліндричними структурами, витягнутої форми, які розташовані навколо Гаверсових каналів [126]. Таке розташування кісткових пластинок (з формуванням остеонів) є основою для міцності кістки на згинання. Гаверсові канали є основними комунікаційними системами в кортикальній кістковій тканині, оскільки вміщують нерви та судини, які живлять остецити. Трабекулярна кістка представлена кістковими пластинками, які формують трабекули, що утворюють сітку. Таке розташування забезпечує більшу витривалість до впливу компресійних навантажень. Трабекули вкриті вистилаючими кістковими клітинами – остеобластами, які приймають безпосередню участь у процесах утворення та резорбції кістки. Зовні кістка вкрита окістям, і разом з червоним кістковим мозком, який розташований у центральній частині органу, формують останній – органний, рівень кістки, як органу [18].

Кістка є динамічною системою, яка постійно оновлюється упродовж усього життя за допомогою процесів кісткового ремоделювання [17]. Цей процес є необхідний для заміщення молодшої кісткової тканини на зрілу в процесі росту організму, для заміщення ішемізованої чи пошкодженої кісткової тканини та для забезпечення гомеостазу кальцію. Ремоделювання кістки відбувається також при зміні механічних навантажень на орган, в тому числі й після протезування. Ремоделювання кісткової тканини забезпечують три типи клітин – остеокласти, які резорбують «стару» кісткову тканину, остеобласти, які забезпечують синтез колагену та його мінералізацію, а також остецити, які відіграють механосенсорну функцію [62, 88, 116].

Остеокласти являють собою багатоядерні структури (симпласти) з розмірами від 150 до 180 мкм. Дані клітини мають гематогенне походження, основним попередниками остеобластів є моноклеарні клітини, які під впливом стимулюючих факторів зливаються з утворенням остеокластів [23, 166]. Маркерами остеокластів є синтез тартрат-резистентної кислоти фосфатази, експресію кальцитонінових та вітронектинових рецепторів.

Колонієстимулюючий фактор-1 (CSF-1) та RANKL (рецептор активатор NF- $\kappa$ B ліганду) є критичними цитокінами для виживання, експансії та диференціації остеокластів *in-vitro* [26, 71, 81]. *In-vivo*, залежність диференціації остеокластів від даних цитокінів продемонстрована на моделі мишей з виключенням продукції даних факторів росту [100, 101]. Відсутність у мишей CSF-1 призводило до розвитку остеопетрозу, що пов'язано з недостатньою функцією остеокластів [70, 76]. Абляція гену, відповідального за експресію RANKL також призводило до надмірного утворення кісткової тканини, що було викликане повною відсутністю остеокластів через блокування їх диференціації [37]. Остеопротегерін (OPG), розчинний рецептор RANKL, має негативну регуляцію остеокластогенезу і його блокування призводило до розвитку остеопорозу у мишей через надмірну диференціацію остеокластів [73]. Таким чином, RANKL/OPG-співвідношення є основним чинником, який регулює диференціацію та функцію остеокластів [12].

В процесі диференціації остеокластів з мієлоїдних клітин велике значення мають деякі фактори транскрипції. Так, експресія ETS фактора транскрипції PU.1 в процесі ранньої диференціації мієлоїдних клітин є обов'язковою для утворення остеокластів. У мишей з відсутністю фактора PU.1 відбувалось порушення утворення макрофагів та остеокластів, а *in-vitro* диференціація остеокластів корелювала зі збільшенням експресії PU.1 [27, 74]. AP-1 фактор транскрипції c-Fos також є необхідним в процесі утворення остеокластів. Дефіцит даного фактору призводить до зменшення кількості остеокластів у мишей, проте не впливає на диференціацію макрофагів [39].

Таким чином, можна стверджувати, що фактор транскрипції c-Fos є вторинним після ETS фактора транскрипції PU.1, так як перший не впливає на кількість макрофагів. Транскрипційні фактор MITF та NFATc1 також є критичними в утворенні повноцінних остеокластів, так як впливають на експресію генів тартрат-резистентної кислої фосфатази, катепсіна К та кальцитонінових рецепторів [34, 80, 98, 105].

Остеобласти є основним клітинним дифероном зрілої кісткової тканини. Джерелом даних клітин в дорослому організмі є камбіальні клітини окістя, ендосту та червоного кісткового мозку. Доведена можливість утворення остеобластів також з периваскулярних клітин кровоносних судин [44]. Остеобласти синтезують більшість компонентів органічного матриксу – колаген I типу, лужну фосфатазу, остеокальцин, кістковий сіалопротеїн, остеопонтин, кісткові морфогенетичні білки, трансформуючі фактори росту, тромбоспондин, остеоонектин, колагеназу та ін [153]. Проте дані молекули не є унікальними для остеобластів і лише їх комбінація дає можливість стверджувати про остеобластичний фенотип.

В процесі перелому, травми чи хірургічного втручання кровотеча та доставка медіаторів запалення є пусковим процесом регенерації [191]. При введенні металевого імплантату в кісткову тканину, кров є першою тканиною, яка контактує з його поверхнею. Доведено, що тромбоцити абсорбуються на поверхні титанових імплантатів вже в перші секунди після його введення [112]. Тромбоцити є ключовим фактором на перших етапах процесу регенерації та має вплив на віддалені наслідки процесу за живлення. Активація тромбоцитів призводить до вивільнення значної кількості медіаторів, які регулюють внутрішньоклітинні процеси та міжклітинну взаємодію. Деяким авторами висунута теорія про можливість активації тромбоцитів під час контакту з поверхнею імплантату, проте наявність тромбоцит активуючої активності титану є доволі спірною [64, 143].

Утворення тромбу навколо імплантату відбувається за зовнішнім шляхом активації гемостазу. Такі кофактори, як тромбін, АДФ, тромбоксан

A2 тощо, які містяться в міжклітинному просторі чи вивільняються з клітин (активовані тромбоцити, ендотеліальні клітини та поліморфоядерні гранулоцити), призводять до активації тромбоцитів. Це в свою чергу призводить до вивільнення з тромбоцитів АДФ, АТФ, серотоніну, кальцію, фібриногену, фібронектину, фактору вон-Вілебранду та деяких факторів росту [32]. Механічні чинники, такі як тертя під час імплантації чи експлуатації протезу також можуть призводити до механічного ушкодження тромбоцитів і вивільнення їх гранул [113]. Під час активації тромбоцити експресують на своїй мембрані глікопротеїнові рецептори адгезії (GPIb, GPIIb/IIIa), що дозволяє їм зв'язуватись з молекулами адгезії, такими як фібриноген, фібронектин, вітронектин тощо [59]. Клітини також взаємодіють з іншими тромбоцитами, формуючи постійний, механічно стабільний тромб в фібриновій сітці [87].

Формування стабільного тромбу навколо імплантату є першим кроком в формуванні механічних та біохімічних стимулів для процесу міграції клітин. Протеїни клітинної адгезії а також тромбоцитарні і плазмові фактори росту, які інкорпоровані у фібриновому згустку, виступають у якості хімічних атрактантів для оточуючих клітин [114]. Деякі з даних міогенів безпосередньо асоційовані з остеогенними клітинними функціями. Так, фактор TGF- $\beta$  стимулює ранню проліферацію остеопрогеніторних клітин та їх міграцію за SMAD-опосередкованим сигнальним шляхом [49, 144]. PDGF є сильним міогеном для клітин сполучної тканини, VEGF – ініціює процеси ангиогенезу шляхом активації міграції і проліферації ендотеліоцитів [52].

Ангиогенез в ділянці травми є критичним для процесу регенерації кісткової тканини та osteointegraції металевих імплантатів. Затримка утворення судин призводить до уповільнення зазначених процесів через те, що активність остеобластів та формування ними нового міжклітинного матриксу може відбуватись лише за умов забезпечення киснем та поживними речовинами [79, 99].

Процеси запалення в ділянці пошкодження відбуваються одночасно з формуванням тромбу та супроводжуються міграцією в зону ураження поліморфноядерних лейкоцитів та моноцитів в перші часи після травми [168, 176]. Останні трансформуються в макрофаги упродовж 24 годин після міграції [29]. Міграція даних клітин забезпечує місцевий неспецифічний захист від бактеріального ураження шляхом деструкції мікроорганізмів вільними радикалами [59, 177]. При цьому, пролонгація запалення через надмірну кількість бактерій в місці ураження в перші часи, може призвести до деградації неураженого екстрацелюлярного матриксу та формування токсичного оточення, яке буде впливати на подальші процеси остеоінтеграції [103, 130].

Деградація позаклітинного матриксу металопротеїназами призводить до вивільнення зв'язаних факторів росту та формування нових судин замість пошкоджених [3, 121]. Також, під час пізньої фази запалення макрофаги секретують фіброгенні та ангіогенні фактори росту, що пришвидшує формування нового екстрацелюлярного матриксу [51, 160]. Фібробласти прикріплюються до молекул адгезії, таких як фібронектин, що розташований на поверхні імплантату та починають формувати грануляційну тканину [30, 54].

Фактори росту є хемоаттрактантами по відношенню до фібробластів та індукують їх диференціацію та продукції протеїнів міжклітинного матриксу [9, 14]. VEGF, наприклад, стимулює відкріплення серицитів з поверхні судин, а останні є мезинхемальними стовбуровим клітинами кісткового мозку, які здатні трансформуватися в остеобласти та ендотеліоцити при дії відповідних стимулів [15, 82, 156]. Гіпоксичне оточення в рані навколо імплантату є хемотаксичним по відношенню до ендотеліальних клітин, які утворюють групи та формують трубочки з подальшим ростом судинної стінки [66, 122]. Дані кровоносні судини є абсолютно необхідними для підтримки процесів остеогенезу та кісткових клітин. Остеобласти походять з клітин-періцитів [61, 110] та є мігрують з камбіального шару окістя [67]. В зону остеогенезу

мігрують недиференційовані остеобласти та при дії на них факторів росту, які знаходяться в середині матриксі фібрину, вони набувають секреторного фенотипу.

Остеобласти мігрують на поверхню імплантату та адгезуються на ній за допомогою інтегрин-зв'язуючих ділянок з шаром протеїнів, який абсорбований на поверхні матеріалу [151]. Склад даної матриці на поверхні імплантату має вирішальне значення для модулювання хемоатракції та диференціювання остеопрогеніторних клітин в остеобласти [124].

Після прикріплення на поверхні імплантату остеобласти розпочинають секрецію міжклітинного матриксу та експресують лужну фосфатазу та остеокальцин. Остеобласти секретують колагени III та II типу, які в подальшому трансформуються у колаген I типу. Мінералізація колагенових фібрил відбувається за зовнішнім типом з формуванням грубоволокнистої кісткової тканини, основна функція якої є формування зв'язків з мінералізованим фронтом «материнської» кістки [42]. Під час цього процесу частина остеобластів залишається всередині фібрил та трансформується в остеоцити [109, 154]. Таким чином грубоволокниста тканина стабілізує імплантат всередині органу та заповнює усі його порожнини. На новоутворену кістку діють механічні навантаження від імплантату і в процесі ремоделювання відбувається формування пластинчастої кістки зі структурою, яка відповідає новим біомеханічним умовам [123].

Процеси ремоделювання є завершальною стадією інтеграції імплантату, проте вони тривають упродовж усього життя відповідно до існуючого навантаження [189]. При невідповідності механічних параметрів імплантату кістковій тканині, ремоделювання є одним з механізмів розвитку ефекту стресового зміщення. Загалом, процеси ремоделювання при імплантації металевих протезів розпочинаються з перших днів в «материнській» кістковій тканині [24, 187].

Кісткове ремоделювання є базисним регуляторним процесом, який забезпечує відповідність структури кістки діючим навантаженням. Основним

морфологічним субстратом процесу ремоделювання є кісткові клітини – остеобласти та остеокласти, які регулюються остеоцитами та серією сигнальних шляхів та молекул [138]. Остеобласти є основними модуляторами остеокластогенезу, в першу чергу шляхом секреції молекул RANKL та його інгібітору – остеопротегерину [22, 125]. RANKL є лігандом і активатором RANK – поверхневого рецептору остеобласту, який активує ядерний фактор каппа-бета (NF $\kappa$ B) та макрофагальний колоніє стимулюючий фактор (M-CSF). Останні призводять до активації диференціювання та підвищення активності остеобластів [145]. Проте, ряд інших факторів здатні впливати на процеси резорбції та синтезу кісткової тканини в процесі ремоделювання. Естрогени мають здатність підвищувати експресію остеопротегерину та інгібувати сигнальні впливи RANKL [135, 136]. Фактор некрозу пухлин, що секретується лімфоцитами в процесі запалення, наряду з прозапальними цитокінами, такими як інтерлейкін-6, стимулює диференціацію остеобластів, і як наслідок – підвищує швидкість резорбції [60, 77]. Це є одним з основних механізмів зниження osteointegration імплантатів в разі тривалого запального процесу [133]. Продукція паратгормону призводить до стимуляції синтезу RANKL та пригнічення експресії остеопротегерину, що призводить до підвищення резорбції кістки [115, 132].

Остеокласти фіксуються на поверхні кісткового матриксу за допомогою RGD-зв'язуючого механізму та формують замкнену зону навколо кістки. Сформована таким чином щіткова зона щільно оточує зону резорбції. Іонні насоси на мембрані остеобласту декретують в просвіт кислоти (HCl), яка розчиняє мінералізований матрикс [184]. Специфічні протеолітичні ферменти руйнують де мінералізовані колагенові волокна та руйнують зв'язки між ростовими факторами та матриксом глікозаміногліканів. Вивільнені фактори росту та іони кальцію стимулюють міграцію остеобластів в зону резорбції, що призводить до утворення нової кісткової тканини на місці зруйнованої [135].



Першою фазою резорбції кісткової тканини остеокластом є вивільнення протонів водню в зону резорбції за допомогою вакуольного типу АТФази. Це є критичним етапом кісткової резорбції, так як доведено, що мутація а3-субодиниці вакуольної АТФази призводить до розвитку остеопетрозу у людей. Утворення протонів залежить від активності карбоангідази II, яка каталізує гідратацію  $\text{CO}_2$  з утворенням  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , який дисоціюється до протонів ( $\text{H}^+$ ) та бікарботан-іону. Останній реабсорбується в клітину на базо-латеральній поверхні через хлоридно-бікарботанті канали. Іони  $\text{Cl}^-$ , утворюють з протонами  $\text{HCl}$ , яка безпосередньо резорбує мінеральний матрикс кісткової тканини. Доведено, що порушення функціонування хлоридних каналів призводить до розвитку остеопетрозу у людей та експериментальних тварин [102]. Розчинення мінеральної складової дає можливість подальшої руйнації органічної фази кісткової тканини за допомогою матричних металопротеїназ (в основному 9-го типу) та лізосомальних катепсинів. Так, доказом участі в процесі резорбції кістки катепсину-К є розвиток остеопетрозу при штучному дефіциті ферменту у експериментальних тварин.

В результаті постійних процесів ремоделювання відбувається утворення високо мінералізованого матриксу з низьким вмістом волокон в розрізі імплантат-кістка [119]. Окрім колагену, який був першим кістковим протеїном, локалізованим на поверхні імплантату, зустрічаються такі білки як остеопонтін, кістковий сіалопротеїн, остеонектин та кальцій-зв'язаний фетуїн-А [40]. Відомо, що данні протеїни є активними факторами енуклеації в процесі утворення біомінералу кісткової тканини. За деяким даними, на поверхні імплантату переважають саме неколагенові білки, що свідчить про постійні процеси ремоделювання в зоні імплантат-кісткова тканина. Формування остеонних структур відбувається виключно з урахуванням навантаження, яке діє в системі імплантат-кістка. Механорецепторами в даному випадку виступають остецити, які здатні контролювати процеси ремоделювання шляхом активації остеокластів [152, 142].

Процеси ремоделювання після імплантації регулюються тими ж гормональними та гормоноподібними чинниками, що описані при регуляції кісткових диферонів. Також на швидкість та розповсюдженість перебудови кістки великий вплив має вік - є пряма залежність між зростанням процесів резорбції і збільшенням віку особи [182]. Також важливими чинниками регуляції кісткової перебудови є спадковість, повноцінне харчування, руховий фенотип та екологічні впливи. Серед факторів, що здатні інгибувати кісткове ремоделювання слід виділити естрогени, кальцитонін, бісфосфонанти, паратгормон та фторид натрію.

Окрім біохімічних сигналів, на процеси ремоделювання кісткової тканини має вплив механічна стимуляція, викликана в тому числі й імплантацією металевих простезів [183]. Доведено, що при імплантації титанових та титан-цирконієвих дентальних простезів відбувається перебудова кортикальної та губчастої кістки безпосередньо навколо імплантату. Обсяг процесів ремоделювання збільшувався з терміном перебування імплантату. При цьому доведено зменшення міцностних параметрів кісткової тканини навколо імплантату у віддалені терміни спостереження (більше 1 року). В дослідженні Lin D. доведено, що через 48 місяців після імплантації відбувається перебудова навіть віддалених ділянок нижньої щелепи у порівнянні з контрольною групою пацієнтів [83].

Не зважаючи на чисельні дослідження щодо змін періімплантаційної зони у ранній та віддалений період після імплантації, процеси ремоделювання у віддалених ділянках кістки у відповідь на зміни механічного навантаження майже не вивчались.

## 1.2. Регуляція процесів остеоінтеграції навколо імплантатів різного складу

Лікування захворювань та ускладнень хвороб опорно-рухового апарату призводять до економічних втрат, які перевищують 40 млрд. євро на рік [36] а «старіння» населення планети буде призводити до росту кількості хвороб, які пов'язані з кістковою системою [4]. У зв'язку зі зростанням патології кісткової системи та суглобів, збільшується кількість операцій із заміщення ушкодженої ділянки скелета.

Відновлення цілого кісткового органу чи його частини можливе за рахунок аутоотрансплантатів чи ксенотрансплантатів а також з використанням імплантатів з природнього та синтетичного матеріалів [20]. Протягом 20 сторіччя розроблені та впроваджені в практику безліч імплантатів, що дозволило значно покращити якість життя пацієнтів з патологією опорно-рухового апарату. Інший напрям використання штучних імплантатів – це стоматологія, в якій за останні 40 років зроблено значний прорив, який дозволив відновлювати структури зубо-щелепної системи [4].

Основними первинними властивостями матеріалів, які використовуються для заміщення кісткових дефектів чи імплантації є механічні властивості та біосумісність [78]. Термін «біосумісність» може бути коротко описаний як взаємовідносини між організмом та біоматеріалом. В свою чергу, біоматеріали є натуральними або створеними людьми матеріалами, які використовуються для відновлення чи заміщення функції живих тканин [78]. Сьогодні біоматеріали використовуються для лікування пошкоджень майже всіх органів та тканин, проте найбільший досвід їх застосування та інформація щодо ускладнень стосується саме імплантатів для відновлення проксимального епіфізу стегнової кістки та зубних імплантатів.

Ефективність застосування штучних матеріалів має складну взаємодію в системі імплантат-орган та залежить як від виду матеріалу з якого вироблений імплантат, так і від функціональної здатності тканин органу-

реципієнта [42]. Значний досвід лікування патології стегна дозволяє прослідкувати особливості взаємодії в системі імплантат-кістка для різних видів матеріалів та виявити найбільш розповсюджені проблеми.

На сьогодні для пластики шийки стегна використовуються такі матеріали, як метали, кераміка, полімери та композити [48]. На початку 60-х років минулого століття для пластики стегна почали використовувати імплантати з нержавіючої сталі з покриттям ділянки головки стегна політетрафлуороетиленом. Проте, через низьку зносостійкість, нержавіючу сталь замінили на кобальт-хром-молібденовий сплав, а політетрафлуороетилен – на високомолекулярний поліуретан. Обидва матеріали показали високу стійкість до зношування. На сьогодні також застосовуються інші сплави на основі алюмінію, цирконію, танталу тощо [78].

Основна проблема, з якою стикнулися розробники імплантатів для відновлення шийки стегна та інших ділянок скелету – різниця між жорсткістю металу та кістки, що призводить до порушення будови останньої в процесі експлуатації імплантату [7]. Так, кобальт-хром-молібденовий імплантат має в 10 раз більшу жорсткість за кістку, алюміній – в 19 разів. Дещо менша різниця жорсткості спостерігається для сплавів з титану, що дозволяє широко використовувати даний метал [63].

Невідповідність жорсткості матеріалу і кісткової тканини призводить до розвитку ускладнень, кінцевим результатом яких може бути втрата функціональності імплантату і необхідність повторної операції. За свідченням різних авторів, необхідність повторної операції для відновлення системи кістка-імплантат складає від 10% до 64% в залежності від віку пацієнта, стану кістки до операції та типу імплантату [13, 107, 118]. За даними авторів основними причинами повторних операцій є рухомість імплантату або стресове зміщення. При цьому всі дані отримані від пацієнтів із тотальним заміщенням головки стегна є актуальними при використанні

імплантатів в будь-якій частині тіла через наявність навантаження в системі імплантат-кісткова тканина.

При цьому більшість авторів вважають, що стресове зміщення є основною причиною порушення інтеграції імплантату [7, 75, 78, 85]. Дана проблема виникає коли імплантат забирає частину фізіологічного навантаження на орган, що призводить до розвантаження кістки навколо штучного матеріалу [108]. В нормі навантаження з верхньої частини тіла передається на головку стегнової кістки і далі через шийку – на проксимальну і дистальну частину діафізу. За умов імплантації протезу відбувається розвантаження проксимального відділу діафізу стегнової кістки і як наслідок порушення будови тканини через процеси ремоделювання. За законом Вольфа, частина кісткового органу, яка отримує менше навантаження піддається перебудові відповідно діючих на неї сил, що призводить до втрати кісткової маси. Таким чином, навколо стебля імплантату утворюється зона низької щільності, що призводить до порушення інтеграції [25]. Наявність значного навантаження спостерігається не лише в ділянці протезу стегнової кістки. Так, значне навантаження спостерігається також на зубні імплантати – жувальний цикл повторюється близько  $1 \times 10^5$  разів на рік з середнім навантаженням на щелепу біля 700 Н [20, 86].

Базовою проблемою взаємодії в системі «імплантат-кісткова тканина» є процеси остеоінтеграції, які можуть бути описані як утворення кісткової тканини навколо імплантату без формування сполучнотканинної капсули [72]. Утворення повноцінної кісткової тканин навколо імплантату дозволяє адекватно розподілити механічне навантаження між кістковою тканиною та штучним матеріалом і тим самим запобігти розвитку ускладнень, які призводять до нестабільності імплантату і його втраті. Процеси остеоінтеграції, за даними різних авторів, відбуваються в зоні від 50 мкм до 1 мм навколо імплантату і включають в себе як утворення нової кісткової тканини, так і процеси ремоделювання «материнської» кістки [99, 129, 143].

Основою остеointegraції є процеси адгезії остеобластів на поверхні імплантату, їх проліферація та диференціація. Адгезія остеобластів в кількості, яка достатня для утворення нової тканини, відбувається лише за умов наявності на поверхні імплантату сприятливого оточення [150]. Текстура імплантату, його хімічний склад та топографія мають ключове значення в процесі остеointegraції [146]. Так, доведеним є факт, що адгезія остеобластів та їх проліферація є більш активними на нерівній поверхні [94]. За даних умов спостерігається більш виражена експресія матриксних кісткових протеїнів, лужної фосфатази та остеокальцину [41]. Rosa A.L. та співавтори довели, що проліферація остеобластів на рівній поверхні титанових імплантатів відбувається удвічі повільніше у порівнянні з модифікованою нерівною поверхнею [128]. Також в культурі остеобластів MG63 доведено більшу вираженість експресії ростових факторів при культивуванні на нерівній поверхні [63]. Розмір нерівностей на поверхні матеріалу також мають вплив на процеси адгезії та проліферації остеобластів. Так, доведено, що нанорозмірні нерівності мають більший стимулюючий вплив на процеси остеointegraції [139]. Доведено, що наявність нанорозмірних нерівностей на поверхні імплантату підвищує адгезію сигнальних молекул, зокрема білків кісткового матриксу, які здатні стимулювати процеси проліферації остеобластів [43]. На культурі клітин доведено, що наявність кальцій фосфату та ростових факторів на поверхні імплантату також має значний стимулюючий вплив на процеси остеointegraції [56, 162].

Загалом, серед факторів, які впливають на стабільність імплантату, науковці виділяють наступні: форма імплантату, хірургічна техніка, тип фіксації, неадекватне навантаження на реконструйовану ділянку та захворювання кісткової тканини [2, 50].

Проте, за свідченням більшості авторів, головною проблемою взаємодії в системі «кістка – імплантат» є адекватні механічні та біосумісні властивості останнього [7, 149]. Причиною невідповідності біологічних

властивостей імплантату є розвиток реакції організму на імплантацію «чужородного тіла». Дана відповідь має наступні фази: пошкодження, взаємодіє матеріалу з кров'ю, формування кров'яного згустку, запальна реакція, розвиток грануляційної тканини і ремоделювання оточуючих тканин [8]. Ідеальним варіантом післяімплантаційної реакції є розвиток кісткової тканини навколо імплантату без формування фіброзної капсули, що дозволяє уникнути значного відсотка післяопераційних ускладнень. Проте, синтетичні матеріали зазвичай вкриваються сполучнотканинною капсулою. При наявності імунної відповіді зростання концентрації вільних радикалів, протеолітичних ензимів, фіброзуючих протеїнів, гігантоклітинна інфільтрація та зниження рН середовища і, в результаті, даний комплекс може призводити до порушення поверхні імплантату та змін в оточуючих матеріал тканинах [8].

Металеві конструкції, використовуються у відновній медицині завдяки їх високим механічним властивостям. Проте, модуль еластичності кісткової тканин, який коливається від 10 до 20 ГПа [20], значно менший за аналогічний показник титану та нержавіючої сталі, модуль еластичності яких становить 118 ГПа та 206 ГПа відповідно [19, 92]. За умов відсутності адекватної фіксації внаслідок розвитку сполучнотканинної капсули та мікрорухомості імплантату відбувається зменшення навантаження на оточуючу кісткову тканину з наступною втратою кісткової маси та можливими ускладненнями у вигляді переломів та втрати фіксації імплантату [55, 161].

З метою зменшення ускладнень після імплантації через втрату кісткової щільності ведуться експериментальні та клінічні розробки у 3-х основних напрямках: зміна форми та жорсткості імплантатів, модифікація поверхні матеріалу та накопичення активних субстанцій на поверхні імплантату [75].

З початку 90-х років минулого століття були проведені дослідження з імплантатами на основі пористих кобальт-хромових сплавів, які мають

зменшену жорсткість [148]. Використання даного матеріалу призвело до зменшення втрати кісткової маси в проксимальному відділі стегна, проте гнучкість металу призводила до нестабільності імплантату в цілому. Використання пористих металів також має подібний ефект, проте дані імплантати не отримали широкого розповсюдження [120]. Зміна геометрії імплантату також є можливим шляхом підвищення біосумісності через збільшення контактної поверхні та зменшення напруги в системі імплантат-кістка. На сьогодні розроблено безліч імплантатів для травматології та стоматології з модифікованою формою, проте даних щодо їх активності недостатньо для констатації факту вирішення проблеми [7, 96]. Не зважаючи на чисельні дослідження, модифікація складу та геометрії імплантатів не має значного впливу на їх біосумісність, тому дані методи можуть використовуватись лише як додаткові.

Основним методом, який зарекомендував себе в умовах сьогодення, є модифікація поверхні імплантатів для підвищення їх біосумісності [85, 147]. Перші дослідження стосовно зміни поверхні матеріалів стосувались застосування методів кислотної ерозії та піскоструминне напилювання. Обидва методи застосовуються для збільшення поверхні матеріалу, яка контактує з клітинами органу-реципієнта, тим самим збільшуючи взаємодію металу з біологічним об'єктом [31]. Останнім часом обидва методи застосовуються для формування нонорозмірних ділянок на поверхні імплантату, що дозволяє абсорбувати на собі біомолекули та іони, здатні збільшувати біосумісність імплантату [5]. Проте, використання зазначених методик є менш ефективним, ніж модифікація поверхні за допомогою покриття імплантатів біоактивними сполуками, які здатні забезпечувати не лише біосумісність, але й остеокондуктивність матеріалів. Саме ці дві властивості можуть в повній мірі забезпечити задовільне довготривале перебування імплантату в кістковій тканині [6].

Зважаючи на те, що кісткова тканина є двокомпонентним композитним матеріалом, покриття імплантатів можна розділити на неорганічне та



органічне. Використання гідроксиапатиту (ГА) та кальцій фосфатного покриття здатне забезпечити стимулюючий вплив на процеси розвитку кісткової тканини навколо імплантату [47, 106, 129]. Останніми роками дослідження сфокусовані на модифікацію кальцій фосфатних покриттів для збільшення ефективності матеріалів. Основними модифікаціями можна вважати кремній та стронцій вмістний ГА [48, 117, 157], магній заміщений ГА [95], карбонований та флюорований ГА [53, 111] а також срібровмістний ГА [57].

Серед органічних молекул, які використовують для збільшення біосумісності імплантатів, першими почали використовувати протеїни екстрацелюлярного матриксу кісткової тканини такі, як фібронектин, вітронектин, колаген 1 типу, остеопонтин та кістковий сіалопротеїн [97, 131]. Накопичення даних протеїнів сприяє клітинній адгезії та розвитку кісткової тканини навколо імпланту без утворення сполучнотканинної капсули. Але, після нанесення білків на поверхню можлива їх денатурація, що зменшує ефективність методики. Вирішенням проблеми є застосування секвенованих частин натуральних білків, які показали високу ефективність в лабораторних та клінічних умовах [56]. Альтернативою білкам міжклітинного кісткового матриксу є такі біомолекули, як кісткові морфо генетичні білки, трансформуючий ростовий фактор-бета, фактор росту фібробластів та інсуліноподібний фактор росту [21, 137]. Загалом, колаген, як компонент екстрацелюлярного матриксу може бути використаний для збільшення механічних властивостей імплантату, в той час як інші білки та фактори росту – для ініціації мінералізації шляхом відкладання кальцій фосфату на поверхні матеріалу [68].

Зважаючи на двокомпонентність кісткового композиту, депонування органічної та мінеральної складової на поверхні імплантатів є наступним кроком у підвищенні біосумісності остеопластичних матеріалів та протезів. Так, застосування композитного покриття на основі колагену та кальцій фосфату, дозволяє збільшити остеокондуктивність (ефект мінеральної фази)

та підвищити адгезію сигнальних молекул за рахунок їх зв'язків з колагеном, що призводить до адгезії клітин їх проліферації та диференціації на поверхні імплантату [10, 179]. Застосування зазначених композитів створює більш сприятливі умови для процесів утворення кристалів гідроксиапатиту у порівнянні з імплантатами, які мають лише органічне чи неорганічне покриття [158]. В експериментальних умовах доведена ефективність включення ростових факторів до колагенового чи кальцій фосфатного покриття імплантатів. Так, іммобілізація ростових факторів на титановому імплантаті, попередньо обробленому колагеном, значно підвищує остеогенетичні властивості матеріалу, що можливо пов'язане з підвищенням стабільності фактору росту чи повільним його вивільненням з колагенового матриксу [155]. Окрім факторів, які підвищують остеогенні властивості базового покриття, використовують срібло та антибактеріальні препарати для надання антибактеріального ефекту а також бісфосфонати для використання у пацієнтів з остеопорозом [11, 28, 35, 134].

Таким чином, на сьогодні існує безліч модифікацій імплантатів, які дозволяють оптимізувати процеси остеоінтеграції та попередити розвиток ранніх та віддалених післяопераційних ускладнень та уникнути повторних оперативних втручань у зв'язку із нестабільністю імплантату.

Проте, біологічне середовище не лише реагує на імплантат, а й може впливати на матеріал. В процесі ремоделювання кістки вивільнюється безліч ферментів та біологічно активних сполук, що можуть змінювати хімічну будову матеріалу [60]. В процесі взаємодії в системі «імплантат-кісткова тканина» відбувається поступова дуже повільна деградація штучного матеріалу в незалежності від його складу. [50] Процес деградації металевих сплавів є по суті корозією, якій в біологічному оточенні піддаються будь-які метали. Деградація імплантованого сплаву відбувається в результаті електрохімічного розчинення та процесів зносу. Зважаючи на те, що кісткові та зубні імплантати все частіше використовуються у людей молодого віку, час для розвитку активних процесів деградації є більш ніж достатній.

Клінічне значення корозії імплантатів полягає у накопиченні в оточуючих імплантат тканинах продуктів корозії та можливу втрату кістки навколо простезу. Також є дані щодо системного розповсюдження продуктів корозії [16].

На даний час відсутні докази наявності специфічної гістологічної картини впливу продуктів корозії на кісткову тканину, яка оточує імплантат, проте дані літератури свідчать про наявність неспецифічної відповіді на корозію сплавів різного складу. Використовуючи енергодисперсійний рентгенівський аналіз та електронну дифракцію, Williams D. F. виявив наявність заліза та хрому в тканинах навколо імплантату з нержавіючої сталі [1]. Навколо імплантату спостерігалась наявність макрофагів, гігантських клітин та лімфоцитів, які містили гранули з залізо-вмісним гемоседирином та хромом.

У пацієнтів з кобальт вмісними імплантатами було виявлено ортофосфат хрому та кобальту в ділянках остеолітичного ураження, що може бути результатом дії продуктів корозії [90]. Дослідження на культурі клітин довели, що дані продукти деградації сплавів активують макрофаги та моноцити і здатні викликати резорбцію кістки [91].

Дослідження сплавів на основі титану показали наявність продуктів їх деградації в кістковій тканині, яка оточує імплантат. Після імплантації сплаву Ti-6Al-4V всі метали, що входять до його складу були виявлені в оточуючих тканинах через рік після імплантації [89]. При цьому іони металу були виявлені не лише в міжклітинному матриксі, але й в середині клітин кісткової тканини. Оксид та гідроксид титану був виявлений не лише навколо імплантату, а й у дистальному відділі стегнової кістки [38].

Окрім локальної реакції, метали, які зв'язані з білками та знаходяться в середині лімфоцитів, з током крові можуть потрапляти в різні органи, викликаючи системну реакцію. На сьогодні відома токсична дія таких металів як титан, алюміній, кобальт, хром та нікль (найбільш вживані в імплантології). Зазвичай, деградація сплавів є дуже повільною для

накопичення метлів в токсичній концентрації, проте навіть невеликі дози іонів здатні викликати специфічну та неспецифічну імунну реакцію та бути канцерогенами [46, 33].

Таким чином, проблема взаємодії «імплантат-кісткова система» лежить у двох площинах. По-перше – це проблема остеоінтеграції матеріалу від якої залежить стабільність імплантату в ранньому післяопераційному періоді та якість життя пацієнта у віддалений термін. Вирішення цієї проблеми можливе за рахунок вдосконалення геометрії імплантатів та операційної техніки а також модифікації поверхні матеріалів. По-друге – це безпосередній вплив біологічної системи на чужорідне тіло у віддаленому періоді після імплантації і як наслідок – вивільнення іонів металів в оточуючі тканини. Не зважаючи на чисельні дослідження впливу продуктів деградації імплантатів на кісткову тканину, більшість з них стосується лише зони, яка оточує імплантат і не враховує реакцію всього органу. Розуміння механізмів впливу продуктів деградації металевих імплантатів дозволить розробити профілактичні заходи, спрямовані на попередження пізніх післяопераційних ускладнень та підвищити якість життя пацієнтів.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В експерименті були задіяні 95 кролів віком 4-5 місяців з початковою масою  $3,5 \pm 0,3$  кг. Експеримент проведений згідно положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), Директивою Європейського парламенту та Ради ЄС від 22.09.2010 року, «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Планування та проведення експерименту проводилось з дозволу Комісії з біомедичної етики Медичного інституту СумДУ.

Тварин рандомізували в 7 серій по 15 особин (5 кролів – в серії інтактних тварин) відповідно до мети та завдань дослідження (табл. 2.1).

Інтактні тварини, яким не проводили хірургічне втручання склали 1-шу серію та використовувались для проведення порівняльного аналізу з результатами експериментальних серій.

2 серію (15 кролів) склали тварини, яким наносився дірчастий дефект у дистальному відділі стегнової кістки (на межі діафізу та дистального епіфізу) діаметром 3,5 мм. Таким чином, дана група тварин використовувалась в якості негативного контролю для вивчення факту травми кістки на морфо-функціональні особливості кісти та порівняння їх з експериментальними групами.

Особинам 3 – 7 серії під наркозом (кетамін 7 мг/кг та тіопентал 10 мг/кг) проводилась операція з постановки зубного імплантату в дистальний відділ стегнової кістки з навантаженням на імплантат від 30 до 35 Н (Рис. 2.1). Після операції рану пошарово зашивали та фіксували кінцівку упродовж 1 тижня для забезпечення первинної фіксації. З метою попередження бактеріальних ускладнень проводили щоденні ін'єкції антибіотиків упродовж одного тижня.



**А**

**В**

**С**

Рисунок 2.1 – Процедура імплантації протезів в дистальний епіфіз стегнової кістки кроля. А – оперативний доступ і формування дефекта кістки; В – процедура введення імплантату; С – загальний вид операційного поля після імплантації. 1 – стегнова кістка, 2 – дірчастий дефект, 3 – імплантат.

*Таблиця 2.1*

### Розподіл експериментальних тварин

Серія експерименту	Вид втручання	Термін виведення з експерименту		
		1 місяць	3 місяці	6 місяців
Інтактна	Без втручання	5	-	-
Контрольна	Дірчастий дефект	5	5	5
Експериментальна	Імплантація TiVT6	5	5	5
Експериментальна	Імплантація КТЦ-125	5	5	5
Експериментальна	Імплантація КТЦ-125 з ГАП	5	5	5
Експериментальна	Імплантація $\beta$ (Ti-Zr)	5	5	5
Експериментальна	Імплантація $\beta$ (Ti-Zr) з ГАП	5	5	5
Всього тварин		35	30	30
				95

Діаметр усіх імплантатів становив 3,5 мм, довжина – 8 мм. Розподіл імплантатів відповідно груп відбувався наступним чином:

3 серія - Титановий сплав VT-6 (TiVT6);

- 4 серія - Цирконієвий сплав КТЦ-125;
- 5 серія - Цирконієвий сплав КТЦ-125 з гідроксиапатитним покриттям;
- 6 серія -  $\beta$  (Ti-Zr) сплав;
- 7 серія -  $\beta$  (Ti-Zr) сплав з гідроксиапатитним покриттям ( $\beta$  (Ti-Zr)-ГА)

Тварин всіх груп виводили з експерименту шляхом передозування наркозу у терміни 1, 3 та 6 місяців після операції з метою визначення морфо-функціональних змін кісткової тканини в ранній та пізній післяопераційний періоди. Тваринам виділяли травмовану стегнову кістку, відсепаровували м'язи та інші м'які тканини та видаляли імплантат. Для дослідження брали три ділянки кістки: дистальний епіфіз для виявлення змін в періімплантаційній зоні, середину діафізу та проксимальний епіфіз для визначення змін віддалених ділянок органу на імплантацію матеріалу.

Для вивчення морфо-функціональних властивостей кісткової тканини в визначених ділянках використовували наступні методи дослідження:

### **1. Остеометрія.**

Перед проведенням остеометрії кістки ретельно очищали від м'язів та інших м'яких тканин. Кістки зважували на аналітичних вагах з точністю до 1 мг та вимірювали штангенциркулем з точністю до 0,1 мм. Визначення остеометричних параметрів стегнової кістки проводили за методикою, запропонованою Itoya E Ajaui для використання у кролів з урахуванням наступних показників: найбільша довжина кістки, найбільша ширина проксимального та дистального епіфізів, ширина середини діафізу [104].

### **2. Гістологічне дослідження.**

Для приготування гістологічних препаратів ділянки кістки фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну впродовж доби та проводили декальцинацію в розчині азотної кислоти впродовж доби. Декальциновані зразки зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації та заливали в парафін. Готували гістологічні зрізи

товщиною 5-7 мкм та забарвлювали їх гематоксилін-еозиномом. Отримані препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа "OLYMPUS". Зображення зберігали на вінчестері з подальшим друком кольорових ілюстрацій.

**3. Морфометрія гістологічних препаратів.** Морфометричні дослідження проводили за допомогою комп'ютерної програми "SEO Image Lab 2.0". В гістологічних препаратах діафізу визначали найбільший розмір конусів ремоделювання та їх кількість на  $1 \text{ мм}^2$ , ширину остенів та їх каналів а також щільність клітин (остеобластів та остеоцитів на  $1 \text{ мм}^2$ ). В препаратах епіфізів вимірювали товщину трабекул, щільність клітин (остеобластів та остеоцитів на  $1 \text{ мм}^2$ ) та ширину одиниць ремоделювання і їх кількість на  $1 \text{ мм}^2$ .

**4. Растрова електронна мікроскопія з мікроаналізом.**

Кістку фіксували в розчині глютаральдегіду протягом доби та зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації (50 - 70 - 80 - 90 і 100%). Підготовлену поверхню напилювали сріблом в стандартній вакуумній установці ВУП-5. Проводили вивчення кількісного вмісту кальцію, фосфору та мікроелементів, що входять до складу імплантатів на поверхні кістки в 3-х точках – безпосередньо в періімплантаційній зоні, в тканині проксимального епіфізу та в середині діафізу [185].

**5. Визначення мікротвердості кістки.**

Вивчення мікротвердості проводили на приладі ПМТ-3 [170, 174, 178]. Перед проведенням дослідження поверхню ділянки кістки полірували та фіксували зразок на металевому столику за допомогою епоксидних смол. Для визначення мікротвердості в досліджуваній зразок під дією навантаження  $P$  вдавлюється алмазна піраміда. У наших дослідах величина навантаження становила 0,1 кгс. Після дії навантаження на поверхні зразка залишається відбиток у вигляді піраміди з квадратною основою. Для визначення числа



твердості  $H$  (кгс/мм<sup>2</sup>) навантаження  $P$  ділять на умовну площу бічної поверхні відбитка [157]:

$$HV = 18544\left(\frac{P}{d^2}\right),$$

де  $P$  – навантаження на піраміду;  $d$  – діагональ відбитка.

## **6. Статистичні методи дослідження**

Отримані цифрові дані оброблялися методом варіаційної статистики за допомогою програми для обробки статистичної інформації IBM SPSS Statistics 21 з використанням параметричних методів (порівняння середніх за допомогою t-теста). Для з'ясування типу розподілу даних використовувались діаграми з кривою нормального розподілу (Колокол Гауса) та тест Колмогорова–Смирнова. За умов доведення гіпотези про нормальність розподілу даних, порівняння показників в різних серіях здійснювали з використанням критерію Стюдента. Відмінності вважали значущими з рівнем ймовірності не менше 95% ( $p \leq 0,05$ ).

### РОЗДІЛ 3

## ОСОБЛИВОСТІ РОСТУ, БУДОВИ, ХІМІЧНОГО СКЛАДУ ТА МІКРОТВЕРДОСТІ КІСТОК ТВАРИН ІНТАКТНОЇ ТА КОНТРОЛЬНОЇ СЕРІЙ

### 3.1. Ріст, будова, хімічний склад та мікротвердість кісткової тканини інтактних тварин

Довжина стегнової кістки інтактних кролів становила  $82,4 \pm 2,7$  мм, ширина проксимального та дистального епіфізів – відповідно  $15,7 \pm 1,3$  мм та  $13,3 \pm 0,4$  мм, ширина діафізу –  $6,3 \pm 0,5$  мм. Таким чином, розміри стегнової кістки кроля дозволяють провести імплантацію металевого простезу діаметром 3,5 мм зі збереженням анатомічної цілісності органу.

Гістологічна будова проксимального та дистального епіфізу стегнової кістки має подібні риси. Зовні епіфіз вкритий компактною речовиною, яка є продовженням зовнішніх оточуючих пластинок діафізу стегнової кістки. Пластинки не утворюють суцільного шару навколо епіфізу а перекриваються одна одною. Поміж пластинок розташовані остеоцити, які анастомозують своїми відростками. Під окістям розташований шар остеобластів, так званий – камбіальний шар окістя. Остеобласти даного шару знаходяться у стані спокою, мають базофільну цитоплазму з незначною кількістю органел та ексцентрично розташоване ядро. В компактній речовині розрізняють судинні канали, які пронизують всю товщу шару та поодинокі конуси ремоделювання. Останні забезпечують постійну перебудову кісткової тканин у відповідь на існуючі механічні навантаження та метаболічні зміни організму. Під шаром компактної речовини розташована губчаста кісткова тканина, яка сформована чисельними трабекулами, що анастомозують між собою (рис. 3.1). В середині трабекул наявні остеоцити, в той час як на поверхні розташовуються активні остеобласти. Частина трабекул має мозаїчне забарвлення, обумовлене неоднорідним звапненням внаслідок активних процесів формування кісткової речовини. В товщі трабекул розташовані одиниці ремоделювання. Сітка трабекул утворює порожнини, в

яких розташовується жирова тканина та червоний кістковий мозок. Клітини останнього є джерелом для утворення кісткової тканини в разі травми.

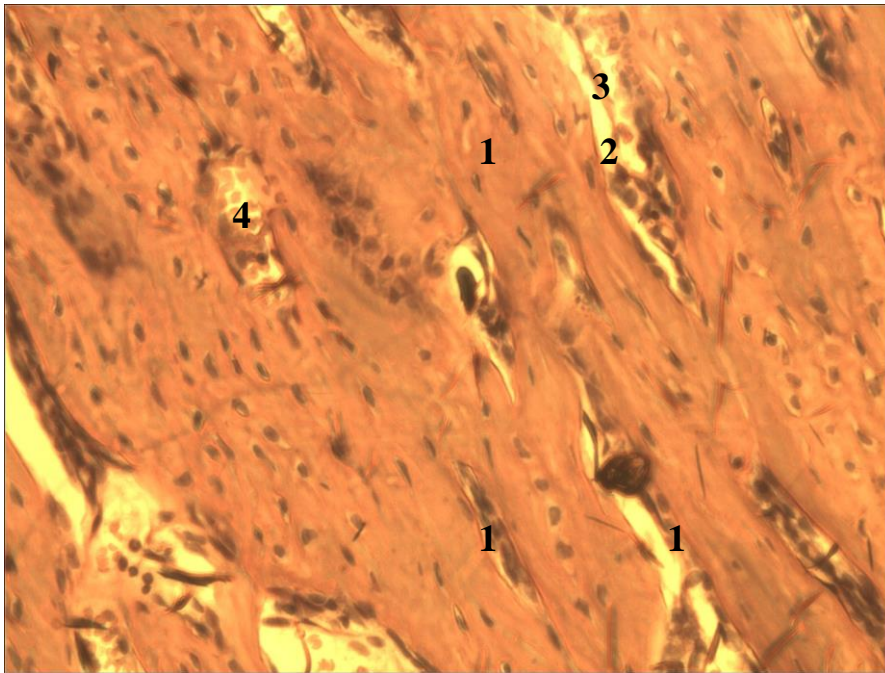


Рисунок 3.1 - Ділянка проксимального епіфізу стегнової кістки кроля тварин інтактної серії. Забарвлення Гематоксилін-Еозин, зб. X 400:

1. Кісткова трабекула,
2. Міжтрабекулярний простір,
3. Клітини кісткового мозку,
4. Кісткова одиниця ремоделювання.

Ділянка діяфізу стегнової кістки кроля має компактну будову і складається з 3-х шарів – остеонного, зовнішніх та внутрішніх оточуючих пластинок. Структурною одиницею остеонного шару є остеон, утворений концентрично розташованими кістковими пластинами навколо судинного каналу (канал остеона). Кількість пластин, що утворюють Гаверсову систему в стегновій кістці кроля коливається від 5 до 15. Між остеонами розташовуються вставні пластини. Шари внутрішніх та зовнішніх оточуючих пластин утворені кістковими пластинами, які перекриваючи одна одну утворюють суцільний шар. В товщі кісткової речовини розташовуються остецити, які мають чисельні відростки, що забезпечують анастомози між

сусідніми клітинами (рис. 3.2). Остеобласти розташовані під окістям та біля кістково-мозкового каналу та забезпечують кістковий резерв в разі травми органу. У всіх шарах діяфізу стегнової кістки відмічається наявність конусів ремодулювання, що свідчить про активні процеси перебудови кістки тварин даного віку. Конус ремодулювання утворений шаром остеобластів, які руйнують речовину кістки та замикаючим конусом, утвореним активними остеобластами, які синтезують остеїд.

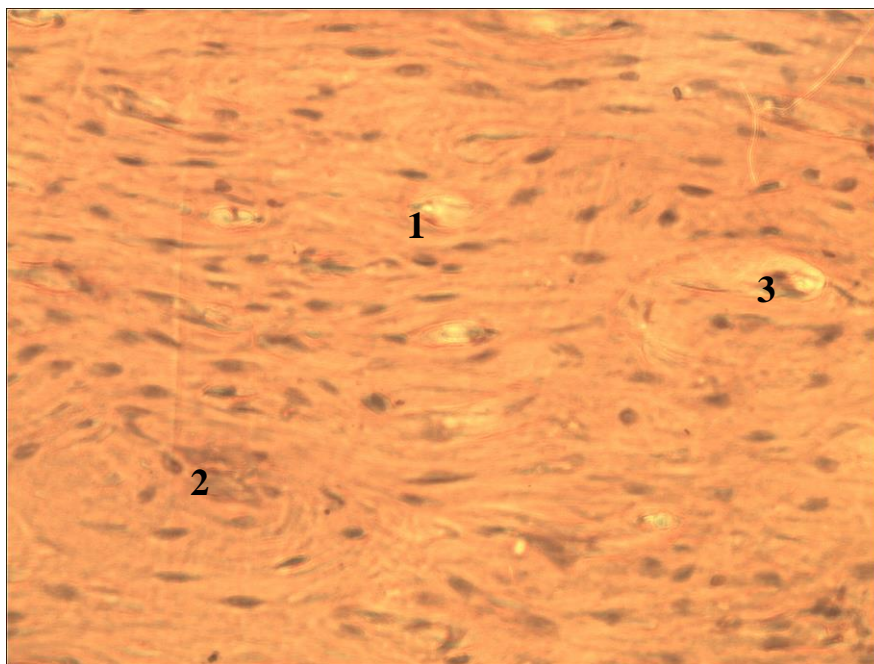


Рисунок 3.2 - Ділянка діяфізу стегнової кістки кроля тварин інтактної серії. Забарвлення Гематоксилін-Еозин, зб. X 100::

1. Остеон,
2. Вставні пластини,
3. Конус ремоделювання.

Морфометричні дослідження гістологічних препаратів доводять більш високу метаболічну активність в губчастій речовині діяфізу у порівнянні з компактною речовиною епіфізів. Так, щільність остеобластів на 1 мм<sup>2</sup> в проксимальному та дистальному епіфізі становила 13,6±1,5 клітин на противагу 6,9±0,5 (p=0,034) – у діяфізі. Кількість остеоцитів достовірно не відрізнялась в різних ділянках кістки та становила відповідно 6,3±0,4 клітин

на  $1 \text{ мм}^2$  в діяфізі та  $7,2 \pm 1,1$  і  $6,9 \pm 0,8$  – в проксимальному та дистальному епіфізах. Кількість одиниць ремоделювання в епіфізах також достовірно перевищувала кількість конусів ремоделювання в діяфізі –  $4,2 \pm 1,1 \text{ од/мм}^2$  та  $2,3 \pm 0,5 \text{ од/мм}^2$  ( $p=0.027$ ) відповідно. Ширина конусів ремоделювання в діяфізі становила в середньому  $205,5 \pm 14,3 \text{ мкм}$ , одиниць ремоделювання в кістковій речовині епіфізів –  $186,7 \pm 11,8 \text{ мкм}$ . Ширина остенів в діяфізі складала в середньому  $53,6 \pm 3,5 \text{ мкм}$ , розмір каналу остеона –  $19,5 \pm 1,5 \text{ мкм}$ . Товщина трабекул губчастої речовини епіфізів становила  $165,8 \pm 16,1 \text{ мкм}$ .

Растрова електронна мікроскопія ділянок кісткової тканини виявила типову будову губчастої кісткової тканини в епіфізах та пластинчастої – в діяфізах (рис. 3.3). У тварин контрольної серії вміст кальцію та фосфору, виявлений методом мікроаналізу, є стабільною величиною яка не залежить від гістологічної будови тканини (компактна та губчаста). Рівень елементів в діяфізі становив відповідно  $37,6 \pm 2,5 \text{ ваг\%}$  і  $23,4 \pm 1,1 \text{ ваг\%}$ , в дистальному епіфізі -  $37,9 \pm 2,1 \text{ ваг\%}$  і  $23,6 \pm 1,7 \text{ ваг\%}$  та в проксимальному епіфізі -  $38,5 \pm 3,8 \text{ ваг\%}$  і  $25,1 \pm 2,3 \text{ ваг\%}$ .

При цьому співвідношення Ca/P складає біля 1,6, що характерно для біологічного апатиту. Крім основних елементів, в кістковій тканині виявлений незначний вміст алюмінію – від  $0,5 \pm 0,3 \text{ ваг\%}$  на поверхні діяфізу та до  $0,9 \pm 0,3 \text{ ваг\%}$  - в тканині проксимального епіфізу стегнової кістки.

Визначення показника мікротвердості дозволяє оцінити механічні властивості кісткової тканини та виявити порушення, обумовлені змінами будови органічної та мінеральної фази. На відміну від показників міцності кістки, зміна числа твердості дозволяє виявити порушення біомеханічних параметрів кістки на ранніх етапах розвитку патологічного процесу. Число твердості компактної речовини діяфізу стегнової кістки кроля складає  $284,1 \pm 8,2 \text{ кгс/мм}^2$ . Даний параметр губчастої речовини проксимального та дистального епіфіза є дещо менший та складає відповідно  $214,8 \pm 4,5 \text{ кгс/мм}^2$  та  $202,6 \pm 8,6 \text{ кгс/мм}^2$ .

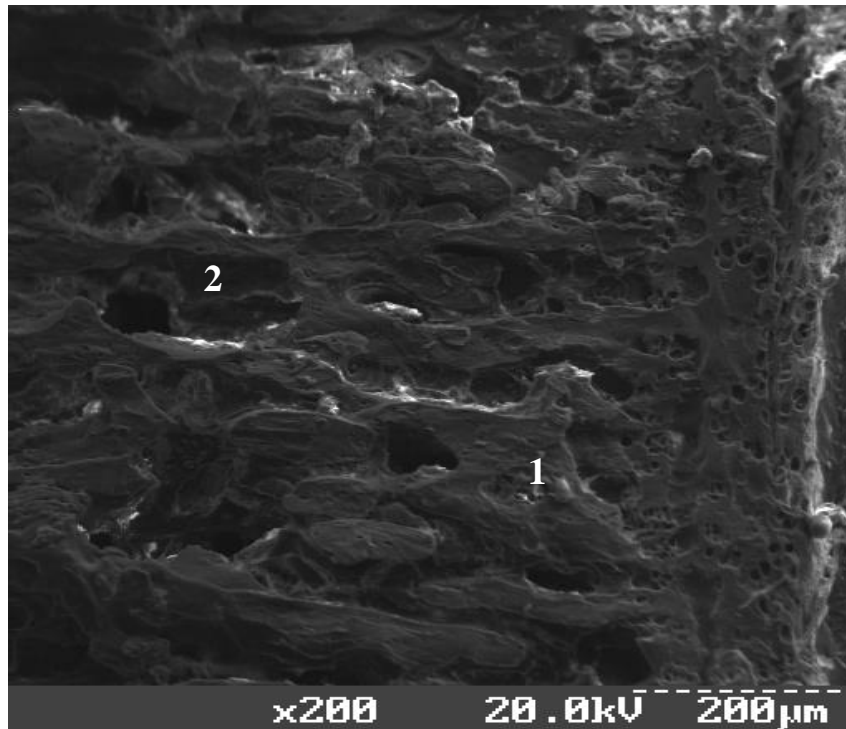


Рисунок 3.3 - Растрова електронна мікроскопія губчастої речовини проксимального епіфізу стегнової кістки тварин інтактної серії, зб. X200:

1. Кісткова трабекула,
2. Міжтрабекулярний простір.

Таким чином, стегнова кістка кроля має типову гістологічну будову для довгих кісток скелета і представлена компактною та губчатою речовиною, які мають різну метаболічну активність. В інтактній групі тварин не відмічається суттєвої різниці будови губчастої речовини проксимального та дистального епіфізу. Отримані данні свідчать про більш високу активність процесів ремоделювання в епіфізах у порівнянні з діафізом.

### **3.2. Ріст, будова, хімічний склад та мікротвердість кісткової тканини різних відділів стегнової кістки після нанесення дірчастого дефекту**

Через 1 місяць після нанесення дефекту за даними більшості авторів відбувається формування повноцінного кісткового мозоля на місці втраченої кістки [73, 163, 168]. При цьому встановлено, що травма кістки не впливає на процеси повздовжнього росту стегнової кістки кролів. Так, через 1 місяць після формування дірчастого дефекту довжина кістки становить  $83,1 \pm 1,6$  мм. Показники поперечного росту діафізу та проксимального епіфізу також знаходяться в межі даних інтактної групи тварин –  $6,23 \pm 0,6$  мм та  $15,5 \pm 0,9$  мм. Натомість відбувається достовірне зростання ширини дистального епіфізу до  $14,7 \pm 0,2$  мм ( $p=0.038$ ). Збільшення ширини діафізу відбувається за рахунок периостальної реакції у відповідь на травму та обумовлене переважанням процесів синтезу над резорбцією.

В наступні терміни спостереження відбувається зростання довжини кістки у відповідності до росту тварин (рис. 3.4). Проте, довжина кістки становить  $86,2 \pm 2,8$  мм через 3 місяці та  $88,3 \pm 3,4$  мм через 6 місяців спостереження. Поперечні розміри стегнової кістки зростають менш помітно, проте ширина діафізу становить у відповідні терміни спостереження  $6,74 \pm 0,4$  мм та  $6,84 \pm 0,5$  мм. Поперечні розміри проксимального та дистального епіфізу становлять через 3 місяці спостереження  $15,8 \pm 0,5$  мм та  $14,3 \pm 0,3$  ( $p=0.047$ ) мм і через 6 місяців –  $16,1 \pm 0,4$  мм та  $14,8 \pm 0,6$  мм ( $p=0.04$ ). Таким чином, помітне зменшення ширини дистального епіфізу через 3 місяці після травми у порівнянні з першим терміном спостереження, що свідчить про зменшення периостального кісткового мозолю за рахунок ремоделювання. За даними більшості авторів, процеси ремоделювання після травми у дрібних тварин закінчуються у терміни від 3 до 9 місяців в залежності від виду перелому [176]. Враховуючи збереження васкуляризації та окістя навколо дірчастого дефекту, можна припустити, що процеси ремоделювання в нашому експерименті завершуються до 3-го місяця спостереження.

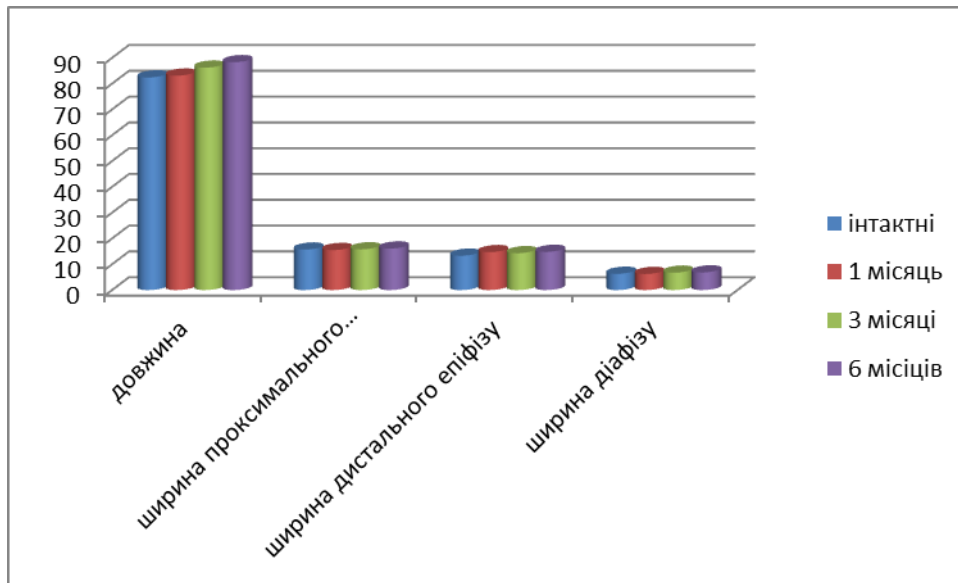


Рисунок 3.4. - Динаміка зміни остеометричних показників стегнової кістки кроля в різні терміни після нанесення дірчастого дефекту в дистальному відділі кістки.

Дані гістологічного дослідження ділянки травми дистального епіфізу свідчать про завершеність процесів регенерації через місяць спостереження. Відмічається формування трабекул губчастої кісткової тканини в місці травми, які анастомозують з трабекулами «материнської» кістки. Межа дефекту виділяється менш інтенсивним забарвленням, що свідчить про незавершеність процесів кальцифікації новоутвореного кісткового матриксу (рис. 3.5). Кортикальна пластинка відновлена не повністю та представлена як ламелярними структурами, які формують оточуючі пластинки, так і трабекулами губчастої речовини. Останні формують більш щільну сітку у порівнянні з інтактними тваринами. В кортикальній пластинці та губчастій речовині епіфізу спостерігається значна кількість одиниць ремоделювання, які інколи займають 2 суміжні трабекули. На поверхні остенніх знаходиться значна кількість активних остееобластів, які секретують міжклітинний матрикс. Міжтрабекулярний простір заповнений здебільшого гемопоетичними клітинами.



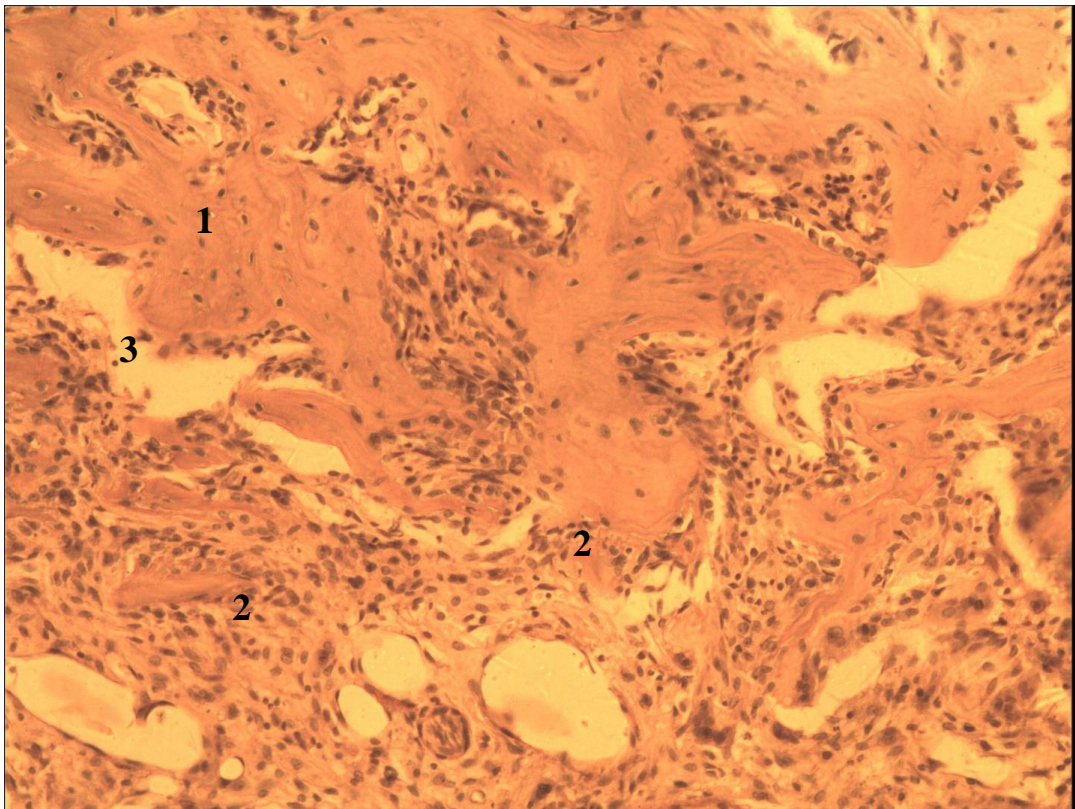


Рисунок 3.5 - Ділянка дистального епіфізу стегнової кістки кроля тварин контрольної серії через місяць після нанесення дірчастого дефекта. Забарвлення Гематоксилін-Еозин, зб. X 400:

1. «Материнська» кісткова тканина,
2. Кістковий регенерат,
3. Міжтрабекулярний простір.

Будова губчастої речовини проксимального епіфізу через місяць після травми не має відмінностей від тварин інтактної серії, окрім більшої кількості одиниць ремоделювання (рис. 3.6). Кісткова тканина середини діяфізу має звичну будову з формуванням 3-х шарів. Проте відмічається зростання конусів ремоделювання, особливо в остеонному шарі. Частина багатоклітинних кісткових одиниць зливається, утворюючи лакуни неправильної форми. Відбувається також активація остеобластів камбіального шару окістя як реакція на травму. Таким чином, травма дистального епіфізу є пусковим механізмом, який активує процеси

ремоделювання для забезпечення відповідності будови тканини новим функціям.

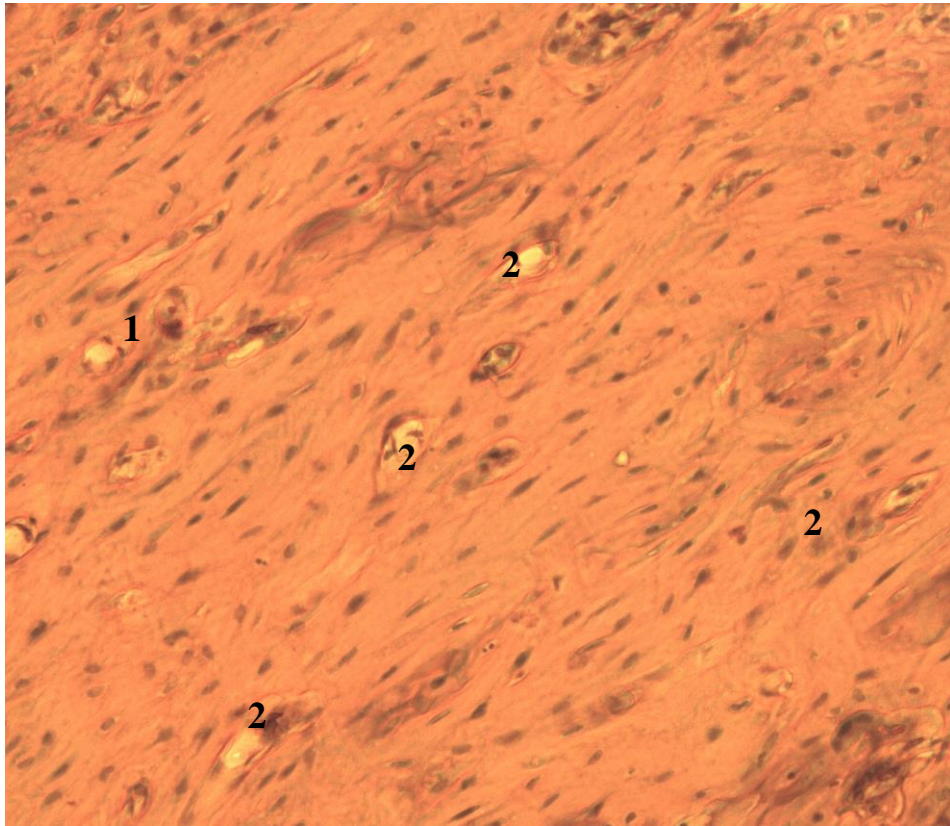


Рисунок 3.6 - Ділянка середини діяфізу стегнової кістки кроля тварин контрольної серії через місяць після нанесення дірчастого дефекта. Забарвлення Гематоксилін-Еозин, зб. X 140::

1. Остеон,
2. Конус ремоделювання.

Аналіз морфометричних показників досліджуваних ділянок кістки показав активацію процесів ремоделювання, особливо в ділянці травми. Так, щільність остеобластів становила в дистальному епіфізі  $26,3 \pm 2,1$  ( $p=0.03$ ) клітин на  $\text{мм}^2$ , в проксимальному –  $18,6 \pm 0,9$  ( $p=0.037$ ) клітин на  $\text{мм}^2$ , в діяфізі –  $13,5 \pm 1,2$  ( $p=0.004$ ) клітин на  $\text{мм}^2$ . При цьому в останньому відмічається зростання клітин в камбіальному шарі окістя. Кількість остеоцитів

достовірно не збільшувалась та становила відповідно  $7,1 \pm 1,2$ ,  $8,3 \pm 0,7$  та  $7,6 \pm 0,5$  клітин на  $1 \text{ мм}^2$ .

Активация процесів ремоделювання підтверджується зростанням кількості одиниць ремоделювання (рис. 3.7). При цьому, в ділянці травми дистального епіфіза їх кількість становить  $7,3 \pm 0,5$  од/мм<sup>2</sup> ( $p=0.042$ ), в проксимальному епіфізі –  $5,9 \pm 0,9$  од/мм<sup>2</sup> ( $p=0.008$ ) та в діяфізі –  $4,1 \pm 1,2$  од/мм<sup>2</sup> ( $p=0.006$ ). Розміри конусів ремоделювання в діяфізі зросла до  $264,6 \pm 21,8$  ( $p=0.04$ ) мкм за рахунок злиття окремих багатоклітинних одиниць. Ширина одиниць ремоделювання в епіфізах залишається без змін і складає  $175,9 \pm 12,1$  мкм. За рахунок активізації процесів ремоделювання та формування нових остеонних структур відбувається зменшення ширини остеонів до  $45,1 \pm 1,7$  мкм ( $p=0.0037$ ) та зростання діаметру їх каналів до  $24,1 \pm 2,5$  мкм ( $p=0.0095$ ). Товщина трабекул губчастої речовини проксимального епіфізу становила  $172,4 \pm 21,5$  мкм та зменшувалась в ділянці травми дистального епіфізу до  $127,7 \pm 2,6$  мкм ( $p=0.001$ ). Значне зменшення товщини трабекул обумовлене формуванням нових незрілих структур на місці втраченої кістки.

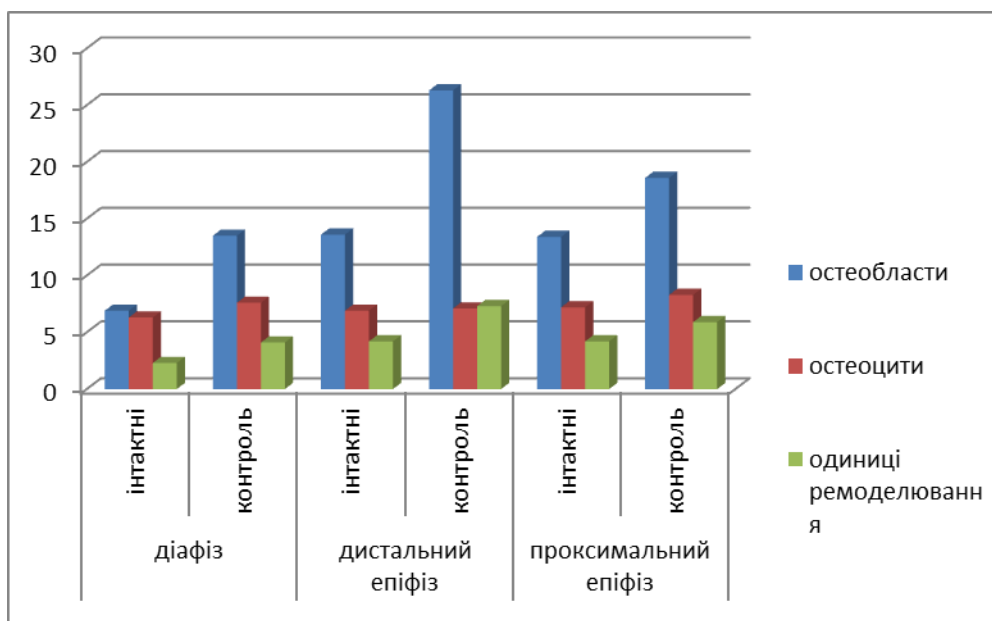


Рисунок 3.7 - Показники морфометрії різних ділянок стегнової кістки кролів через 3 місяці після нанесення травми в дистальному епіфізі.

Растрова електронна мікроскопія дистального епіфізу виявила витончені балочки зі значною кількістю клітин на поверхні. В міжтрабеклярному просторі візуалізується аморфна субстанція, що можливо представляє собою червоний кістковий мозок, пошкоджений в процесі підготовки препаратів. Вміст кальцію на поверхні трабекул становить  $29,8 \pm 1,4$  ваг% ( $p=0.001$ ), фосфору –  $18,06 \pm 0,87$  ваг% ( $p=0.037$ ), що достовірно менше за показники інтактних тварин та обумовлене незавершеною мінералізацією. При цьому кальцій – фосфорний коефіцієнт залишається стабільною величиною та дорівнює 1,6.

Діафіз стегнової кістки має типову будову, проте відмічається зростання кількості конусів ремоделювання в усіх шарах досліджуваної зони. Середній рівень кальцію та фосфору зменшується у порівнянні з інтактними тваринами, що свідчить про зміну метаболізму кісткової тканини в бік переважання процесів резорбції (рис. 3.8). Так, рівень кальцію становить  $32,1 \pm 0,45$  ваг% ( $p=0.033$ ), фосфору –  $19,4 \pm 0,51$  ваг% ( $p=0.04$ ).

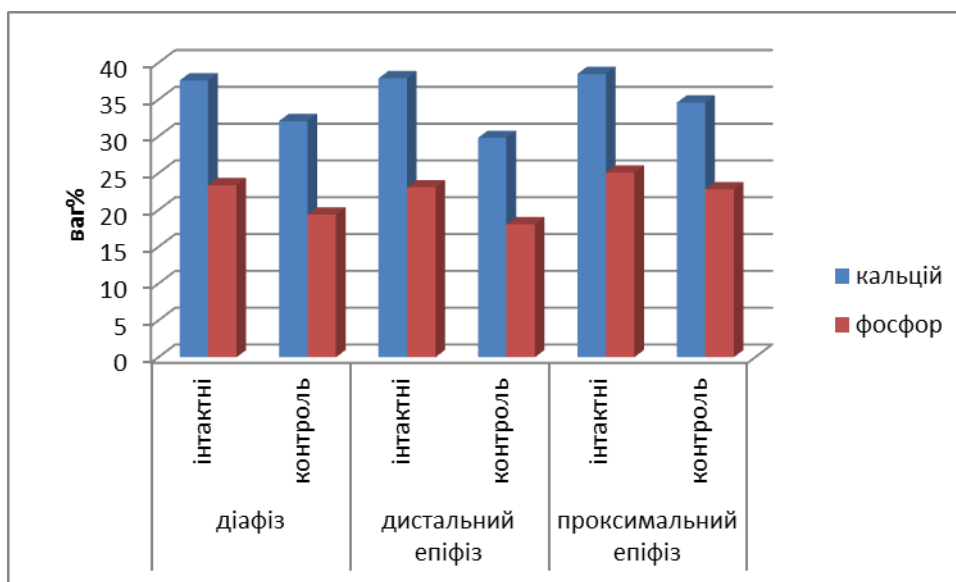


Рисунок 3.8 - Вміст кальцію та фосфору в різних ділянках стегнової кістки кроля через місяць після нанесення травми в дистальному епіфізі.

В проксимальному епіфізі растрова електронна мікроскопія не виявила візуальних змін структури у порівнянні з інтактною серією тварин, проте

відмічається зменшення вмісту кальцію до  $34,6 \pm 1,3$  ваг% ( $p=0.031$ ) та фосфору – до  $22,8 \pm 0,67$  ваг%. Загалом, дані растрової електронної мікроскопії підтверджують гістологічні зміни в кістковій тканині, що виникають внаслідок травми дистального епіфізу.

Число твердості в зоні регенерату дистального епіфізу значно менше за показники інтактних тварин -  $112,9 \pm 4,8$  кгс/мм<sup>2</sup> ( $p=0.001$ ), що обумовлене незавершеними процесами мінералізації. Натомість показник мікротвердості діяфізу та проксимального епіфізу також достовірно зменшується, що є підтвердженням змін структури віддалених ділянок кістки в умовах травми. Число твердості зазначених ділянок дорівнює  $239,5 \pm 12,7$  кгс/мм<sup>2</sup> ( $p=0.03$ ) та  $192,5 \pm 7,9$  кгс/мм<sup>2</sup> ( $p=0.021$ ).

Через 3 місяці після травми відмічається формування повноцінної кісткової тканини на місці дефекту в дистальному епіфізі (рис. 3.9). Кісткові трабекули мають звичну будову та формують сітку з міжтрабекулярними просторами, виповненими червоним кістковим мозком та жировою тканиною. В даний термін спостереження відмічається наявність ліній склеювання, особливо на межі новосформованих трабекул та «материнської» кістки.

Трабекули мають звичайне забарвлення, на їх поверхні знаходяться остеобласти, кількість яких не перевищує показники інтактної серії тварин. Проксимальний епіфіз має звичну гістологічну будову та не має відмінностей від інтактної серії тварин. Діафіз також має звичну будову, проте відмічається зростання кількості ліній склеювання, як наслідок активності процесів ремоделювання речовини в попередній термін.

Морфометричні показники препаратів дистального епіфізу свідчать по майже повне завершення процесів перебудови кісткової тканини після травми. Так, кількість остеобластів становить  $17,5 \pm 0,4$  клітин на 1 мм<sup>2</sup> ( $p=0.0052$ ), що перевищує інтактні показники, проте є значно меншим за попередній термін спостереження. Відмічається також деяке зростання



кількості остеоцитів, що є свідченням завершення формування нового кісткового матриксу на місці втраченого.

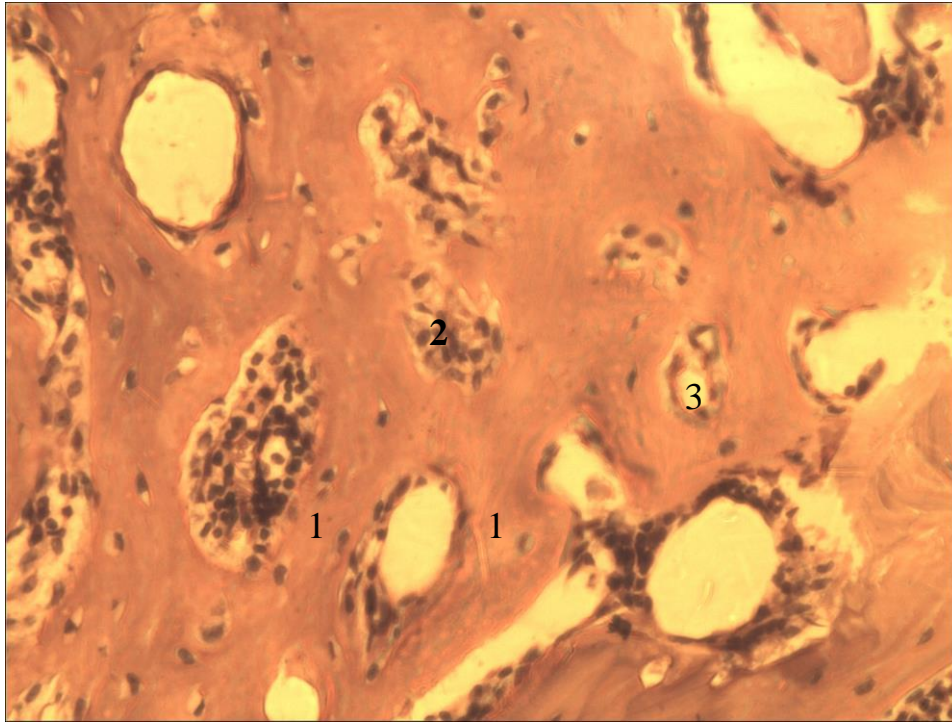


Рисунок 3.9 - Ділянка дистального епіфізу стегнової кістки кроля тварин контрольної серії через 3 місяці після нанесення дірчастого дефекту. Забарвлення Гематоксилін-Еозин, зб. X 400:

1. Кісткова трабекула,
2. Червоний кістковий мозок,
3. Одиниця ремоделювання.

Кількість клітин становить  $9,2 \pm 0,5$  клітин на  $\text{мм}^2$  ( $p=0.003$ ). Щільність остеобластів та остеоцитів в проксимальному епіфізі не відрізняється від інтактних показників та становить  $14,1 \pm 0,8$  та  $8,3 \pm 0,5$  клітин на  $\text{мм}^2$  відповідно. В діафізі відбувається зменшення кількості остеобластів у порівнянні з попереднім терміном спостереження до  $10,2 \pm 0,7$  клітин на  $\text{мм}^2$ , проте їх кількість ще достовірно відрізняється від інтактних показників. Щільність остеоцитів при цьому є незмінною та становить  $8,2 \pm 0,6$  клітин на  $\text{мм}^2$ .

Кількість одиниць ремоделювання в проксимальному епіфізі становить  $4,5 \pm 0,2$  од/ $\text{мм}^2$ , що свідчить про зменшення активності процесів

ремоделювання у віддаленому від травми локусі. В дистальному епіфізі також відбувається зменшення одиниць ремоделювання, проте їх кількість становить  $5,8 \pm 0,3$  од/мм<sup>2</sup> ( $p=0.04$ ), що свідчить про продовження ремоделювання тканини в місці травми. В діафізі не відбувається зменшення кількості конусів ремоделювання у порівнянні з попереднім терміном спостереження, що можливо обумовлене більшим повільним завершення процесу в компактній речовині (рис. 3.10). При цьому розміри одиниць ремоделювання в епіфізах та діафізі не відрізняється від інтактних показників та становить відповідно  $194,6 \pm 19,5$  мкм,  $182,2 \pm 11,6$  мкм та  $210,6 \pm 32,1$  мкм. Ширина остенів та їх каналів через 3 місяці після травми повертається до розміру показників інтактної серії та становить відповідно  $52,8 \pm 1,7$  мкм та  $20,1 \pm 0,6$  мкм. Ширина трабекул в дистальному епіфізі все ще достовірно менша показників тварин без травми і становить  $142,6 \pm 2,6$  мкм ( $p=0.008$ ), в проксимальному епіфізі залишається без змін –  $169,6 \pm 2,8$  мкм.

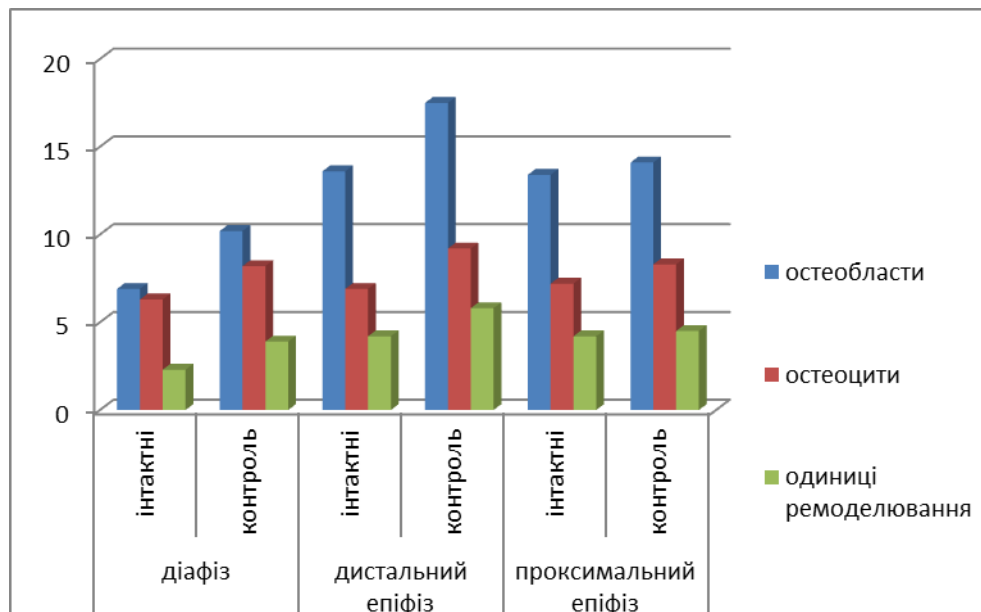


Рисунок 3.10 - Показники морфометрії різних ділянок стегнової кістки кролів через 3 місяці після нанесення травми в дистальному епіфізі.

Растрова електронна мікроскопія свідчить про відновлення структури дистального епіфізу через 3 місяці після нанесення травми. Будова

кортикальної пластинки та губчастої речовини не відрізняється від показників інтактних тварин. Проте рівень кальцію та фосфору все ще залишається меншим по відношенню до інтактної серії та складає відповідно  $32,3 \pm 1,2$  ваг% ( $p=0.028$ ) та  $20,1 \pm 0,8$  ваг% ( $p=0.04$ ).

Будова діафізу та проксимального епіфізу не відрізняється від інтактних показників. Вміст кальцію становить відповідно  $36,2 \pm 2,5$  ваг% та  $34,9 \pm 1,7$  ваг%, фосфору –  $23,9 \pm 2,7$  ваг% та  $21,3 \pm 0,8$  ваг%. Зазначені показники свідчать про нормалізацію кальцій-фосфорного обміну в термін 3 місяці після травми у віддалених від дефекту ділянках (рис. 3.11).

Через 3 місяці після формування дірчастого дефекту, число твердості кісткової тканини дистального епіфізу становить  $145,3 \pm 7,4$  кгс/мм<sup>2</sup> ( $p=0.01$ ), що все ще достовірно менше за показники інтактних тварин. Показник мікротвердості діафізу та проксимального епіфізу відновлюється через 3 місяці після травми та становить відповідно  $291,6 \pm 17,2$  кгс/мм<sup>2</sup> і  $203,4 \pm 8,1$  кгс/мм<sup>2</sup>.

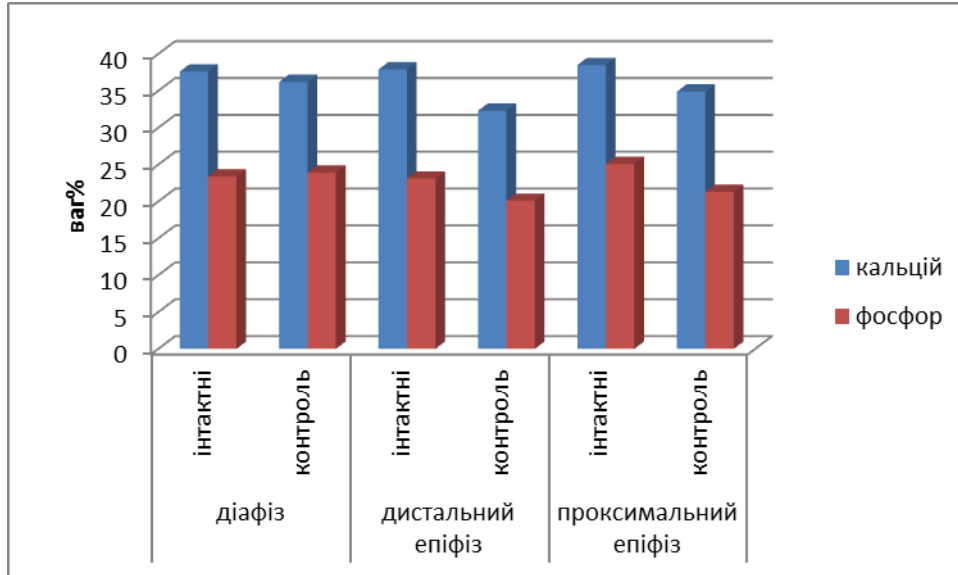


Рисунок 3.11 - Вміст кальцію та фосфору в різних ділянках стегнової кістки кроля через 3 місяці після нанесення травми в дистальному епіфізі.

Через 6 місяців після травми гістологічна будова епіфізів та діафізу має типову будову, характерну для неушкодженої кістки. Ділянку травми в



дистальному епіфізі неможливо ідентифікувати, що свідчить про повну перебудову новоутвореного кісткового матриксу.

Щільність остеобластів на поверхні трабекул дистального та проксимального епіфізу становить відповідно  $12,8 \pm 0,9$  і  $13,7 \pm 1,1$  клітин на  $\text{мм}^2$ , в компактній речовині діафізу –  $7,2 \pm 0,7$  клітин на  $\text{мм}^2$ . Щільність остеоцитів також не відрізняється від показників інтактної серії та становить відповідно  $6,8 \pm 0,9$ ,  $7,4 \pm 0,5$  та  $6,2 \pm 0,7$  клітин на  $\text{мм}^2$ . Про завершення процесів ремоделювання в дистальному епіфізі та зменшення їх інтенсивності у віддалених ділянках кістки свідчить зменшення кількості одиниць ремоделювання відповідно до  $4,6 \pm 0,3$  од/ $\text{мм}^2$ ,  $4,3 \pm 0,6$  од/ $\text{мм}^2$  та  $2,5 \pm 0,4$  од/ $\text{мм}^2$ . Ширина багатоклітинних кісткових одиниць становила від  $193,6 \pm 13,6$  мкм в дистальному епіфізі до  $209,8 \pm 18,5$  мкм – в діафізі. Діаметр структурних одиниць діафізу – остенів склав  $56,3 \pm 8,6$  мкм, їх каналів –  $18,3 \pm 2,8$  мкм, що не відрізняється від даних інтактної серії тварин (рис. 3.12).

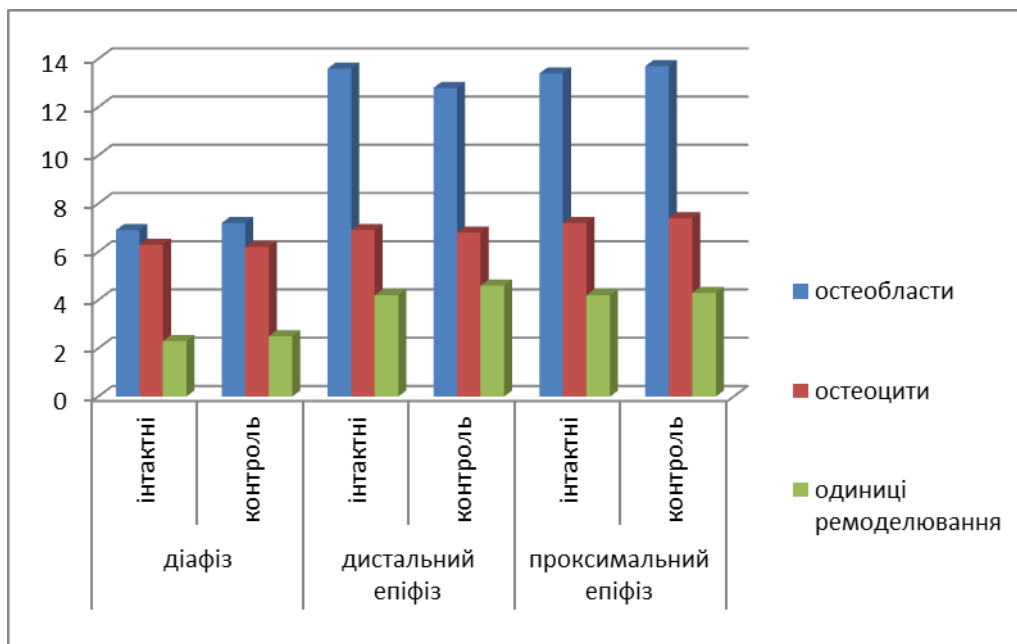


Рисунок 3.12 - Показники морфометрії різних ділянок стегнової кістки кролів через 6 місяців після нанесення травми в дистальному епіфізі.

Растрова електронна мікроскопія не виявила структурних відмінностей будови кісткової тканини. Рентген-дисперсійний аналіз вмісту кальцію та фосфору виявив зростання їх кількості у всіх ділянках кістки у порівнянні з

попереднім терміном спостереження (рис. 3.13). Рівень кальцію коливався в межах від  $35,8 \pm 1,8$  ваг% до  $38,4 \pm 3,1$  ваг%, фосфору – від  $22,5 \pm 1,6$  ваг% до  $25,7 \pm 0,8$  ваг%.

Показники мікротвердості кісткової тканини через 6 місяців після травми не відрізняються від інтактних тварин та становлять в діяфізі  $296,8 \pm 23,6$  кгс/мм<sup>2</sup>, в дистальному та проксимальному епіфізах – відповідно  $219,6 \pm 16,3$  кгс/мм<sup>2</sup> та  $208 \pm 11,5$  кгс/мм<sup>2</sup>.

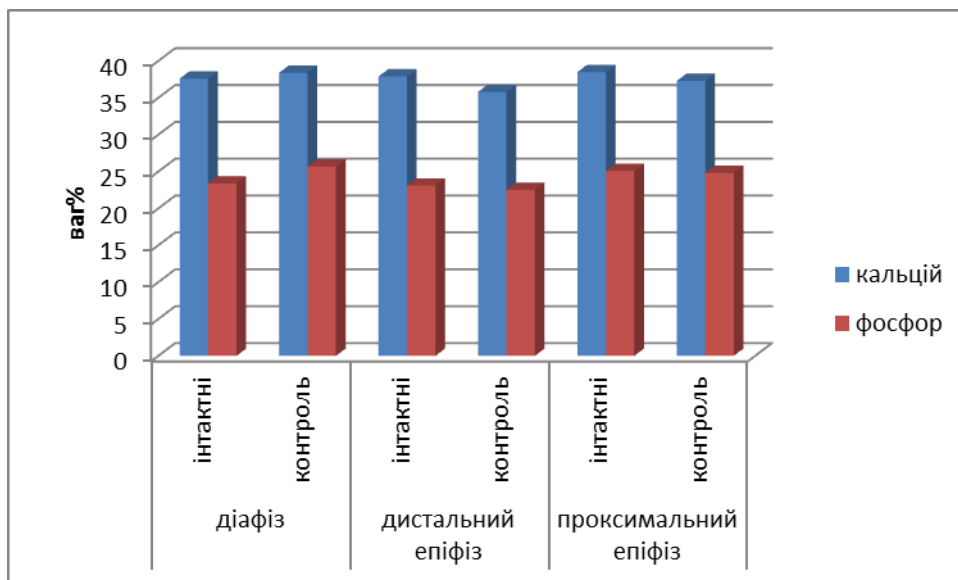


Рисунок 3.13 - Вміст кальцію та фосфору в різних ділянках стегнової кістки кроля через 6 місяців після нанесення травми в дистальному епіфізі.

Таким чином, травма кістки є чинником, який стимулює активність процесів ремоделювання у всьому ушкодженому органі. Відновлення втраченої тканини завершується через 1 місяць після травми та супроводжується втратою кальцію і фосфору як в діяфізі, так і в проксимальному епіфізі. Зменшення вмісту основних елементів обумовлює зменшення числа твердості у всьому травмованому органі. Відновлення будову та функції кісткової тканини стегнової кістки розпочинається через 3 місяці та повністю завершується через 6 місяців після травми.

## РОЗДІЛ 4

### ОСОБЛИВОСТІ РОСТУ, БУДОВИ, ХІМІЧНОГО СКЛАДУ ТА МІКРОТВЕРДОСТІ КІСТОК ТВАРИН ПРИ ІМПЛАНТАЦІЇ МЕТАЛЕВИХ СПЛАВІВ РІЗНОГО СКЛАДУ

#### 4.1 Ріст, будова, хімічний склад та мікротвердість стегнової кістки при імплантації сплаву TiVT6

Через місяць після імплантації не відмічається порушення повздовжнього росту стегнової кістки кроля. Її довжина становить  $84,2 \pm 1,7$  мм. Ширина діяфізу та проксимального епіфізу становить  $6,25 \pm 0,27$  мм та  $15,4 \pm 0,76$  мм, що також знаходиться на рівні інтактних та контрольних тварин. При цьому ширина дистального епіфізу значно зростає і становить  $15,6 \pm 0,18$  мм ( $p=0.042$ ), що обумовлене значною періостальною реакцією на введення металевго імплантату. Через 3 та 6 місяців після введення сплаву TiVT6 в ділянку проксимального епіфізу не відмічається порушення повздовжнього та більшості показників поперечного росту. Натомість ширина дистального епіфізу становить у відповідні терміни спостереження  $15,8 \pm 0,23$  мм ( $p=0.006$ ) та  $16,2 \pm 0,16$  мм ( $p=0.0029$ ). Зміни розмірів травмованої ділянки кістки обумовлене тривалим контактом з металевим імплантатом і його впливом на метаболічні процеси в кістковій тканині.

Гістологічне дослідження периімплантаційної зони після видалення сплаву свідчить активну перебудову кісткової тканини навколо простезу та вогнища формування сполучної тканини. Остання не формує суцільної капсули, проте зустрічається на більшості препаратів у вигляді відокремлених вогнищ. Сполучна тканина, що сформована на межі імплантат-кісткова тканина містить хаотично розташовані волокна та незначну кількість фібробластів. Наступною, у напрямку від імплантату до «материнської» кістки розташовується грубоволокниста кісткова тканина, яка представлена неупорядкованими мінералізованими колагеновими

волокнами зі значною кількістю остеобластів. Місцями, волокна кісткової тканини анастомозують зі сполучною тканиною. Трабекули губчастої речовини дистального епіфізу дещо витончені, місцями мають мозаїчне забарвлення (рис. 4.1). Характерною рисою є зростання одиниць ремоделювання на поверхні трабекул, що свідчить про активну перебудову губчастої речовини у відповідь на імплантацію сплаву.

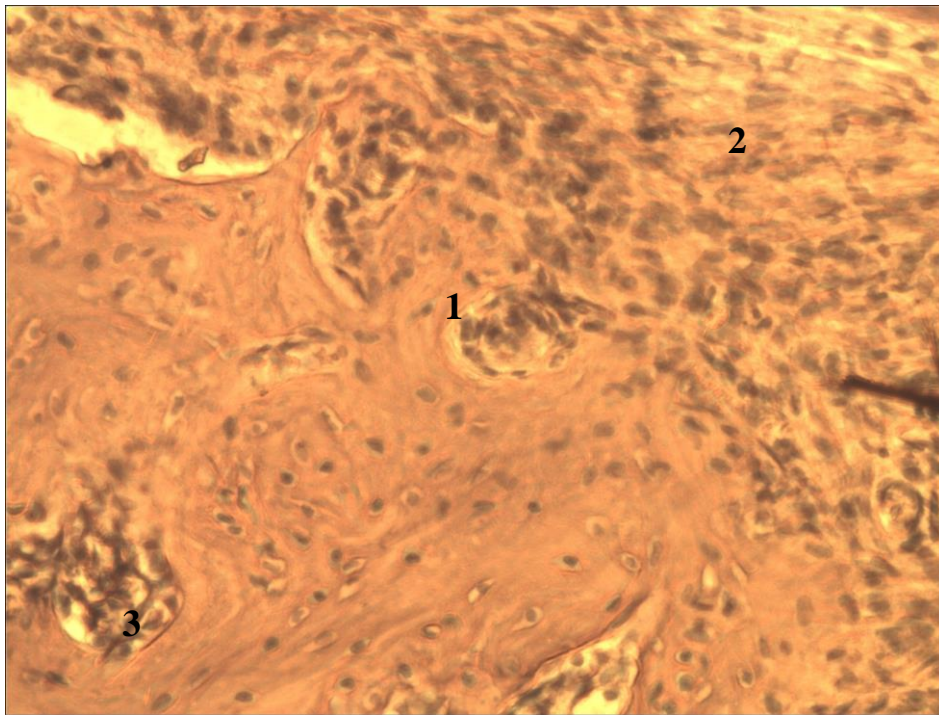


Рисунок 4.1 - Ділянка дистального епіфізу стегнової кістки кроля через місяць після імплантації сплаву TiVT6. Забарвлення Гематоксилін-Еозин, зб. X 400:

1. Кісткова трабекула,
2. Ділянка сполучної тканини на межі з імплантатом,
3. Кісткова одиниця ремоделювання.

В діяфізі стегнової кістки зберігається звична зональна будова, проте відмічається значне збільшення кількості конусів ремоделювання, здебільшого в остеонному шарі. Проксимальний епіфіз стегнової кістки не

має структурних відмінностей від контрольної групи тварин і представлений звичною сіткою кісткових трабекул.

Морфометричні показники досліджуваних ділянок кістки свідчать про активність процесів перебудови тканини у відповідь на імплантацію металевго сплаву (рис. 4.2). Так, щільність остеобластів в тканині дистального епіфізу становить  $28,9 \pm 1,4$  клітин на  $1 \text{ мм}^2$ , що достовірно не відрізняється від моделі дірчастого дефекту та свідчить про активний синтез міжклітинної речовини кістки. В проксимальному епіфізі та діяфізі кількість клітин також знаходиться на рівні контрольної групи та становить відповідно  $16,5 \pm 0,8$  та  $14,2 \pm 1,4$  клітин на  $\text{мм}^2$ . Щільність остеоцитів дещо збільшується у порівнянні з тваринами контрольної серії і становить відповідно досліджуваним ділянкам  $9,4 \pm 0,5$  ( $p=0.007$ ),  $10,2 \pm 0,3$  ( $p=0.028$ ) та  $10,8 \pm 0,6$  ( $p=0.04$ ) клітин на  $\text{мм}^2$ .

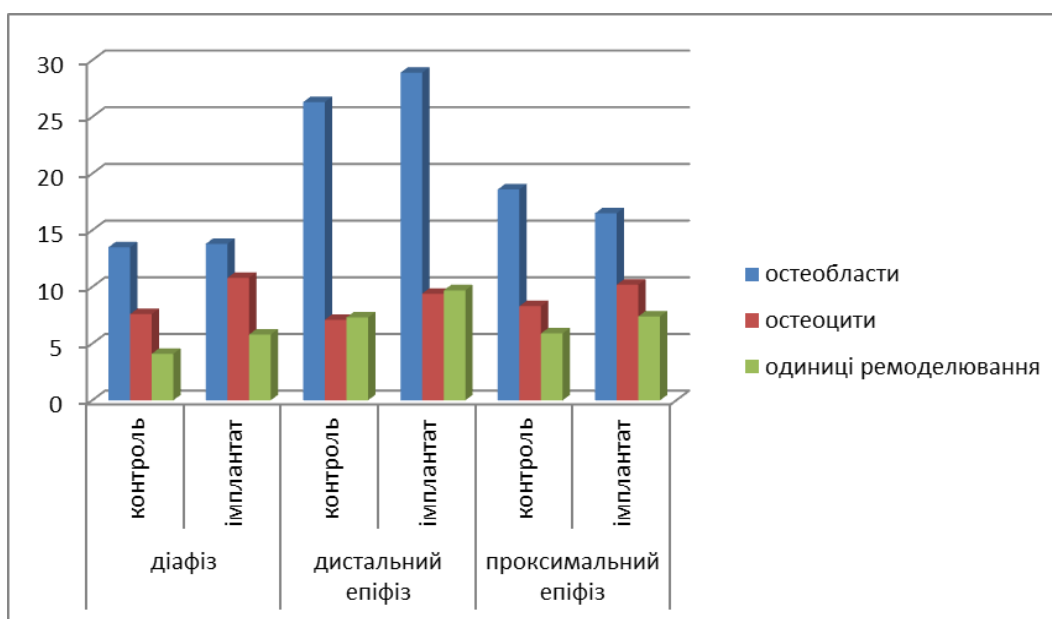


Рисунок 4.2 - Показники морфометрії різних ділянок стегнової кістки кролів через місяць після імплантації сплаву складу TiVT6.

Імплантація металевго простезу складу TiVT6 призводить до значної активації процесів ремоделювання, навіть у порівнянні з контрольною серією. Так, кількість багатоклітинних одиниць в тканині дистального епіфізу становить  $9,7 \pm 0,5$  од/ $\text{мм}^2$  ( $p=0.007$ ), в проксимальному епіфізі та діяфізі – відповідно  $7,8 \pm 0,3$  од/ $\text{мм}^2$  ( $p=0.047$ ) та  $5,8 \pm 0,4$  од/ $\text{мм}^2$  ( $p=0.007$ ).

Ширина одиниць ремоделювання також зростає у порівнянні з інтактними та контрольними тваринами за рахунок їх злиття на окремих ділянках. Так, відповідно зонам спостереження, ширина багатоклітинних кісткових одиниць дорівнює  $236,9 \pm 15,8$  мкм ( $p=0.03$ ),  $221,3 \pm 27,8$  мкм ( $p=0.03$ ) та  $295 \pm 21,5$  мкм ( $p=0.001$ ). В діяфізі спостерігається зменшення діаметру остенів до  $43,8 \pm 1,6$  мкм та розширення їх каналів до  $23,9 \pm 0,7$  мкм з рахунок зростання кількості первинних остенів внаслідок активної перебудови речовини діяфізу. Ширина трабекул в дистальному епіфізі зменшується до  $143,6 \pm 2,8$  мкм ( $p=0.04$ ) в проксимальному – до  $159,6 \pm 5,3$  мкм ( $p=0.005$ ). Зменшення даного показника відбувається за рахунок наявності значної кількості одиниць ремоделювання на поверхні трабекул.

Через місяць після введення в кістку імплантату зі сплаву TiVT6 методом растрової електронної мікроскопії визначається формування навколо нього зони пухкої електронно-щільної речовини, яка практично не містить кальцію і фосфору, що свідчить про формування зон сполучної тканини навколо імплантату (рис. 4.3).

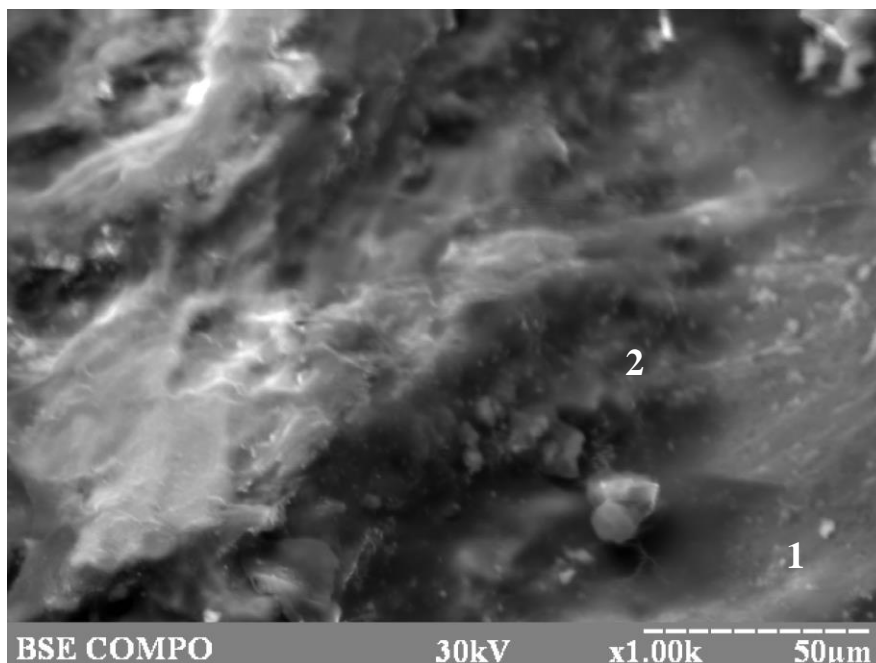


Рисунок 4.3 - Растрова електронна мікроскопія періімплантаційної зони через місяць після імплантації сплаву складу TiVT6. Зб. X 1000:

1. Поверхня імплантату,
2. Хаотично розташовані волокна,

У тканині, що формується навколо імплантату відзначається відсутність характерної остеонної або трабекулярної будови, вона сформована хаотично-орієнтованими волокнами, що нагадують грубоволокнисту тканину з наявністю значної кількості клітин веретеноподібної і сферичної форми, що дозволяє віднести їх до клітин фібробластичного ряду. Визначається також формування кісткової тканини, яка нещільно прилягає до імплантату. Її можна віднести до грубоволокнистої кісткової тканини по хаотичному напрямку кісткових трабекул, що її формують. Шар грубоволокнистої кістки шириною від 200 мкм до 1 мм оточений пластинчастою кістковою тканиною, яка ймовірно є залишками кістки в яку проводили імплантацію.

Рентген-дисперсійний аналіз вмісту хімічних елементів не виявив наявності кальцію та фосфору в тканині навколо імплантату, що можливо свідчить про формування остеоїда. В кістковій тканині навколо періімплантаційної зони виявляється кальцій та фосфор в концентраціях  $24,3 \pm 0,8$  ваг% ( $p=0.001$ ) та  $17,8 \pm 1,1$  ваг% ( $p=0.017$ ). Таким чином, відбувається зменшення кальцій-фосфорного коефіцієнта, що свідчить про наявність значної кількості аморфного фосфату кальцію та кальцій дефіцитного апатиту. Можливо, кальцій заміщується на елементи, які містяться в імплантаті. В тканині дистального епіфізу значно зростає вміст алюмінію – до  $1,8 \pm 0,08$  ваг% та з'являються титан та ванадій у концентраціях  $1,9 \pm 0,05$  ваг% та  $1,1 \pm 0,12$  ваг% відповідно. Єдиним джерелом походження останніх є імплантат, який в результаті взаємодії з кісткою вивільняє складові елементи. Не зважаючи на відносну інертність, відбувається відносно велике вивільнення металів, які можуть впливати на метаболізм кісткової тканини.

Електронна мікроскопія не виявила особливостей перебудови проксимального епіфізу, проте метод рентген-дисперсійного аналізу визначив зростання вмісту алюмінію до  $1,2 \pm 0,21$  ваг% та появу ванадію у незначній концентрації – 0,4 ваг%. Рівень кальцію та фосфору достовірно не

змінюється у порівнянні з контролем, проте є достовірно меншим за показники інтактних тварин.

В діяфізі виявляється зменшення рівню кальцію та фосфору у порівнянні з інтактними тваринами, проте їх вміст відповідає контрольній групі кролів і дорівнює  $33,5 \pm 0,56$  ваг% та  $18,5 \pm 0,65$  ваг% (рис. 4.4). В діяфізі виявляється титан та ванадій в концентраціях  $0,8 \pm 0,05$  ваг% та  $0,5 \pm 0,1$  ваг% та зростання вмісту алюмінію до  $1,2 \pm 0,25$  ваг%. Таким чином, в результаті взаємодії в системі імплантат-кісткова тканина відбувається часткове окислення та корозія протезу з вивільненням його складових елементів і їх міграцією в усі відділи травмованого органу.

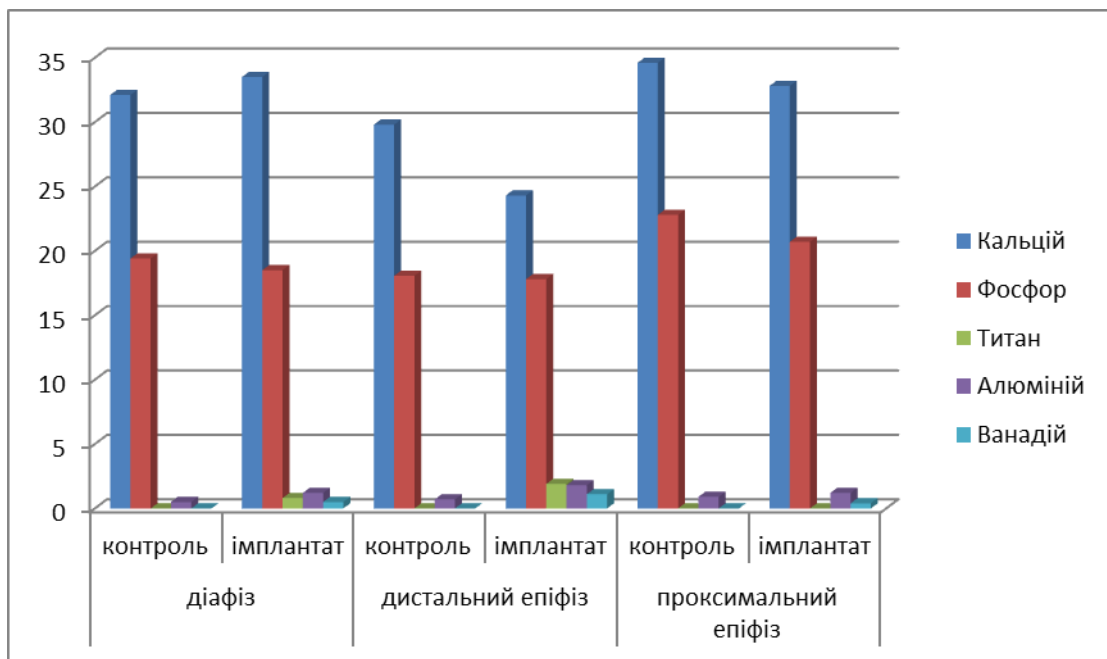


Рисунок 4.4 - Вміст кальцію та фосфору та складових елементів імплантату в різних ділянках стегнової кістки кроля через місяць після імплантації сплаву складу TiVT6.

Дослідження показників мікротвердості кісткової тканини трабекул періімплантаційної зони виявило зменшення числа твердості у порівнянні з контролем до  $154,6 \pm 2,9$  кгс/мм<sup>2</sup> ( $p=0.004$ ), проте даний показник достовірно перевищує дані контрольної групи (рис. 4.5). Це обумовлено збереженням структури кістки навколо імплантату, в той час як показник мікротвердості в



контролі визначався на поверхні новостворених кісткових трабекул з низьким рівнем мінералізації. Активація процесів ремоделювання в умовах нових біомеханічних реалій обумовлює зменшення числа твердості в середині діафізу до  $248,5 \pm 4,8$  кгс/мм<sup>2</sup> ( $p=0.02$ ) та в проксимальному епіфізі до  $186,6 \pm 1,8$  кгс/мм<sup>2</sup> ( $p=0.033$ ).

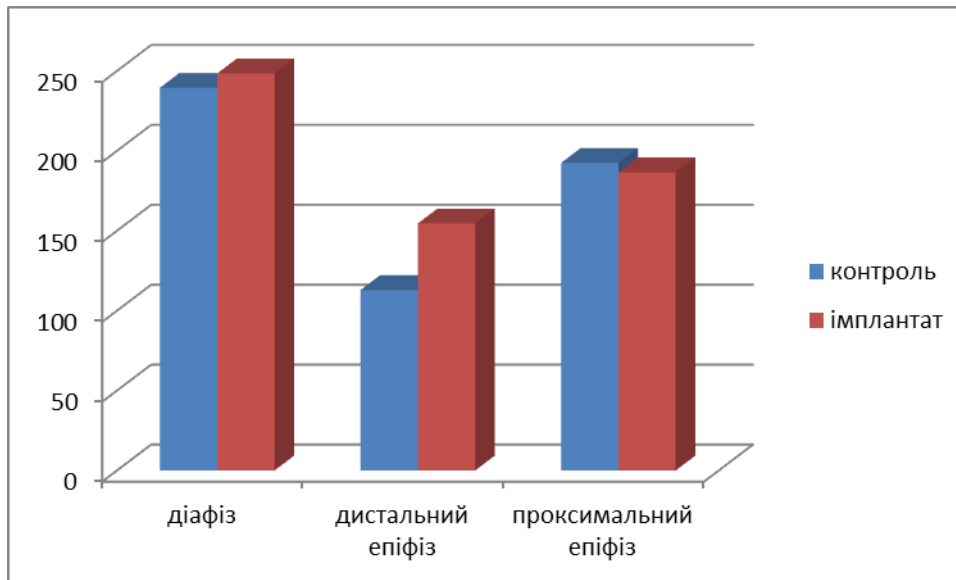


Рисунок 4.5 - Показник мікротвердості різних ділянок стегнової кістки кроля через місяць після імплантації сплаву складу TiVT6.

Через 3 місяці після імплантації навколо металевого сплаву формується тканина, яка має ознаки кальцифікації. Зразу за нею формуються трабекули губчастої кісткової тканини, які мають мозаїчне забарвлення та чисельні одиниці ремоделювання на своїй поверхні, що свідчить про активність процесів перебудови кісткового матриксу. Відмічаються чисельні анастомози між сполучною речовиною капсули та кістковими балочками. Постійне навантаження на зону контакту, можливо є основним чинником стимуляції ремоделювання. В проксимальному епіфізі та діафізі зберігаються ознаки високої активності процесів перебудови кісткового матриксу зі значною кількістю одиниць ремоделювання та зростанням активності кісткових клітин, зокрема остеобластів та остеобластів. Трабекули кісткової речовини епіфізів витончені, часто сліпо закінчуються без формування анастомозів, зростає площа міжтрабекулярного простору. В діафізі зростає кількість

первинних остенів з широким Гаверсовим каналом (рис. 4.6). Значно більший модуль Юнга імплантату здатний викликати ефект зміщення, що є основним фактором активації процесів ремоделювання при імплантації металевих протезів.

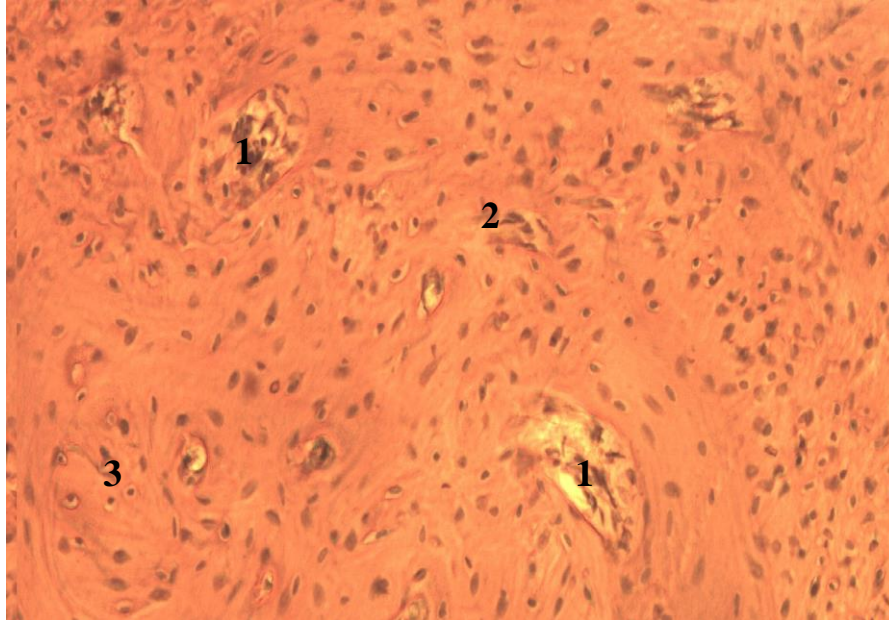


Рисунок 4.6 - Ділянка діяфізу стегнової кістки кроля через 3 місяці після імплантації сплаву TiVT6. Забарвлення Гематоксилін-Еозин, зб. X 200:

1. Одиниця ремоделювання;
2. Мозаїчність забарвлення;
3. Хаотичне розташування вставних пластинок.

На відміну від контрольної групи тварин, показники морфометрії не свідчать про зменшення активності процесів ремоделювання. Так, кількість активних остеобластів становить в дистальному епіфізі  $24,3 \pm 1,6$  клітин на  $\text{мм}^2$  ( $p=0.02$ ), в діяфізі –  $13,4 \pm 0,5$  ( $p=0.03$ ) та в проксимальному епіфізі –  $17,8 \pm 1,2$  ( $p=0.04$ ) клітин на  $\text{мм}^2$ . Щільність остеоцитів дещо зменшується, проте це не є позитивною ознакою, так як свідчить про відсутність формування зрілої кісткової тканини. Їх кількість становить відповідно ділянкам спостереження  $10,5 \pm 0,6$ ,  $9,2 \pm 0,3$  та  $8,6 \pm 0,7$  клітин на  $\text{мм}^2$ .

Кількість одиниць ремоделювання у порівнянні з попереднім терміном спостереження достовірно не змінюється, хоча в даний термін у контрольних

тварин відбувалось суттєве зниження активності процесів ремоделювання (рис. 4.7). Кількість багатоклітинних одиниць становить в дистальному епіфізі  $8,5 \pm 0,9$  од/мм<sup>2</sup> ( $p=0.0059$ ), в діяфізі –  $5,5 \pm 0,3$  од/мм<sup>2</sup> ( $p=0.044$ ) та в проксимальному епіфізі –  $8,1$  од/мм<sup>2</sup> ( $p=0.0052$ ). Незмінною також залишається ширина одиниць ремоделювання в усіх досліджуваних ділянках, яка становить відповідно  $228,6 \pm 7,9$  мкм ( $p=0.03$ ),  $231,5 \pm 9,2$  мкм ( $p=0.039$ ) та  $278,9 \pm 21,5$  мкм ( $p=0.006$ ). Висока активність процесів ремоделювання призводить до появи великої кількості первинних остенів, що призводить до зменшення їх загальної ширини до  $41,9 \pm 0,31$  мкм ( $p=0.02$ ) та розширення їх каналів до  $24,6 \pm 0,18$  мкм. Товщина трабекул губчастої речовини дистального епіфіза становить при цьому  $139,2 \pm 2,8$  мкм, проксимального –  $147,0 \pm 1,6$  мкм ( $p=0.0089$ ). Таким чином морфометричні параметри свідчать про високу активність перебудови кісткової тканини всього органу навіть через 3 місяці після імплантації сплаву TiVT6.

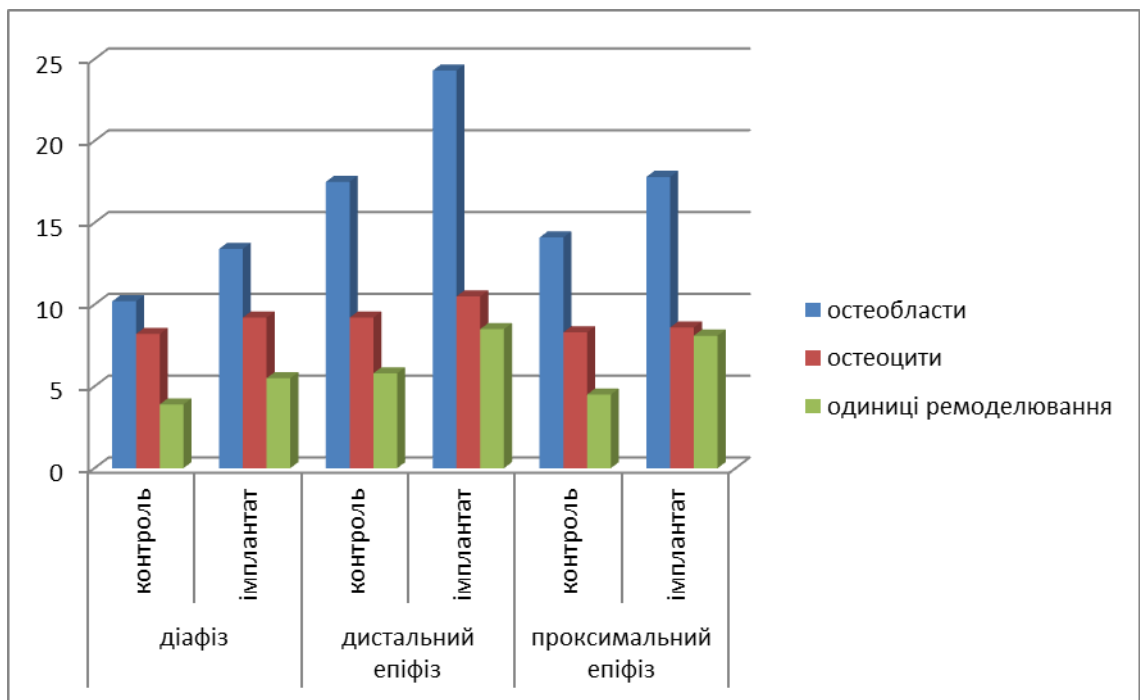


Рисунок 4.7 - Показники морфометрії різних ділянок стегнової кістки кролів через 3 місяці після імплантації сплаву складу TiVT6.

Через 3 місяці після травми не відбувається суттєвої перебудови сполучної речовини навколо імплантату. Зона губчастої кісткової тканини,

яка прилягає до неї не відрізняється за будовою від «материнської» кістки, проте відмічається наявність мікропереломів трабекул, як показника порушення біомеханіки зони (рис. 4.8). Рентген-дисперсійний аналіз виявив наявність кальцію та фосфору у концентраціях, характерних для гідроксиапатиту, що свідчить про формування пластинчастої тканини на місці грубоволокнистої, яка була виявлена через місяць після травми. Концентрація елементів складає відповідно  $27,6 \pm 0,4$  ваг% ( $p=0.024$ ) та  $20,6 \pm 0,12$  ваг%. При цьому відбувається зростання рівнів елементів, які входять до складу титанового сплаву. Вміст титану складає  $3,4 \pm 0,08$  ваг%, алюмінію –  $2,6 \pm 0,1$  ваг% та ванадію –  $1,9 \pm 0,09$  ваг%.

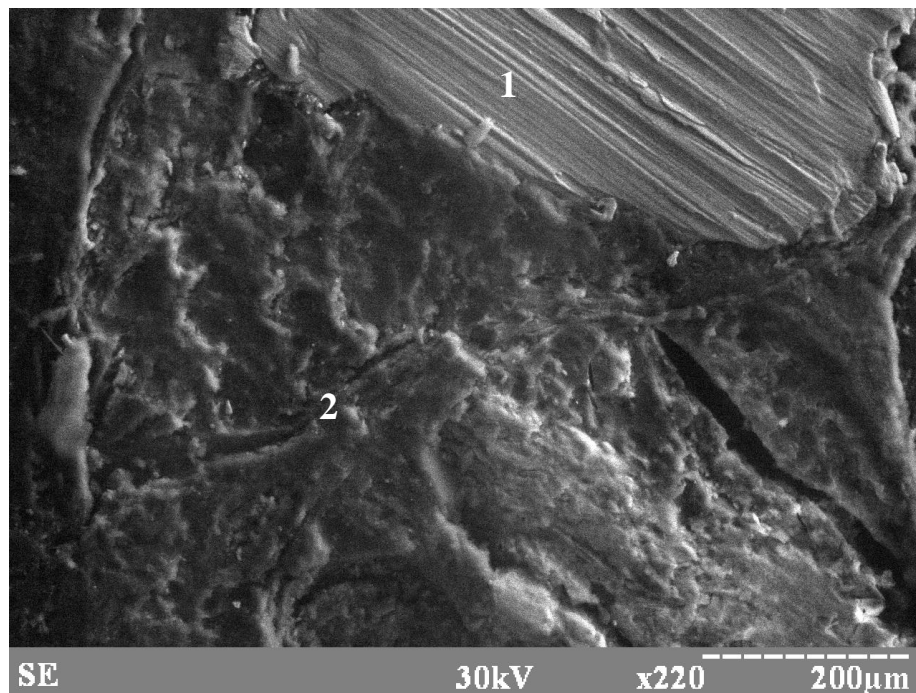


Рисунок 4.8 - Періімплантаційна зона через 3 місяці після імплантації сплаву складу TiVT6. Зб. X220:

1. Поверхня імплантату
2. Мікроперелом.

В проксимальному епіфізі не відбувається суттєвих мікроскопічних змін та зсувів співвідношення кальцію та фосфору, їх концентрації складають відповідно  $31,1 \pm 0,18$  ваг% та  $19,8 \pm 0,21$  ваг%, залишаючись достовірно меншими за показники контролю (рис. 4.9). Рентген-дисперсійний аналіз

показав наявність титану у концентрації  $1,5 \pm 0,12$  ваг%, що свідчить про міграцію даного елемента у віддалені ділянки травмованої кістки. Вміст алюмінію та ванадію також зростають до  $1,5 \pm 0,32$  ваг% та  $0,7 \pm 0,09$  ваг%.

В діяфізі відмічається наявність конусів ремоделювання та поодинокі мікротріщини в зоні оточуючих пластинок, що свідчить про порушення міцності кісткової тканини. Рівень кальцію та фосфору майже не змінюється у порівнянні з попереднім терміном спостереження і є достовірно меншим за показники контролю. В кістковій речовині діяфізу значно зростає вміст металів, що входять до складу протезів – титану, алюмінію та ванадію. Їх рівень складає відповідно  $2,3 \pm 0,43$  ваг%,  $1,9 \pm 0,21$  ваг% та  $1,0 \pm 0,19$  ваг%. Враховуючи повільну перебудову кісткового матриксу діяфізу, дані елементи здатні довгий час впливати на процеси остеогенезу.

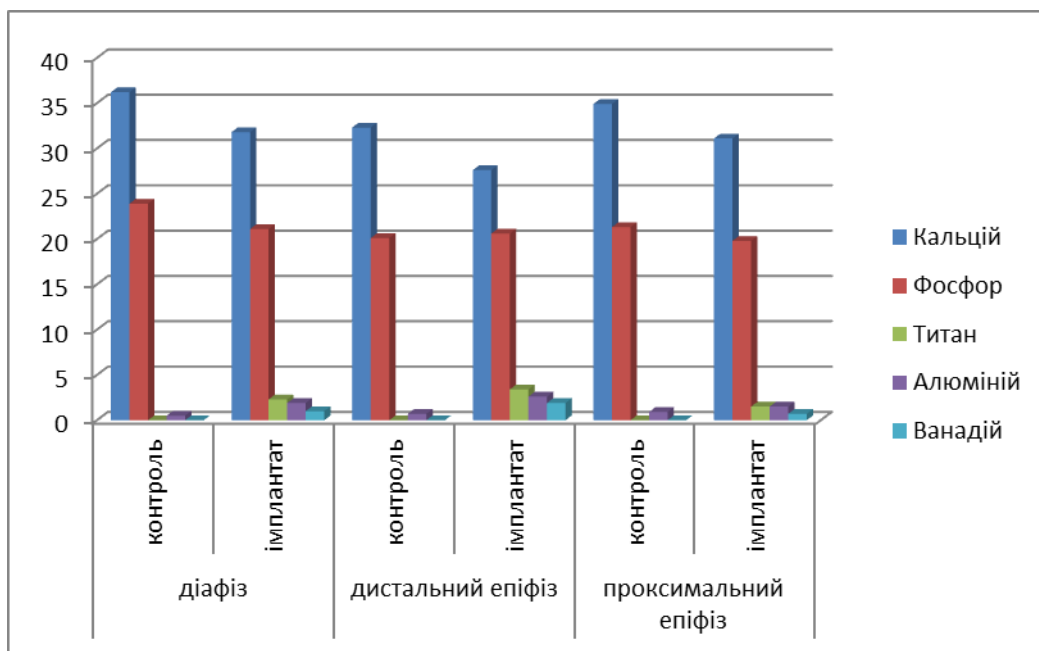


Рисунок 4.9 - Вміст кальцію та фосфору та складових елементів імплантату в різних ділянках стегнової кістки кроля через 3 місяці після імплантації сплаву складу TiVT6.

Показники мікротвердості кісткової тканини через 3 місяці після травми залишаються меншими за контроль та показники інтактних тварин, що свідчить про продовження процесів перебудови кісткового матриксу. Так, число твердості в періімплантаційній зоні залишається на рівні

попереднього терміну спостереження –  $153,2 \pm 5,2$  кгс/мм<sup>2</sup> ( $p=0.003$ ). А в проксимальному епіфізі та діяфізі зменшується до  $232,9 \pm 9,2$  кгс/мм<sup>2</sup> та  $179,4 \pm 3,7$  кгс/мм<sup>2</sup> відповідно.

Через 6 місяців після введення імплантату складу TiVT6 на гістологічних препаратах спостерігається зменшення активності процесів ремоделювання (рис. 4.10). Проте, відновлення будови кісткової тканини не відбувається, що обумовлено рядом факторів. По-перше, введення металевго імплантату в орган призводить до змін біомеханіки кістки і її перебудови відповідності до нових навантажень. По друге – міграція важких металів в кістку може призводити до порушення метаболізму тканини і розвитку остеопоротичних змін. І по-третє – розвиток ефекту зміщення навколо імплантату призводить до порушення будови кісткової тканини.

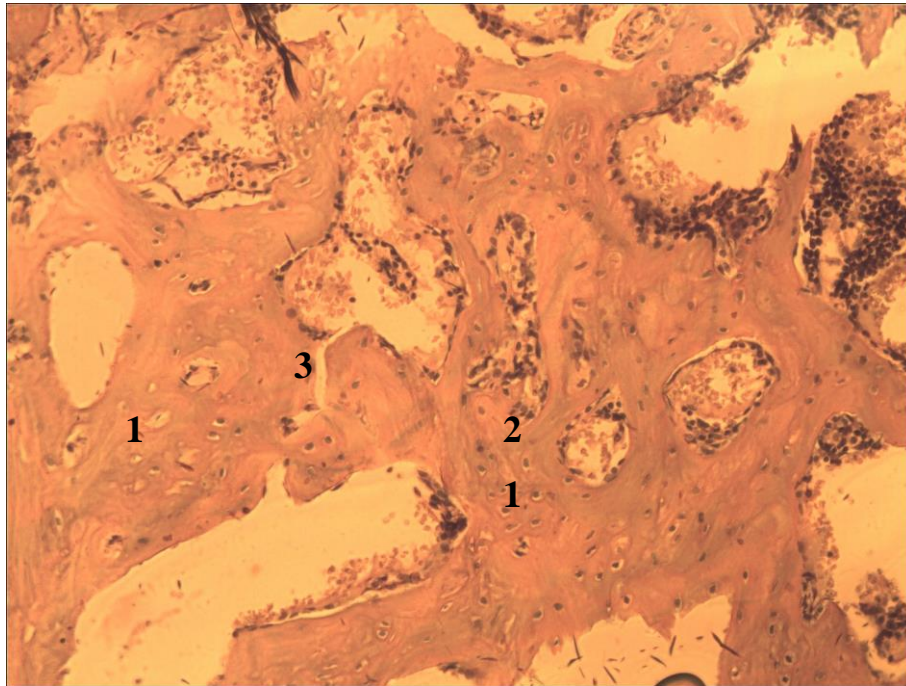


Рисунок 4.10 - Ділянка дистального епіфізу стегнової кістки кроля через 6 місяців після імплантації сплаву TiVT6. Забарвлення Гематоксилін-Еозин, зб. X 200:

1. Кісткова трабекула,
2. Мозаїчність забарвлення,
3. Мікроперелом трабекули.



На гістологічних препаратах периімплантаційної зони відмічається витончення кісткових трабекул та збільшення міжтрабекулярного простору. Як наслідок активності процесів ремоделювання у попередній термін відмічається наявність ліній склеювання та мозаїчності забарвлення кісткової тканини. Кількість одиниць ремоделювання зменшується у порівнянні з попереднім терміном.

В проксимальному епіфізі відмічається витончення кісткових балочок та мозаїчність забарвлення кістки. Зменшується щільність остеобластів у порівнянні з попереднім терміном спостереження. В діяфізі також визначається велика кількість ліній склеювання як результат активності процесів ремоделювання у попередні терміни. В остеонному шарі візуалізуються значна кількість первинних остеонів.

Дані морфометрії гістологічних препаратів свідчать про зменшення активності процесів ремоделювання (рис. 4.11). Щільність остеобластів в периімплантаційній зоні зменшується до  $19,3 \pm 1,0$  клітин на  $\text{мм}^2$  ( $p=0.002$ ), все ще залишаючись достовірно вище за контроль та показники інтактних тварин. Кількість активних клітин кісткової тканини в проксимальному епіфізі та діяфізі також є достовірно вищою за контроль та становить  $15,3 \pm 0,7$  та  $8,1 \pm 0,2$  клітин на  $\text{мм}^2$ . Щільність остеоцитів зменшується у порівнянні з попереднім терміном спостереження і перевищує контроль лише в периімплантаційній зоні, становлячи  $8,2 \pm 0,5$  клітин на  $\text{мм}^2$  ( $p=0.019$ ).

Не зважаючи на зменшення активності ремоделювання у порівнянні з попереднім терміном спостереження, кількість багатоклітинних кісткових одиниць у всіх відділах кістки перевищує контроль, становлячи відповідно  $7,1 \pm 0,5$  од/ $\text{мм}^2$  ( $p=0.004$ ),  $4,6 \pm 0,2$  од/ $\text{мм}^2$  ( $p=0.04$ ) та  $5,9 \pm 0,4$  од/ $\text{мм}^2$  ( $p=0.04$ ). Ширина одиниць ремоделювання дещо зменшується у порівнянні з попереднім терміном спостереження, становлячи  $204,7 \pm 10,6$  мкм,  $211,6 \pm 32,4$  мкм та  $152,9 \pm 23,8$  мкм ( $p=0.031$ ). Підтвердженням перебудови діяфізу у попередні терміни спостереження є зменшення діаметру остонів зі зростанням розміру каналу – тобто морфометричні ознаки переважання

первинних остеонів. Їх розміри становлять відповідно  $39,8 \pm 0,23$  мкм та  $23,7 \pm 0,12$  мкм. Товщина трабекул в періімплантаційній зоні та в проксимальному епіфізі становит відповідно  $143,8 \pm 21,5$  мкм ( $p=0.03$ ) та  $153,6 \pm 8,4$  мкм ( $p=0.048$ ), що не перевищує показники попереднього терміну спостереження.

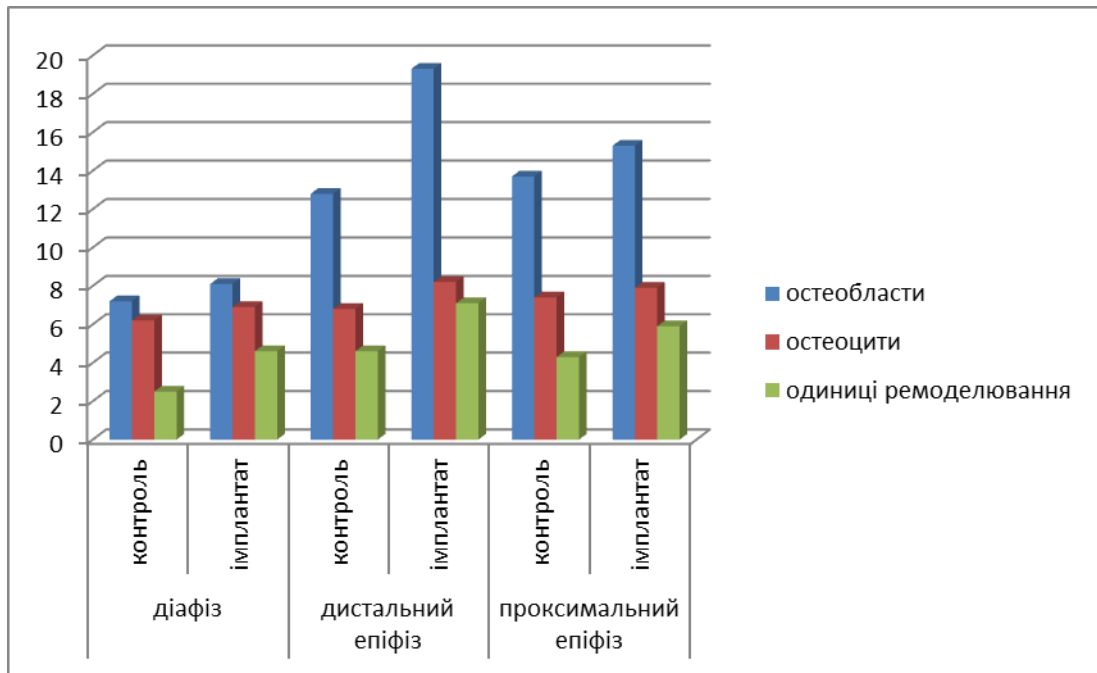


Рисунок 4.11 - Показники морфометрії різних ділянок стегнової кістки кролів через 6 місяців після імплантації сплаву складу TiVT6.

Через 6 місяців після імплантації структура переімплантатної зони на мікрофотографіях растрової електронної мікроскопії відповідає попередньому терміну спостереження. Візуалізуються 2 зони – зона в якій наявні острівці сполучної тканини і губчастої кісткової тканини. Сполучна тканина має неоднорідну товщину, яка коливається від 15 до 35 мкм. В діяфізі візуалізуються поодинокі конуси ремоделювання та звуження остеонних структур. В проксимальному епіфізі відмічається зростання міжтрабекулярних просторів та поодинокі мікротріщини на поверхні трабекул.

Рентген-дисперсійний аналіз поверхні різних ділянок кістки не показав значного зростання вмісту кальцію та фосфору. На відміну від контрольної групи тварин не відбувається повноцінної мінералізації кісткового матриксу



всіх досліджуваних ділянок (рис. 4.12). Так, в періімплантаційній зоні вміст основних елементів кістки становить  $29,6 \pm 0,54$  ваг% ( $p=0.007$ ) та  $22,7 \pm 0,19$  ваг% відповідно. Рівень кальцію в діяфізі та проксимальному епіфізі становить  $32,2 \pm 0,35$  ваг% ( $p=0.036$ ) та  $30,0 \pm 0,15$  ваг% ( $p=0.0082$ ), фосфору – відповідно  $24,1 \pm 0,42$  ваг% та  $22,5 \pm 0,12$  ваг%. Відбувається зростання концентрації вмісту титану, алюмінію та ванадію у всіх досліджуваних ділянках, хоча слід відмітити зменшення величини тренду. Так вміст зазначених елементів в періімплантаційній зоні становить  $4,2 \pm 0,11$  ваг%,  $3,0 \pm 0,31$  ваг% та  $2,4 \pm 0,05$  ваг%, в діяфізі –  $2,8 \pm 0,14$  ваг%,  $2,3 \pm 0,09$  ваг% та  $1,6 \pm 0,06$  ваг%, в проксимальному епіфізі – відповідно  $2,7 \pm 0,21$  ваг%,  $1,8 \pm 0,17$  ваг% та  $0,9 \pm 0,1$  ваг%. Таким чином, елементи металевого сплаву мігрують по всій поверхні кістки і потенціально здатні до впливу на метаболічні процеси в кістковій тканині.

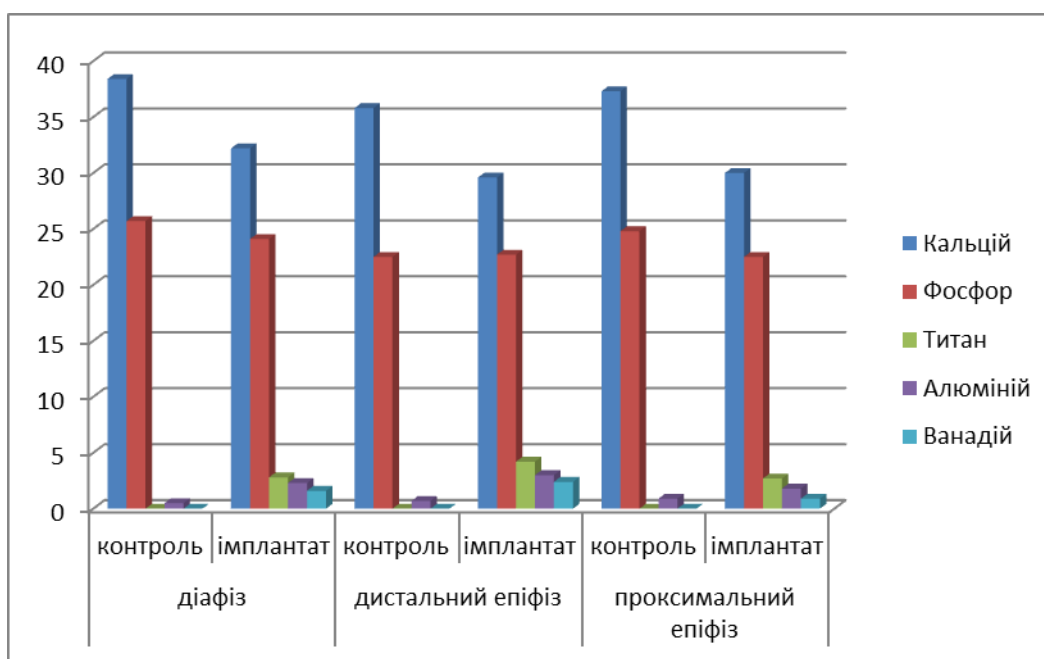


Рисунок 4.12 - Вміст кальцію та фосфору та складових елементів імплантату в різних ділянках стегнової кістки кроля через 6 місяців після імплантації сплаву складу TiVT6.

Параметри мікротвердості кісткової тканин залишаються майже без змін у порівнянні з попереднім терміном спостереження, на відміну від

контрольної групи, де відбувається відновлення механічних параметрів кісткової тканини. Вплив нового біомеханічного оточення, негативна дія металів з імплантату та порушення балансу процесів ремоделювання призводить до зменшення числа твердості в усіх досліджуваних ділянках. Так, число твердості в періімплантаційній зоні становить через 6 місяців спостереження  $153,7 \pm 5,8$  кгс/мм<sup>2</sup> ( $p=0.024$ ), в проксимальному епіфізі –  $171,2 \pm 2,5$  кгс/мм<sup>2</sup> ( $p=0.045$ ) і в діафізі –  $228,3 \pm 6,4$  кгс/мм<sup>2</sup>.

Таким чином, імплантація в дистальний епіфіз металевого сплаву складу TiVT6 призводить до активації процесів перебудови кісткового матриксу у всіх відділах стегнової кістки. Особливістю процесів інтеграції даного сплаву є утворення острівців сполучної тканини навколо імплантату, що порушує процеси остеоінтеграції та негативно впливають на біомеханічні параметри стегнової кістки. Зростання активності процесів ремоделювання спостерігається до 3-го місяця після імплантації з незначним зменшенням через півроку. Наявність металевого простезу викликає зміни біомеханічних параметрів кістки, що супроводжуються зменшенням числа твердості упродовж всього терміну спостереження. Важливим чинником порушення метаболізму кісткової тканини є вивільнення металів, які входять до складу імплантату та можуть негативно впливати на процеси ремоделювання.

## 4.2 Ріст, будова, хімічний склад та мікротвердість стегнової кістки при імплантації сплаву КТЦ-125.

Через місяць після імплантації сплаву КТЦ, як і у тварин попередньої серії не відмічається порушення повздовжнього та поперечного росту, окрім ширини дистального епіфізу, ширина якого складає  $15,2 \pm 0,62$  мм ( $p=0.031$ ). Таким чином, не зважаючи на склад імплантату, периостальна реакція є більш вираженою ніж при нанесенні дірчастого дефекту. Через 3 та 6 місяців після імплантації усі розміри кістки відповідають контрольним показникам. Проте ширина дистального епіфізу перевищує контрольні дані і дорівнює  $15,2 \pm 0,17$  мм ( $p=0.046$ ) та  $15,4 \pm 0,21$  мм ( $p=0.021$ ). Звертає на себе увагу, що імплантація сплаву КТЦ не викликає вираженого зростання поперечного розміру кістки у порівнянні з серією з протезом складу TiVT6.

Як і у попередній серії, навколо імплантату є незначна кількість острівців сполучної тканини. На відміну від попередньої серії, через місяць спостереження навколо протезу формуються балочки губчастої кісткової тканини. Можливо, формування та перебудова грубоволокнистої кісткової тканини відбулось в більш ранній термін. Кісткові трабекули формують хаотичну сітку з чисельними анастомозами та невеликими за площею міжтрабекулярними просторами. Губчаста кісткова тканина «материнської» кістки відрізняється від новоствореної більш рівномірним забарвленням та товщиною трабекул (рис. 4.13). Характерною особливістю є наявність значної кількості остеобластів та остеокластів на поверхні трабекул, що формують багатоклітинні одиниці ремоделювання, які свідчать про активну перебудову кісткової тканини.

Будова діяфізу та проксимального епіфізу принципово не відрізняється від контролю, проте спостерігається наявність значної кількості одиниць ремоделювання. Значно зростає кількість остеобластів на поверхні трабекул губчастої речовини та у камбіальному шарі окістя. Зустрічається мозаїчність забарвлення як в компактній речовині діяфізу, так і в товщі кісткових

трабекул губчастої речовини, що свідчить про порушення мінералізації кісткової тканини.

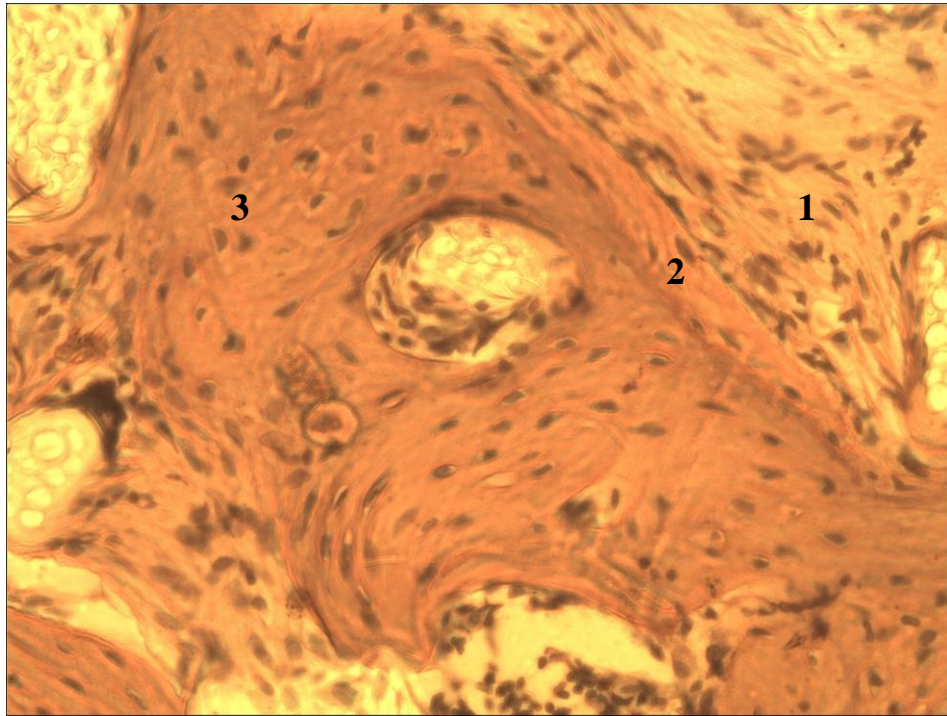


Рисунок 4.13 - Ділянка дистального епіфізу стегнової кістки кроля через місяць після імплантації сплаву КТЦ. Забарвлення Гематоксилін-Еозин, зб. X 200:

1. Ділянка сполучної тканини на межі з імплантатом,
2. Формування остеїда,
3. Кісткова трабекула.

Морфометрія гістологічних препаратів свідчить про активацію метаболізму кісткової тканини в усіх досліджуваних ділянках. Кількість остеобластів на  $1 \text{ мм}^2$  склала в періімплантаційній зоні в середньому  $25,9 \pm 0,87$ , в діяфізі –  $12,9 \pm 0,32$  та в проксимальному епіфізі –  $19,5 \pm 0,25$ . Таким чином, кількість клітин в різних відділах стегнової кістки через місяць спостереження відповідає контрольній серії та серії з імплантацією сплаву складу TiVT6. Проте, кількість остеобластів на одиницю площі є дещо меншою і складає відповідно зонам спостереження  $8,4 \pm 0,15$  ( $p=0.004$ ),  $8,2 \pm 0,28$  та  $8,9 \pm 0,31$  клітин на  $\text{мм}^2$ . Таким чином, щільність зрілих кісткових

клітин достовірно перевищує контроль, проте є меншою ніж при імплантації титанового сплаву.

Кількість одиниць ремоделювання у порівнянні з контролем достовірно зростає, проте є значно меншою, ніж у тварин з імплантованим сплавом TiVT6, що свідчить про менш виражений вплив сплаву КТЦ на процеси ремоделювання кісткової тканини (рис. 4.14). Щільність багатоклітинних одиниць ремоделювання є найбільшою в періімплантаційній зоні –  $8,3 \pm 0,5$  од/мм<sup>2</sup>. В проксимальному епіфізі та діафізі їх кількість значно менша –  $6,5 \pm 0,3$  та  $5,6 \pm 0,25$  од/мм<sup>2</sup> ( $p=0.008$ ), проте ці цифри достовірно перевищують контрольні та інтактні показники. Ширина одиниць ремоделювання становить в періімплантаційній зоні  $203,6 \pm 5,9$  мкм ( $p=0.038$ ), що значно перевищує контроль, в проксимальному епіфізі та діафізі даний показник відповідає контрольним –  $181,6 \pm 12,9$  мкм та  $254,7 \pm 11,2$  мкм. Діаметр остеонів та їх каналів відповідає контрольним показникам та становить  $44,9 \pm 1,5$  мкм та  $23,2 \pm 0,65$  мкм. Ширина трабекул періімплантаційної зони зменшується до  $138,6 \pm 2,6$  мкм за рахунок новоутворених балочок та активації процесів ремоделювання з резорбцією кісткової речовини. В проксимальному епіфізі даний показник є також меншим за контроль та становить  $154,9 \pm 1,5$  мкм ( $p=0.006$ ).

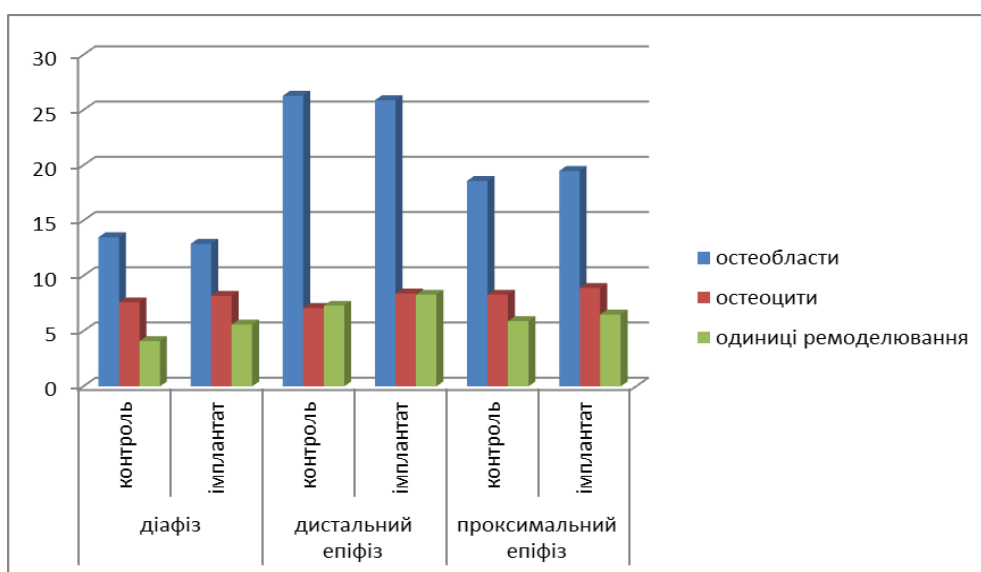


Рисунок 4.14 - Показники морфометрії різних ділянок стегнової кістки кролів через місяць після імплантації сплаву КТЦ.

Через місяць після імплантації навколо сплаву КТЦ візуалізується формування незвапненого остеоїда на всій поверхні імплантату товщиною від 20 до 50 мкм. Але в міжвиткових просторах відмічається розвиток кісткової тканини, що є сприятливим прогностичним фактором стабільності імплантату (рис. 4.15). Далі визначається шар пластинчастої кісткової тканини, яка формує трабекули губчастої речовини проксимального епіфізу стегнової кістки. На поверхні трабекул не виявлено мікротріщин і переломів, на відміну від тварин попередньої серії. Таким чином, навколо імплантату утворюється молода незріла кісткова тканина з незначною кількістю острівців сполучної тканини. Паралельно, відбувається формування кісткової тканини, особливо всередині міжвиткових просторів. Відсутність чіткої зональності не створює чіткого градієнта щільності від імплантату до кістки, що можливо захищає трабекули губчастої речовини від формування мікротріщин.

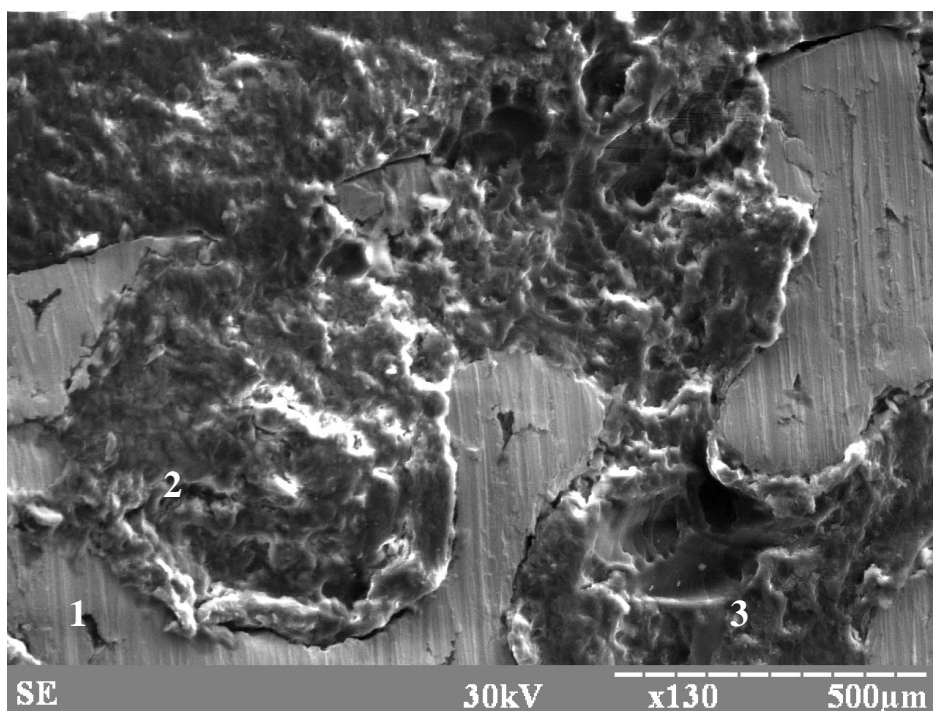


Рисунок 4.15 - Растрова електронна мікроскопія періімплантаційної зони через місяць після імплантації сплаву КТЦ, Зб. X130 :

1. Поверхня імплантату,
2. Сполучна речовина,
3. Кісткова тканина.

Як і у попередній серії експерименту, навколо імплантату не виявлена наявність кальцію та фосфору (рис. 4.16). На поверхні новоутворених трабекул та балочок губчастої речовини проксимального епіфізу відмічається зменшення рівню кальцію та фосфору. Це обумовлено в першу чергу незавершеними процесами мінералізації новоутворених балок та резорбцією кісткової тканини в процесі ремоделювання дистального епіфізу. Їх концентрації складають відповідно  $23,8 \pm 0,6$  ваг% ( $p=0.0075$ ) та  $18,2 \pm 0,16$  ваг% ( $p=0.006$ ). В незначній кількості визначаються метали, що входять до складу імплантату. Рівень алюмінію майже не змінюється у порівнянні з контролем та складає  $0,8 \pm 0,11$  ваг%, проте вміст ніобію та цирконію складає  $0,3 \pm 0,06$  ваг% та  $1,5 \pm 0,12$  ваг%.

В проксимальному епіфізі відмічається звуження трабекул губчастої речовини та зростання кількості клітин на їх поверхні. У порівнянні з контролем вміст кальцію та фосфору майже не змінюється та дорівнює  $33,1 \pm 1,6$  ваг% та  $21,5 \pm 0,31$  ваг%. Складових елементів імплантату в тканині проксимального епіфізу не виявлено.

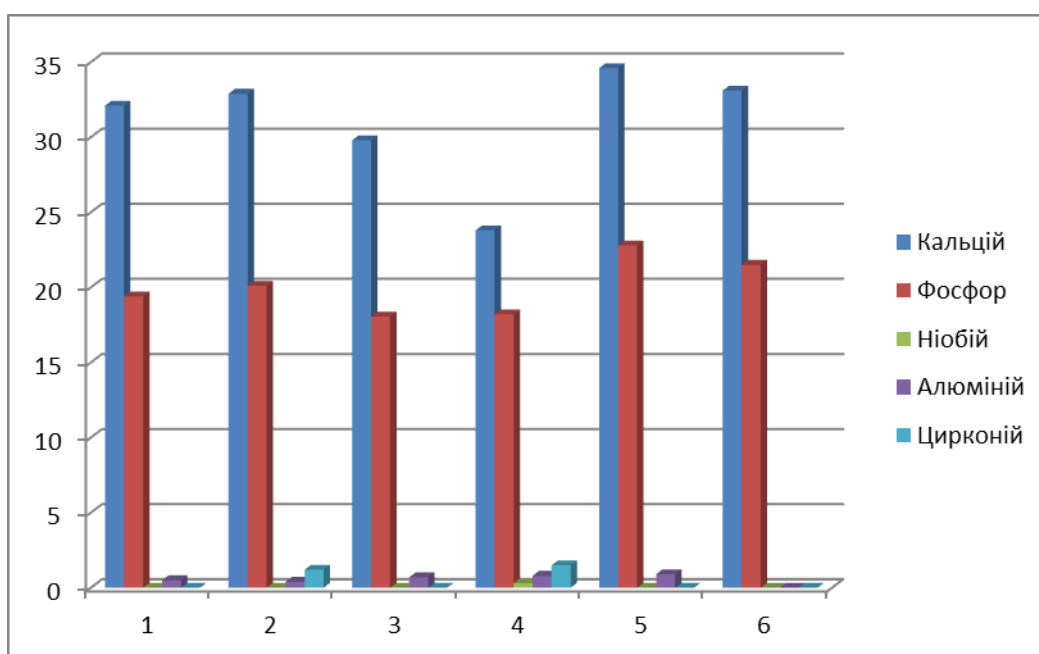


Рисунок 4.16 - Вміст кальцію та фосфору та складових елементів імплантату в різних ділянках стегнової кістки кроля через місяць після імплантації сплаву КТЦ.

В діяфізі також не спостерігається зрушень рівню кальцію та фосфору у порівнянні з контролем, проте відмічається зростання цирконію до  $1,2 \pm 0,15$  ваг%, що є свідченням його міграції в компактну речовину діяфізу.

Показники мікротвердості кісткової тканин різних відділів стегнової кістки свідчать про активність процесів ремоделювання всього травмованого органу (рис. 4.17). Проте, вони дещо менш виражені, ніж у контрольній серії. Так, число твердості кісткової тканини в проксимальному епіфізі перевищують аналогічні показники контролю та дорівнюють  $146,8 \pm 5,9$  кгс/мм<sup>2</sup> та  $251,9 \pm 12,7$  кгс/мм<sup>2</sup>. Показник мікротвердості проксимального епіфізу відповідає контрольним показникам і дорівнює  $186,5$  кгс/мм<sup>2</sup>.

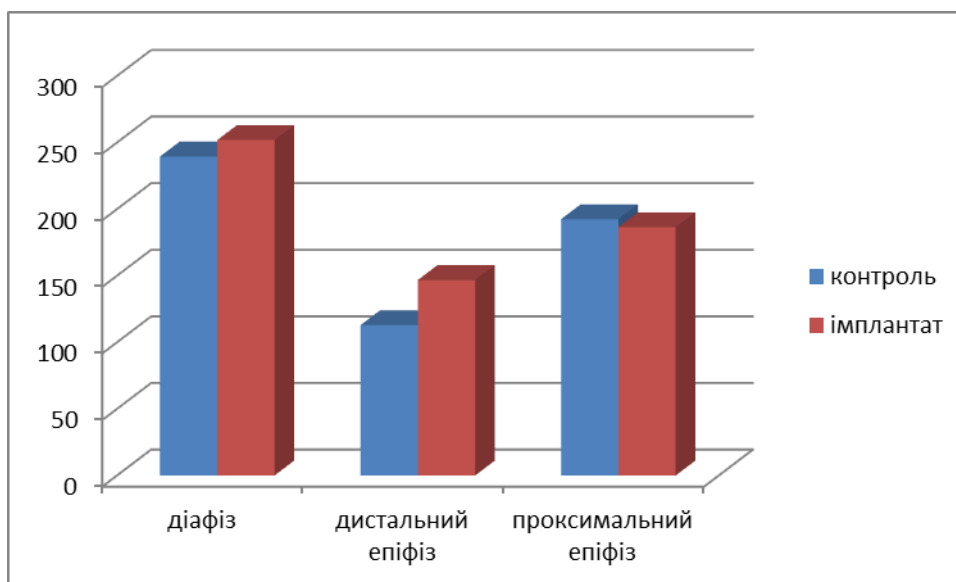


Рисунок 4.17 - Показник мікротвердості різних ділянок стегнової кістки кроля через місяць після імплантації сплаву КТЦ.

Через 3 місяці після імплантації сплаву КТЦ навколо імплантату сформовані трабекули губчастої кісткової тканини, які мають чисельні анастомози зі сполучнотканинною «манжеткою». Будова новосформованих трабекул не майже не відрізняється від «материнської» кістки, проте вони мають менш інтенсивне забарвлення та чисельні лінії склеювання. В перифімплантаційній зоні відмічаються чисельні одиниці ремоделювання, що



свідчить про продовження процесів перебудови кістки в умовах нових біомеханічних навантажень.

Діафіз стегнової кістки має типову зональну будову, проте помітні явища активної перебудови компактної речовини. В усіх зонах спостерігається наявність конусів ремоделювання, проте їх кількість значно менша за попередню серію. Чисельні лінії склеювання свідчать про завершену перебудову відповідних ділянок кістки. Зустрічаються ділянки мозаїчного забарвлення як наслідок нерівномірного звапнення кісткового матриксу.

В проксимальному епіфізі візуалізуються чисельні одиниці ремоделювання, зростання кількості клітин на поверхні трабекул та мозаїчність забарвлення деяких кісткових балочок (рис. 4.18).

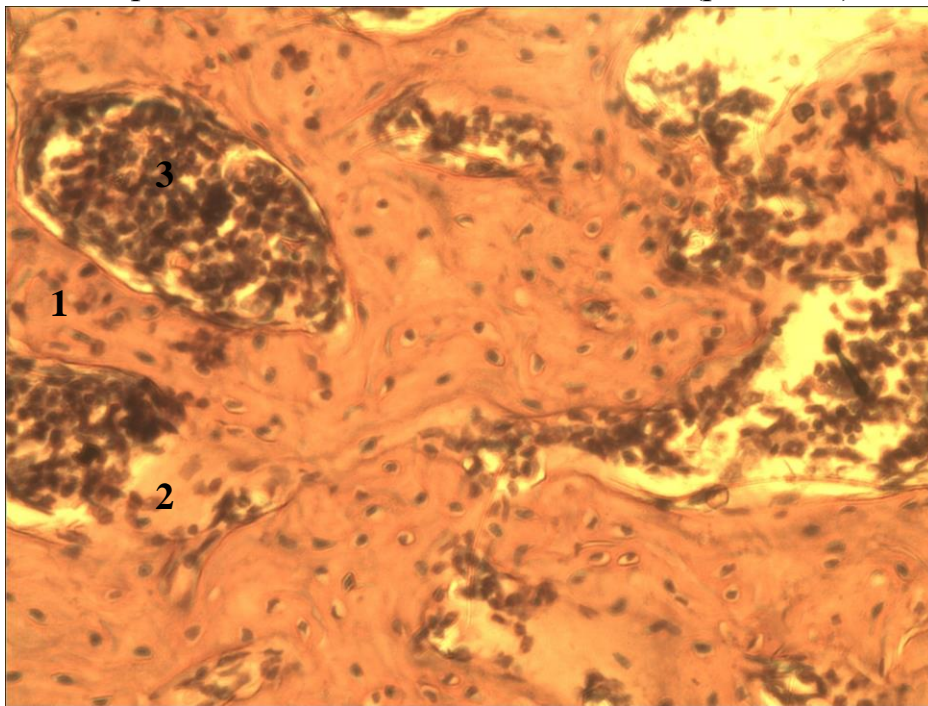


Рисунок 4.18 - Ділянка проксимального епіфізу стегнової кістки кроля через 3 місяці після імплантації сплаву КТЦ. Забарвлення Гематоксилін-Еозин, зб. X 200:

1. Звуження кісткових трабекул,
2. Мозаїчність забарвлення трабекул,
3. Червоний кістковий мозок.

У тварин з імплантованим сплавом КТЦ не відбувається суттєвого зменшення процесів ремоделювання через 3 місяці після операції, про що свідчать дані морфометрії. Кількість активних клітин кісткової тканини – остеобластів зменшується порівняно з попереднім терміном спостереження (рис. 4.19). В періімплантаційній зоні їх кількість становить  $21,6 \pm 0,5$  клітин на  $\text{мм}^2$  ( $p=0.045$ ), в діяфізі та проксимальному епіфізі – відповідно  $11,5 \pm 0,2$  та  $17,4 \pm 1,1$  клітин на  $\text{мм}^2$  ( $p=0.009$ ). Щільність остеоцитів достовірно не відрізняється від контролю, на відміну від попередньої серії тварин.

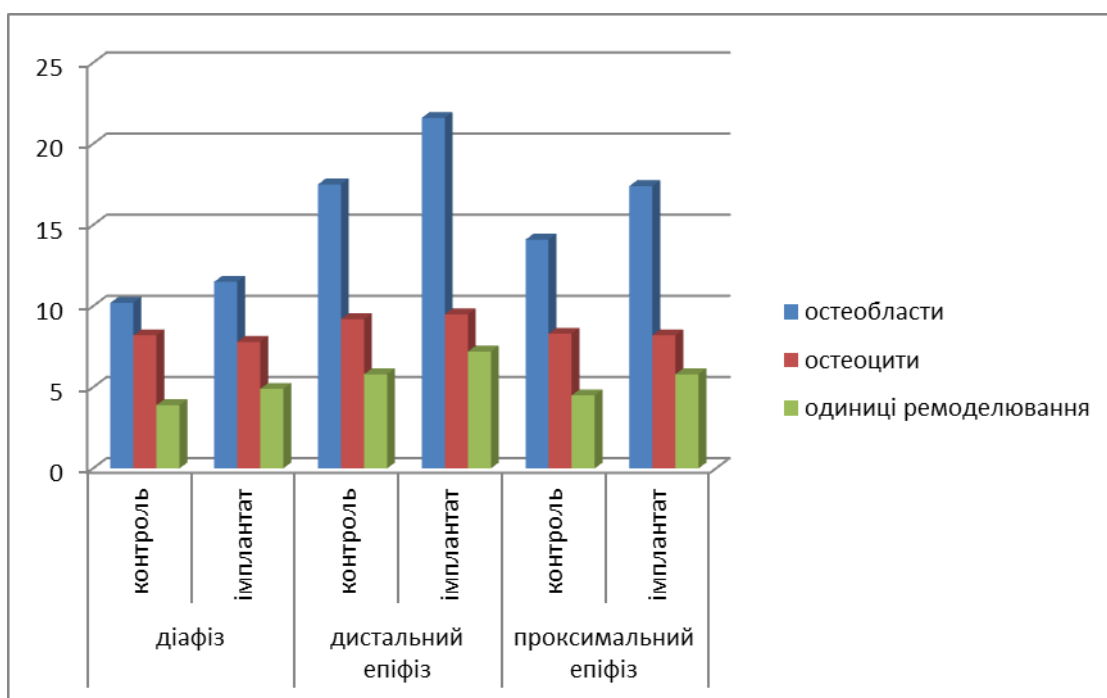


Рисунок 4.19 - Показники морфометрії різних ділянок стегнової кістки кролів через 3 місяці після імплантації сплаву КТЦ.

Кількість одиниць ремоделювання становить  $7,2 \pm 0,1$  од/ $\text{мм}^2$  ( $p=0.007$ ) в періімплантаційній зоні,  $5,8 \pm 0,4$  од/ $\text{мм}^2$  ( $p=0.035$ ) – в проксимальному епіфізі та  $4,9 \pm 0,3$  од/ $\text{мм}^2$  – в діяфізі. Дані показники достовірно перевищують контроль, що свідчить про продовження перебудови всієї кістки через 3 місяці після імплантації сплаву КТЦ. При цьому відмічається зменшення ширини одиниць ремоделювання в усіх досліджуваних ділянках у порівнянні з попереднім терміном спостереження, що свідчить про активацію процесів синтезу кісткової речовини остеобластами та «закриття» багатоклітинних

кісткових одиниць. Так, даний показник в періімплантаційній зоні становить  $201,5 \pm 6,1$  мкм, в проксимальному епіфізі –  $216,5 \pm 11,6$  мкм ( $p=0.003$ ) та в діяфізі –  $195,6 \pm 4,9$  мкм. Діаметр остеонів та їх каналів залишається незмінним у порівнянні з попереднім терміном спостереження та становить  $39,8 \pm 1,8$  мкм ( $p=0.027$ ) та  $21,2 \pm 0,41$  мкм відповідно. Товщина трабекул губчастої речовини дистального та проксимального епіфізу становить відповідно  $143,6 \pm 2,7$  мкм та  $151,9 \pm 3,4$  мкм відповідно, що є достовірно меншим за показники інтактних тварин.

Растрова електронна мікроскопія показала наявність незначної кількості сполучної тканини навколо імплантату та формування повноцінної губчастої тканини майже на всій поверхні матеріалу, що свідчить про відносно задовільну остеоінтеграцію останнього. Кісткова тканина формує трабекули, які мають чисельні анастомози між собою та сполучною тканиною навколо імплантату. Кількість клітинних елементів на поверхні трабекул зменшується у порівнянні з попереднім терміном, проте помітні чисельні одиниці ремоделювання. Навколо імплантату відмічається наявність мікротріщин на поверхні трабекл, що свідчить про формування ефекту стресового зміщення. При цьому їх кількість значно менша у порівнянні з попередньою серією. Кількість кальцію на поверхні трабекул залишається меншим за контроль і становить  $28,5 \pm 1,4$  ваг% ( $p=0.038$ ), рівень фосфору не відрізняється від контролю та становить  $21,3 \pm 0,82$  ваг%. Відмічається зростання вмісту елементів імплантату. Рівень ніобію, алюмінію та цирконію становить відповідно  $0,9 \pm 0,1$  ваг%,  $1,2 \pm 0,18$  ваг% та  $2,1 \pm 0,23$  ваг%.

В проксимальному епіфізі методом растрової електронної мікроскопії не виявлені суттєві зміни у порівнянні з контролем, окрім поодиноких тріщан на поверхні трабекул. Вміст кальцію та фосфору в даний термін не відрізняється від контролю та становить відповідно  $32,3 \pm 0,52$  ваг% та  $20,7 \pm 0,17$  ваг%. На відміну від попереднього терміну спостереження в речовині епіфізу ідентифікуються ніобій, алюміній та цирконій у концентраціях  $0,7 \pm 0,2$  ваг%,  $0,8 \pm 0,1$  ваг% та  $1,7 \pm 0,19$  ваг%.

Растрова електронна мікроскопія не виявила суттєвих змін в діяфізі піддослідних тварин через 3 місяці після операції у порівнянні з попереднім терміном спостереження. Проте помітні поодинокі мікротріщини, особливо в остеонному шарі (рис. 4.20). Звертає на себе увагу відсутність суттєвої динаміки вмісту кальцію та фосфору у порівнянні з попереднім терміном спостереження (рис. 4.21). Їх вміст становить  $33,2 \pm 1,6$  ваг% та  $19,3 \pm 0,54$  ваг%, що є достовірно меншим за контрольні показники. В речовині діяфізу з'являється ніобій у концентрації  $0,6 \pm 0,2$  ваг% та зростає вміст алюмінію та цирконію до  $0,8 \pm 0,1$  ваг% та  $1,5 \pm 0,32$  ваг%.

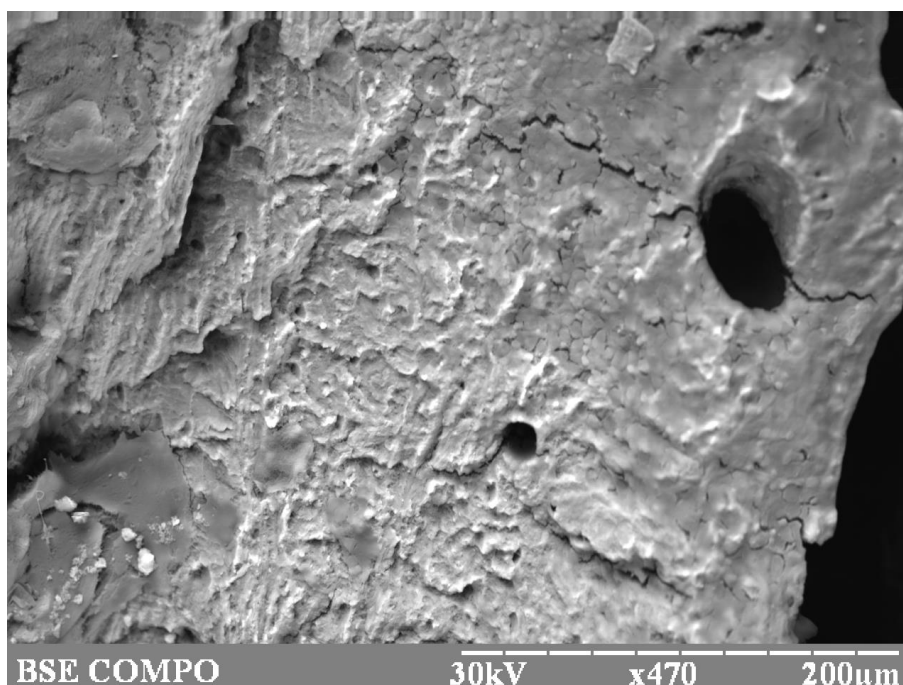


Рисунок 4.20 - Мікротріщина компакної речовини діяфізу стегнової кістки кроля через 3 місяці після імплантації сплаву КТЦ. 36. Х470.

Число твердості кісткової тканини зростає у порівнянні з попереднім терміном спостереження (рис. 4.22). В періімплантаційній зоні показник мікротвердості дорівнює  $162,7 \pm 8,3$  кгс/мм<sup>2</sup> ( $p=0.024$ ), що є значно вищим за контроль, проте меншим за показники інтактних тварин. Число твердості діяфізу та проксимального епіфізу залишається меншим за контроль та становить відповідно  $243,8 \pm 7,8$  кгс/мм<sup>2</sup> ( $p=0.012$ ) та  $181,3 \pm 11,5$  кгс/мм<sup>2</sup>.

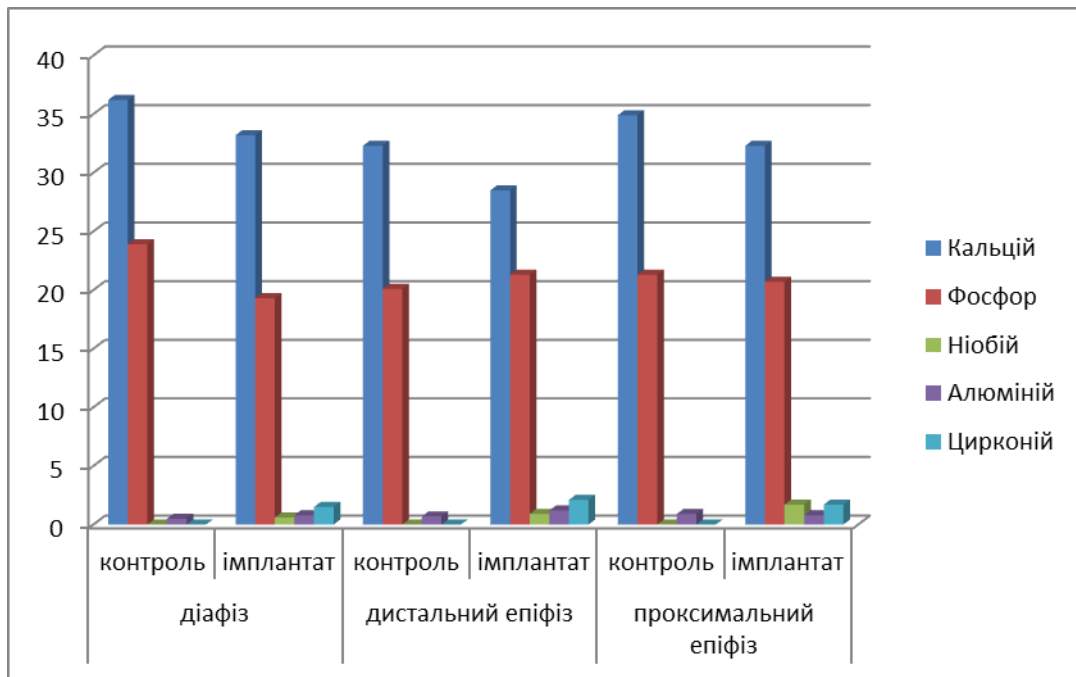


Рисунок 4.21 - Вміст кальцію та фосфору та складових елементів імплантату в різних ділянках стегнової кістки кроля через 3 місяці після імплантації сплаву КТЦ.

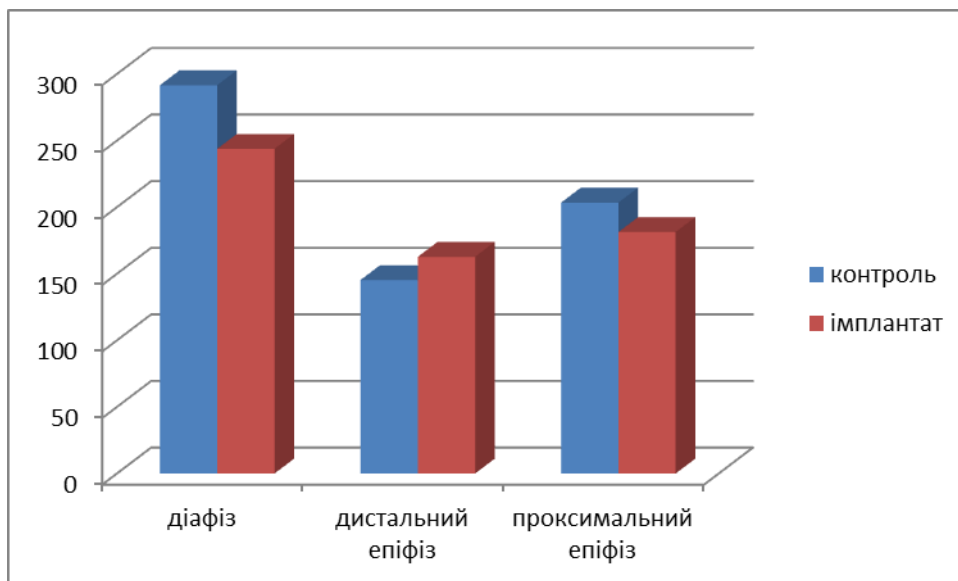


Рисунок 4.22 - Показник мікротвердості різних ділянок стегнової кістки кроля через місяць після імплантації сплаву КТЦ.

Через 6 місяців після імплантації сплаву КТЦ відбувається майже повне відновлення будови стегнової кістки, проте залишаються явища

перебудови та свідчення розвитку синдрому стресового зміщення (рис. 4.23). Навколо імплантату залишається незначні ділянки сполучної тканини, оточені губчастою кісткою. Остання формує розгалужену сітку трабекул, які мають ознаки нещодавньої перебудови – лінії склеювання та мозаїчність забарвлення. Подібна будова відмічається також в губчастій речовині проксимального епіфізу. В діяфізі відмічається значна кількість ліній склеювання як свідчення завершеного ремоделювання, в остеонному шарі спостерігаються поодинокі первинні остеони.

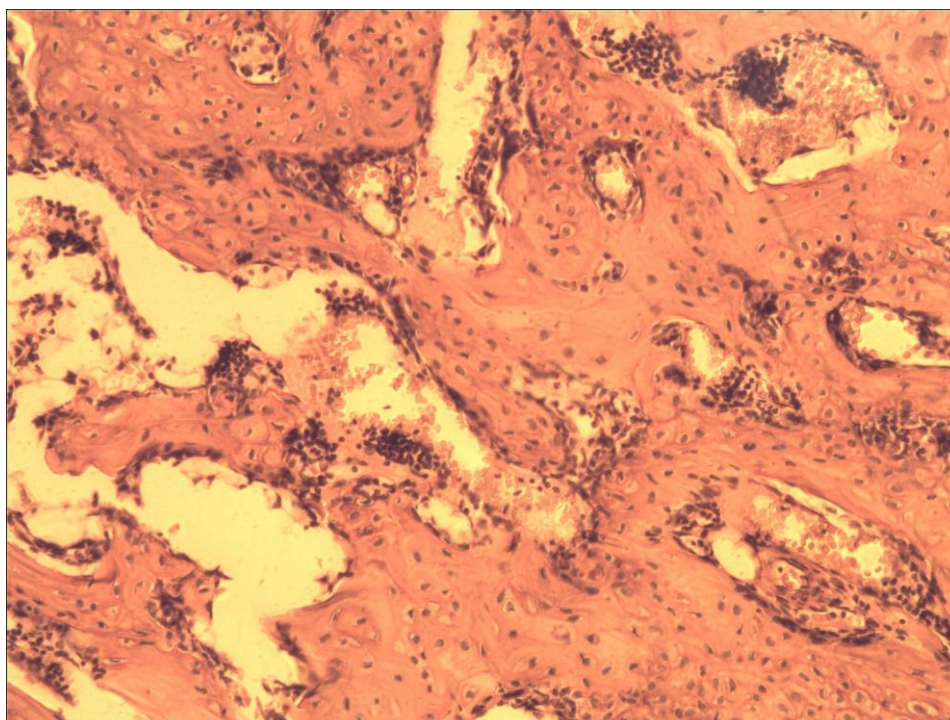


Рисунок 4.23 - Ділянка дистального епіфізу стегнової кістки кроля через 6 місяців після імплантації сплаву КТЦ. Забарвлення Гематоксилін-Еозин, зб. X 200.

Морфометричні дослідження свідчать про зниження активності процесів післятравматичного ремоделювання (рис. 4.24). В проксимальному епіфізі та діяфізі щільність остеобластів не відрізняється від контролю та дорівнює  $13,2 \pm 0,8$  та  $7,8 \pm 0,2$  клітин на  $\text{мм}^2$ . В періімплантаційній зоні дистального епіфізу кількість активних клітин становить  $15,1 \pm 0,5$  на  $\text{мм}^2$  ( $p=0.009$ ), що достовірно перевищує контроль, проте є значно меншою ніж у тварин попередньої експериментальної серії. Щільність остеобластів на  $1 \text{ мм}^2$



не відрізняється від контролю в усіх досліджуваних ділянках. Кількість одиниць ремоделювання на одиницю площі перевищує контроль в усіх досліджуваних ділянках, проте достовірною різниця є лише в дистальному епіфізі. В даній зоні щільність багатоклітинних одиниць дорівнює  $6,2 \pm 0,6$  од/мм<sup>2</sup> ( $p=0.001$ ).

Ширина одиниць ремоделювання не перевищує контроль в усіх ділянках та дорівнює  $189,6 \pm 11,8$  мкм в дистальному епіфізі,  $203,5 \pm 7,4$  в діяфізі та  $194,8 \pm 12,5$  – в проксимальному епіфізі. Морфометричні параметри остеонів відповідають контрольній групі тварин – ширина складає  $52,8 \pm 1,4$  мкм, діаметр каналу остеона –  $19,6 \pm 0,54$  мкм. Ширина трабекул дистального епіфізу становить  $157,9 \pm 3,9$  мкм ( $p=0.03$ ), проксимального –  $172,4 \pm 5,1$  мкм.

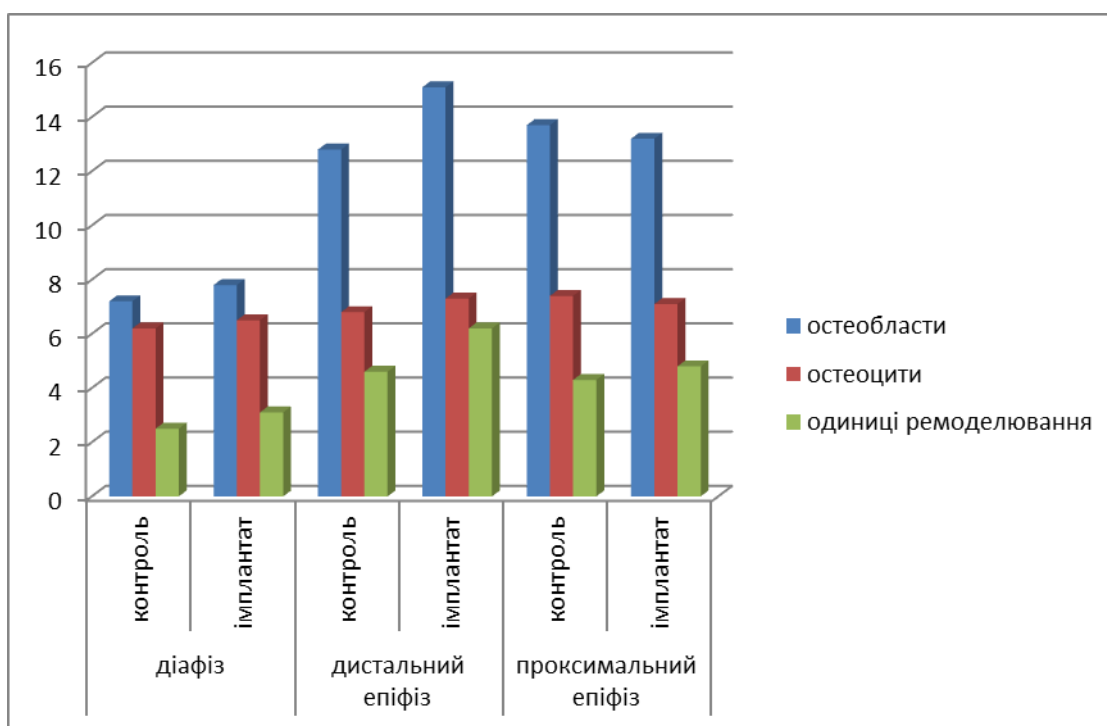


Рисунок 4.24 - Показники морфометрії різних ділянок стегнової кістки кролів через 6 місяців після імплантації сплаву КТЦ.

Растрова електронна мікроскопія виявила типову будову гібчастої речовини епіфізів та компактної кісткової тканини діяфізу. Проте відмічається наявність мікротріщин та поодиноких мікропереломів в усіх досліджуваних ділянках, що є морфологічним проявом розвитку стресового

зміщення внаслідок невідповідності модуля еластичності імплантату та кісткової тканини (рис. 4.25). Навколо імплантату візуалізуються залишки сполучної тканини, оточені сформованими кістковими балочками.

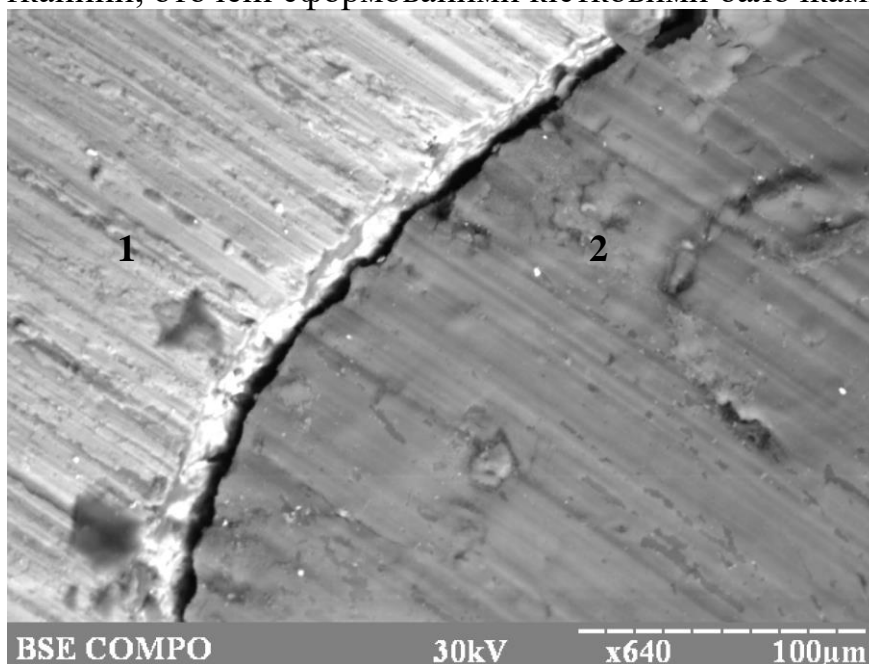


Рисунок 4.25 - Растрова електронна мікроскопія періімплантаційної зони стегнової кістки кроля через 6 місяців після імплантації сплаву КТЦ. Зб. 640:

1. Поверхня імплантату,
2. Пластинчаста кісткова тканина.

Рентгенструктурний мікроаналіз виявив на поверхні кісткової тканини кальцій та фосфор в концентраціях ,характерних для контрольної та інтактної серії тварин (рис. 4.26). Таким чином, не зважаючи на активне ремоделювання кісткової тканини упродовж 3-х попередніх місяців, через півроку відбувається поновлення кальцифікації кістки на відміну від попередньої серії. Проте, в усіх досліджуваних ділянках спостерігається накопичення екзогенних елементів, які присутні у металевому протезі. Відомо, що кісткова тканина є депо багатьох елементів, які можуть вбудовуватись в структуру гідроксиапатиту та акумулюватись в кістці упродовж багатьох років. Найбільша концентрація елементів визначається в періімплантаційній зоні – рівні титану, алюмінію та ванадію досягають



1,4±0,2 ваг%, 2,8±0,18 ваг% та 2,6±0,34 ваг%. В діяфізі їх вміст становить відповідно 0,9±0,12 ваг%, 1,2±0,22 ваг% та 1,7±0,34 ваг% ,в проксимальному епіфізі – 1,8±0,27 ваг%, 1,0±0,25 ваг% та 1,9±0,11 ваг%.

Показники мікротвердості кісткової тканини через пів-року після імплантації сплаву КТЦ свідчать про деяке порушення біомеханічних властивостей тканини. Так, число твердості відновлюється лише в проксимальному епіфізі і дорівнює 180,4±12,8 кгс/мм<sup>2</sup>. В дистальному епіфізі та діяфізі число твердості становить 182,7±6,4 кгс/мм<sup>2</sup> (p=0.015) та 254,9±15,3 кгс/мм<sup>2</sup> (p=0.028). Таким чином, навіть через 6 місяців після імплантації протезу із сплаву КТЦ не відмічається повного відновлення мікротвердості кісткової тканини, що може спричинити розвиток ускладнень і втрати імплантату.

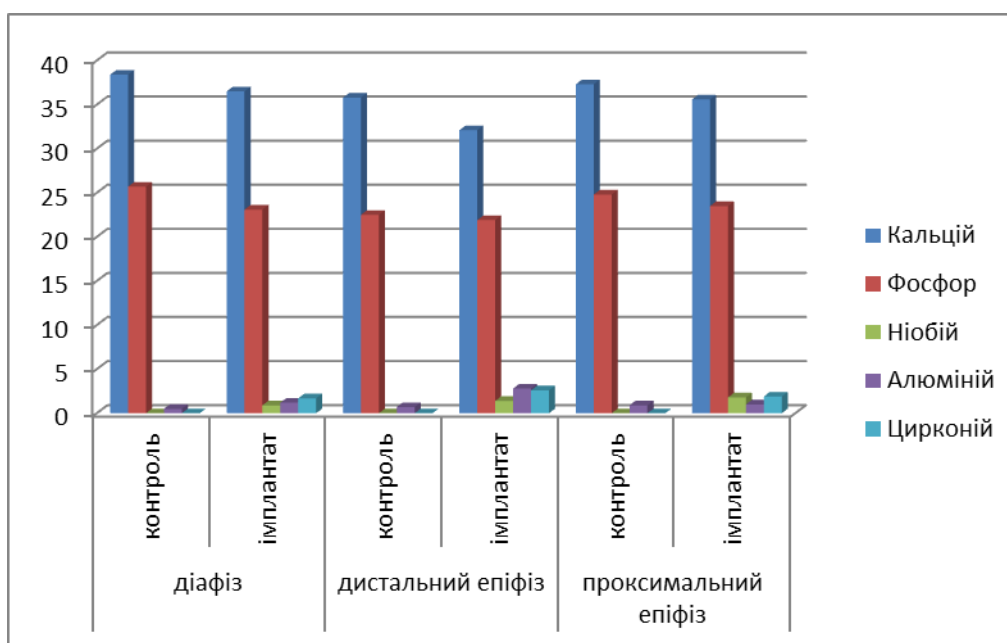


Рисунок 4.26 - Вміст кальцію та фосфору та складових елементів імплантату в різних ділянках стегнової кістки кроля через 6 місяців після імплантації сплаву КТЦ.

Таким чином, введення металевого протезу зі сплаву КТЦ призводить до формування грубоволокнистої кісткової тканини навколо імплантату з незначною кількістю сполучної тканини, що спричиняє порушення процесів

остеоінтеграції. Процеси перебудови кістки завершуються до 6-го місяця спостереження, проте відмічається наявність мікротріщин та мікропереломів. Разом зі зменшенням числа твердості, дані морфологічні зміни свідчать про розвиток ефекту стресового зміщення при використанні сплаву КТЦ.

### 4.3 Ріст, будова, хімічний склад та мікротвердість стегнової кістки при імплантації сплаву КТЦ-125 з гідроксиапатитним покриттям.

Остеометричні показники стегнової кістки кроля після імплантації простезу зі сплаву КТЦ з ГА достовірно не відрізняються від попередньої серії експерименту. Через місяць відбувається зростання поперечного розміру дистального епіфізу до  $15,4 \pm 0,23$  мм ( $p=0.003$ ). У віддалені терміни спостереження даний розмір кістки становить  $15,1 \pm 0,18$  мм та  $15,6 \pm 0,32$  мм ( $p=0.035$ ), що достовірно відрізняється від контролю. Всі інші повздовжні та поперечні розміри кістки не відрізняються від контрольних показників.

На відміну від попередніх серій експерименту, навколо імплантату з гідроксиапатитним покриттям не відмічається формування ділянок сполучної тканини через місяць після імплантації. Натомість спостерігається формування шару грубоволокнистою кісткової тканини товщиною до  $145,6 \pm 24,1$  мкм, який оточує імплантат та тісно з ним пов'язаний. Тканина сформована хаотичними тяжами мінералізованих колагенових волокон з великою кількістю остеобластів та остеокластів (рис. 4.27).

Навколо шару грубоволокнистої кістки відбувається формування трабекул губчастої речовини. Відмічається активне ремоделювання кісткової речовини, що визначається наявністю багатоклітинних кісткових одиниць та чисельними лініями звапнення.

Гістологічні дослідження діяфізу та проксимального епіфізу не виявили принципової різниці з контролем. У порівнянні з попередньою серією відмічається зменшення кількості одиниць ремоделювання та ліній зклеювання.

Морфометричні дослідження показали меншу активність процесів ремоделювання, що свідчить про оптимізацію процесів остеоінтеграції при використанні гідроксиапатитного покриття. Так, в періімплантаційній зоні спостерігається зменшення кількості остеобластів до  $23,5 \pm 0,34$  клітин на  $\text{мм}^2$ , що є достовірно меншим як від контролю, так і у порівнянні з попередніми

термінами спостереження. Кількість активних кісткових клітин в діяфізі та проксимальному епіфізі становить  $10,8 \pm 0,12$  ( $p=0.007$ ) та  $17,5 \pm 0,43$  клітин на  $\text{мм}^2$ , що також є достовірно меншим за контрольні показники. Щільність остеоцитів складає відповідно ділянкам спостереження  $7,8 \pm 0,10$ ,  $7,5 \pm 0,23$  та  $9,1 \pm 0,32$  клітин на  $\text{мм}^2$ , що відповідає контрольним показникам.

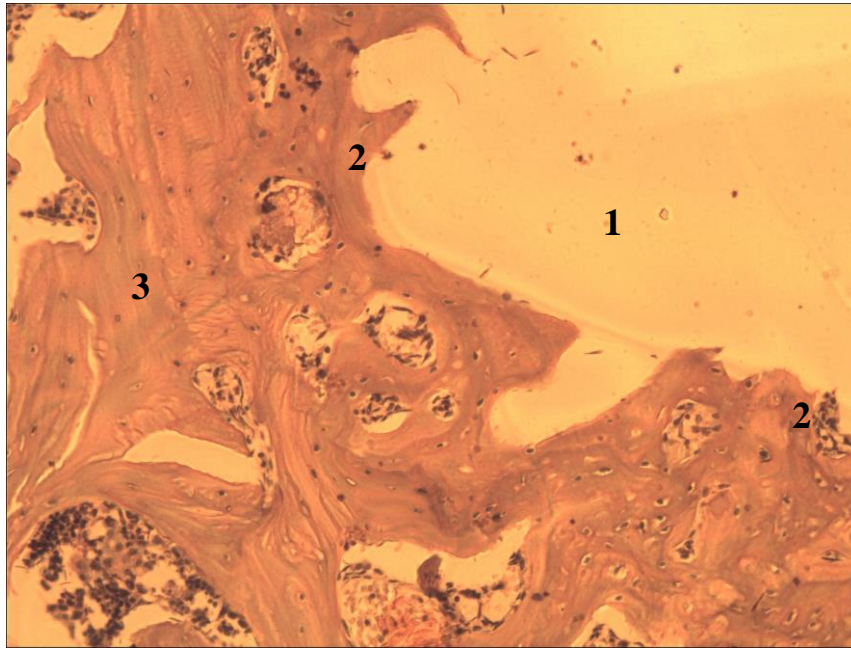


Рисунок 4.27 - Ділянка дистального епіфізу стегнової кістки кроля через місяць після імплантації сплаву КТЦ з ГА. Забарвлення Гематоксилін-Еозин, зб. X 140:

1. Місце металевого імплантату,
2. Формування грубоволокнистої кісткової тканини,
3. «Материнська» кісткова тканина.

Оптимізація процесів остеointegraції призводить до зменшення активності ремоделювання у віддалених від травми ділянках (рис. 4.28). Так, достовірна різниця з контролем спостерігається лише в періімплантаційній зоні, де кількість одиниць ремоделювання становить  $8,1 \pm 0,23$  од/ $\text{мм}^2$  ( $p=0.047$ ). В діяфізі та проксимальному епіфізі даний показник становить  $4,3 \pm 0,42$  та  $5,6 \pm 0,31$  од/ $\text{мм}^2$ , що не відрізняється від контролю, проте є достовірно вищим, ніж у інтактних тварин.

Не перевищує контрольні показники також ширина кісткових одиниць ремоделювання, розмір яких становить відповідно  $176,7 \pm 9,15$  мкм,  $241,6 \pm 15,2$  мкм та  $183,2 \pm 4,6$  мкм відповідно ділянкам спостереження. Так чином, не зважаючи на зростання кількості багатоклітинних одиниць в періімплантаційній зоні, їх розміри не відрізняються від контролю на протипагу «чистим» металевим імплантатам, введення яких призводить до достовірного збільшення ширини одиниць ремоделювання. Діаметр остеонів та їх каналів а також ширина трабекул проксимального епіфізу не відрізняється від контролю. Ширина кісткових трабекул губчастої речовини періімплантаційної зони становить  $142,8 \pm 3,6$  мкм ( $p=0.038$ ), що є достовірно меншим за контроль.

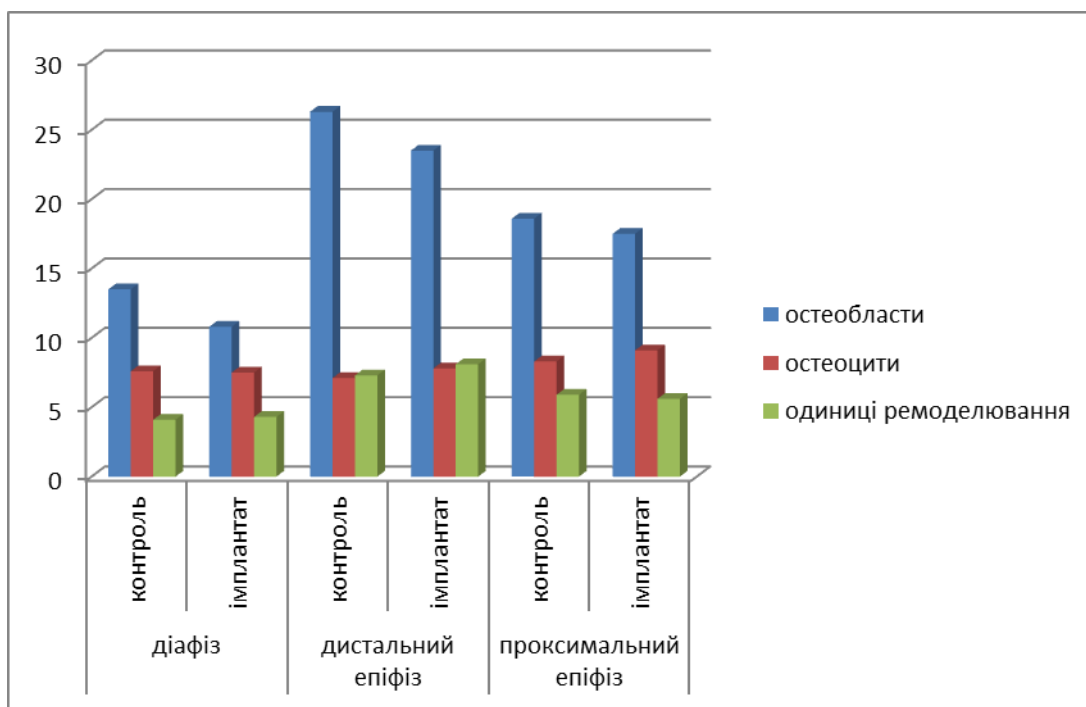


Рисунок 4.28 - Показники морфометрії різних ділянок стегнової кістки кролів через місяць після імплантації сплаву КТЦ з ГА.

Растрова електронна мікроскопія також виявила формування грубоволокнистої кісткової тканини навколо імплантату. Спостерігається наявність зв'язків між покриттям протезу та волокнами кісткової тканини (рис. 4.29). Кісткові трабекули губчастої речовини витончені, мають звичну

будову та характеризуються наявністю одиниць ремоделювання на поверхні. Як і у попередній серії не відмічається формування мікротріщин та переломів трабекул.

Растрова електронна мікроскопія діяфізу та проксимального епіфізу не виявила відмінностей у будові у порівнянні з контрольною серією.

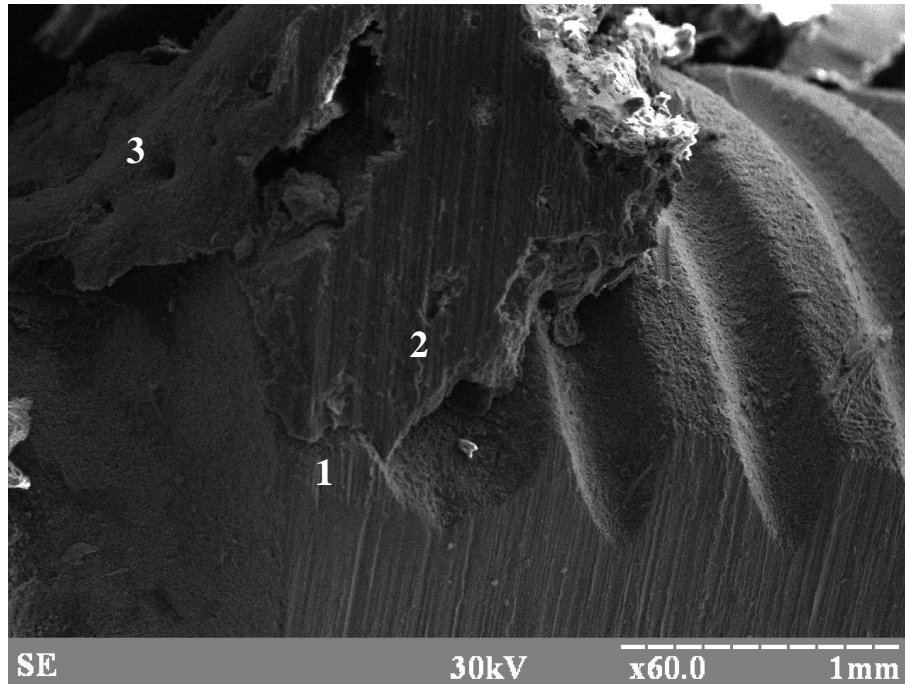


Рисунок 4.29 - Растрова електронна мікроскопія періімплантаційної зони через місяць після імплантації сплаву КТЦ з ГА. Зб. Х60:

1. Поверхня імплантату,
2. Грубоволокниста кісткова тканина,
3. Трабекула губчастої кісткової тканини.

Через місяць після імплантації сплаву КТЦ з ГА виявлене незначне зменшення вмісту кальцію на поверхні трабекул в періімплантаційній зоні до  $27,9 \pm 0,62$  ваг% ( $p=0.04$ ) та відповідність рівню фосфору контрольним показникам –  $19,1 \pm 0,24$  ваг%. В тканині навколо імплантату відмічається наявність цирконію у концентрації  $0,5 \pm 0,12$  ваг%, що майже утричі менше ніж з імплантатом без гідроксиапатитного покриття. Вміст кальцію та фосфору в проксимальному епіфізі та діяфізі становить відповідно  $35,8 \pm 0,52$  ваг% і  $23,1 \pm 0,22$  ваг% та  $33,9 \pm 0,39$  ваг% і  $21,3 \pm 0,15$  ваг%, що відповідає

контрольним показникам. В зазначених відділах кістки не виявлено складових елементів імплантату, що свідчить про зменшення їх міграції за умов покриття простезу гідроксиапатитом (рис. 4.30). В усіх відділах кістки виявляється наявність алюмінію у концентраціях, що відповідають контролю – від  $0,4 \pm 0,1$  ваг% до  $0,6 \pm 0,15$  ваг%.

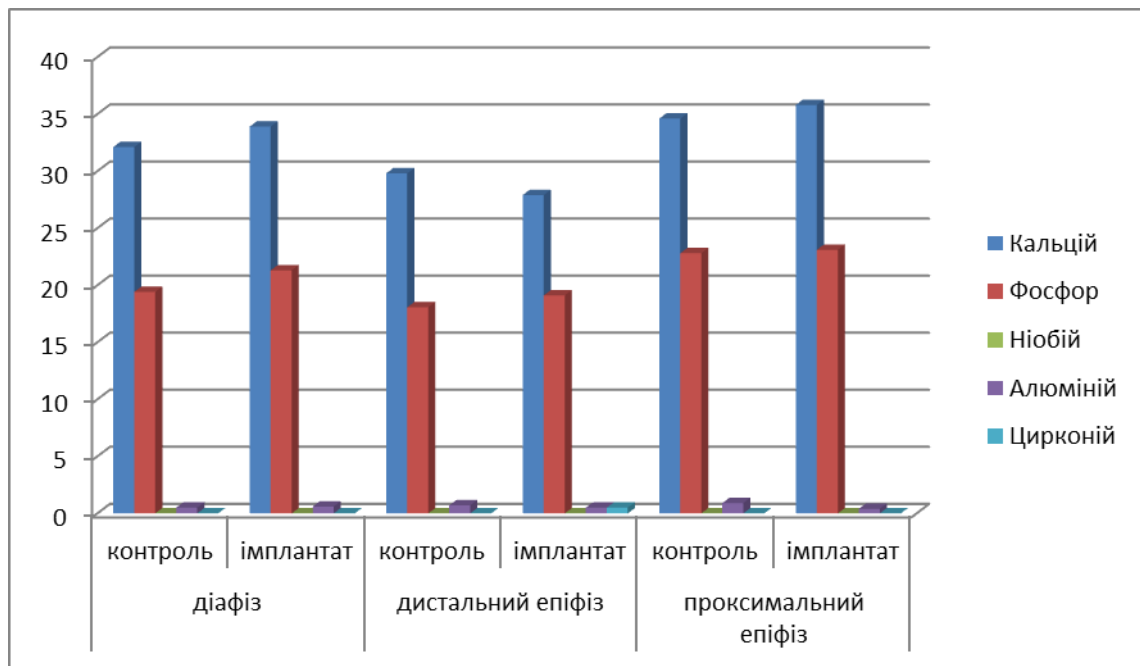


Рисунок 4.30 - Вміст кальцію та фосфору та складових елементів імплантату в різних ділянках стегнової кістки кроля через місяць після імплантації сплаву КТЦ з ГА.

Мікротвердість, як інтегральний показник якості кісткової тканини свідчить про наявну перебудову кісткового матриксу при імплантації металевого простезу (рис. 4.31). Так, число твердості на поверхні трабекул в періімплантаційній зоні становить  $152,4 \pm 5,8$  кгс/мм<sup>2</sup> ( $p=0.044$ ), що є вищим за контроль, проте значно менше за показники інтактної кістки. Мікротвердість кісткової тканини проксимального епіфізу та діафізу становить відповідно  $190,9 \pm 10,2$  та  $249,9 \pm 9,7$  кгс/мм<sup>2</sup>, що відповідає контрольним показникам. Тим не менш травма кістки та процеси перебудови органу після імплантації дентального простезу призводять до достовірного

зменшення числа твердості в усіх відділах кістки у порівнянні з інтактними тваринами.

Через 3 місяці після імплантації простезу складу КТЦ з гідроксиапатитним покриттям відбувається перебудова грубоволокнистої кістки навколо імплантату в пластинчасту з формуванням типової губчастої кістки. Трабекули мають чисельні анастомози як між собою, так і з металевим імплантатом, що має стабілізувати його всередині кістки. Кісткові трабекули мають чисельні лінії зклеювання як наслідок завершених процесів ремоделювання. Проте, на поверхні трабекул навколо імплантату відмічається значна кількість клітинних елементів, що формують одиниці ремоделювання. В зазначеній зоні помітна мозаїчність забарвлення.

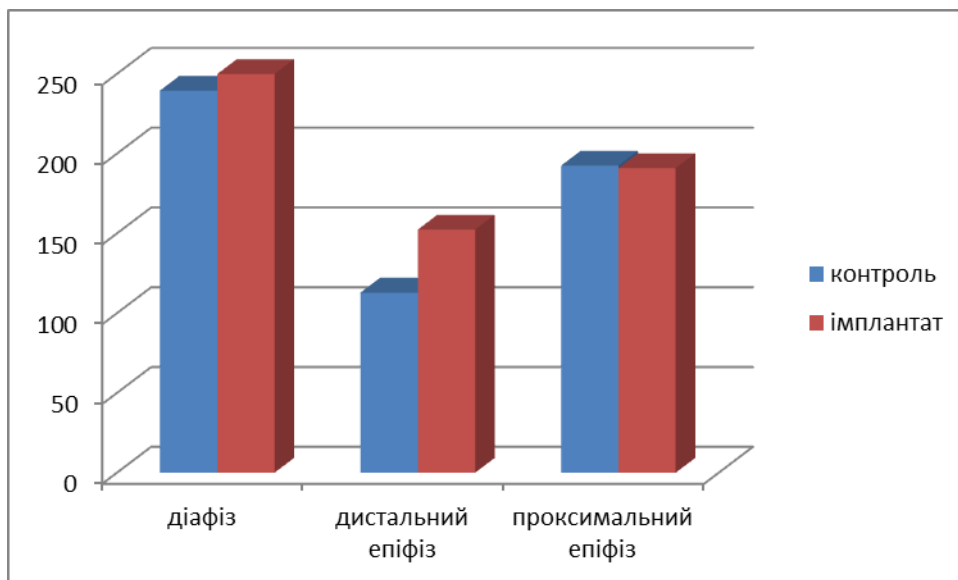


Рисунок 4.30 - Показник мікротвердості різних ділянок стегнової кістки кроля через місяць після імплантації сплаву КТЦ з ГА.

Діафіз стегнової кістки має типову зональну будову, відмічається наявність ліній склеювання та мозаїчність забарвлення, особливо в периостальній зоні (рис. 4.31). Помітне продовження перебудови діафізу у відповідь на імплантацію металевого простезу, про що свідчить наявність значної кількості конусів ремоделювання, проте їх кількість є меншою, ніж у попередній серії.



В проксимальному епіфізі не відмічається наявності суттєвих морфологічних змін окрім ліній склеювання, що свідчить про відсутність активної перебудови кісткової речовини. Трабекули мають типову будову з незначною кількістю клітинних елементів на їх поверхні.

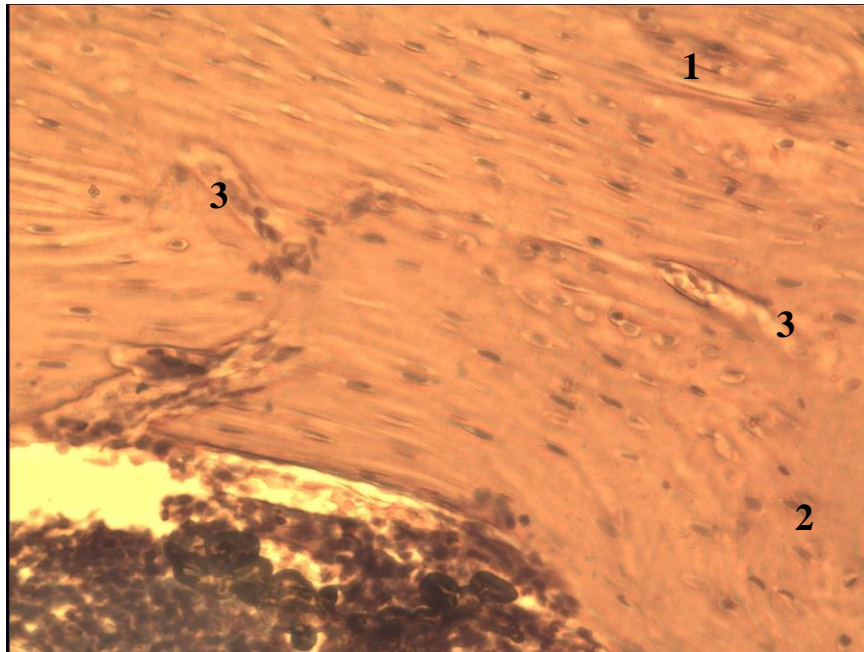


Рисунок 4.31 - Ділянка діафізу стегнової кістки кроля через 3 місяці після імплантації сплаву КТЦ з ГА. Забарвлення Гематоксилін-Еозин, зб. X 100:

1. Лінії склеювання;
2. Мозаїчність забарвлення;
3. Одиниця ремоделювання.

На відміну від попередньої серії у тварин, яким імплантували протез з гідроксипатитним покриттям відбувається зменшення активності процесів ремоделювання (рис. 4.32). Так, щільність остеобластів в діафізі та проксимальному епіфізі зменшується до  $9,1 \pm 0,3$  та  $15,4 \pm 0,49$  клітин на  $\text{мм}^2$ . При цьому в періімплантаційній зоні щільність клітин становить  $21,2 \pm 0,5$  на  $\text{мм}^2$  ( $p=0.009$ ), що відповідає попередній серії. Щільність остеоцитів в діафізі та проксимальному епіфізі відповідає контрольним показникам, а в періімплантаційній зоні становить  $10,1 \pm 0,25$  клітин на  $\text{мм}^2$ , що свідчить про

формування нової тканини. Кількість одиниць ремоделювання на одиницю площі дещо перевищує контрольні показники з максимумом в періімплантаційній зоні –  $6,8 \text{ од/мм}^2$ .

Ширина одиниць ремоделювання складає в дистальному епіфізі  $179,5 \pm 1,6 \text{ мкм}$  ( $p=0.04$ ), в дистальному –  $188,5 \pm 4,9 \text{ мкм}$  та в діафізі –  $211,6 \pm 12,4 \text{ мкм}$ , що відповідає контрольним показникам. Ширина остеонів та їх каналів складає відповідно  $43,8 \pm 0,4 \text{ мкм}$  та  $19,6 \pm 0,31 \text{ мкм}$ , що свідчить про зменшення активності процесів ремоделювання. Товщина трабекул губчастої речовини періімплантаційної зони зростає до  $152,6 \pm 0,44 \text{ мкм}$ , що все-таки є меншим за контроль, т той час я в прокисмальному епіфізі товщина трабекул становить  $183,6 \pm 0,29 \text{ мкм}$ .

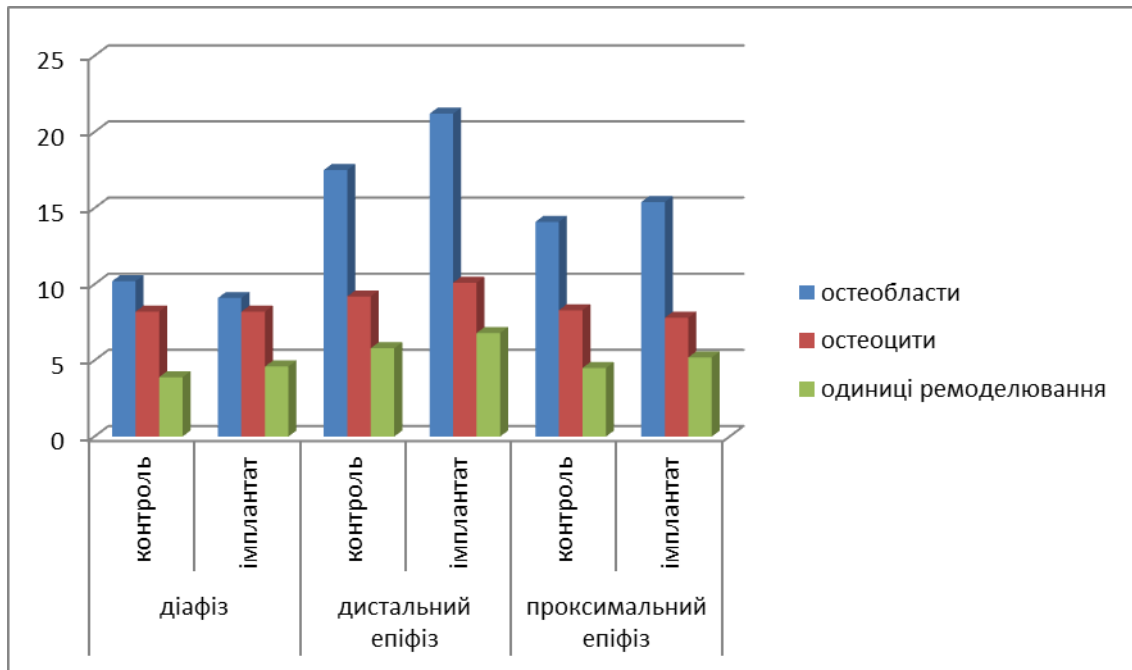


Рисунок 4.32 - Показники морфометрії різних ділянок стегнової кістки кролів через 3 місяці після імплантації сплаву КТЦ з ГА.

Растрова електронна мікроскопія свідчить про формування губчастої кістки навколо імплантату (рис. 4.33). Відмічається наявність тісного зв'язку між останнім та кістковою тканиною, особливо в ділянці гвинтової частини імплантату. При цьому в періімплантаційній зоні формуються поодинокі мікротріщини, які не виходять за межі трабекули. Не зважаючи на наявність

гідроксиапатитного покриття відбувається формування градієнту еластичності, що призводить до ефекту стресового зміщення та порушення біомеханіки органу. При цьому, кількість мікротріщин є значно меншою у порівнянні з попередніми серіями. Можливо, задовільна фіксація імплантату за рахунок формування навколо нього кісткової тканини призводить до меншого механічного стресу. Рівень кальцію та фосфору навколо імплантату становить відповідно  $30,2 \pm 0,44$  ваг% та  $20,8 \pm 0,39$  ваг%, що є недостовірно меншим за показники контролю. На противагу попередньому терміну спостереження відмічається наявність ніобію та цирконію у концентрації  $0,4 \pm 0,11$  ваг% та  $0,8 \pm 0,21$  ваг% та зростання алюмінію до  $1,0 \pm 0,16$  ваг%. Проте зазначені рівні є достовірно меншими у порівнянні з попереднім терміном спостереження (рис. 4.34).

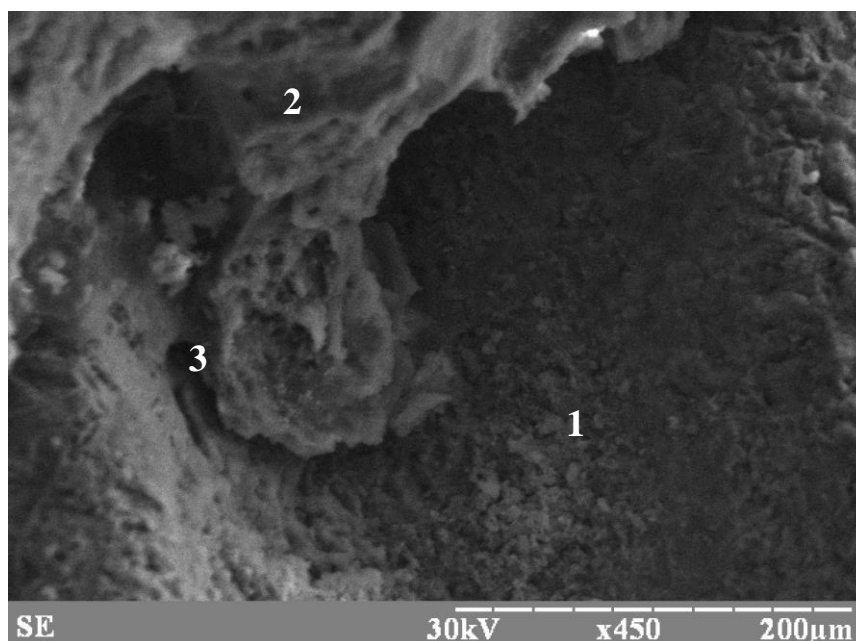


Рисунок 4.33 - Періімпланаційна зона дистального епіфізу стегнової кістки кроля через 3 місяці після імплантації сплаву КТЦ з ГА. Зб. Х450:

1. Імплантат, вкритий ГА
2. Кісткова тканина
3. Зв'язок кісткової тканини з поверхнею імплантату

В діяфізі, на відміну від попереднього терміну спостереження, виявляється наявність мікротріщин, які не формують мікропереломів. Кількість мікротріщин є незначною, проте вони свідчать про наявність ефекту стресового зміщення при імплантації сплаву КТЦ з гідроксиапатитним покриттям. В проксимальному епіфізі не відмічається розвиток механічних дефектів трабекул. Як і у попередній серії спостереження, в кістковій речовині діяфізу та проксимального епіфізу не виявлені складові елементи протезу – ніобій та цирконій, а рівень алюмінію не перевищує контроль та становить  $0,7 \pm 0,2$  ваг%.

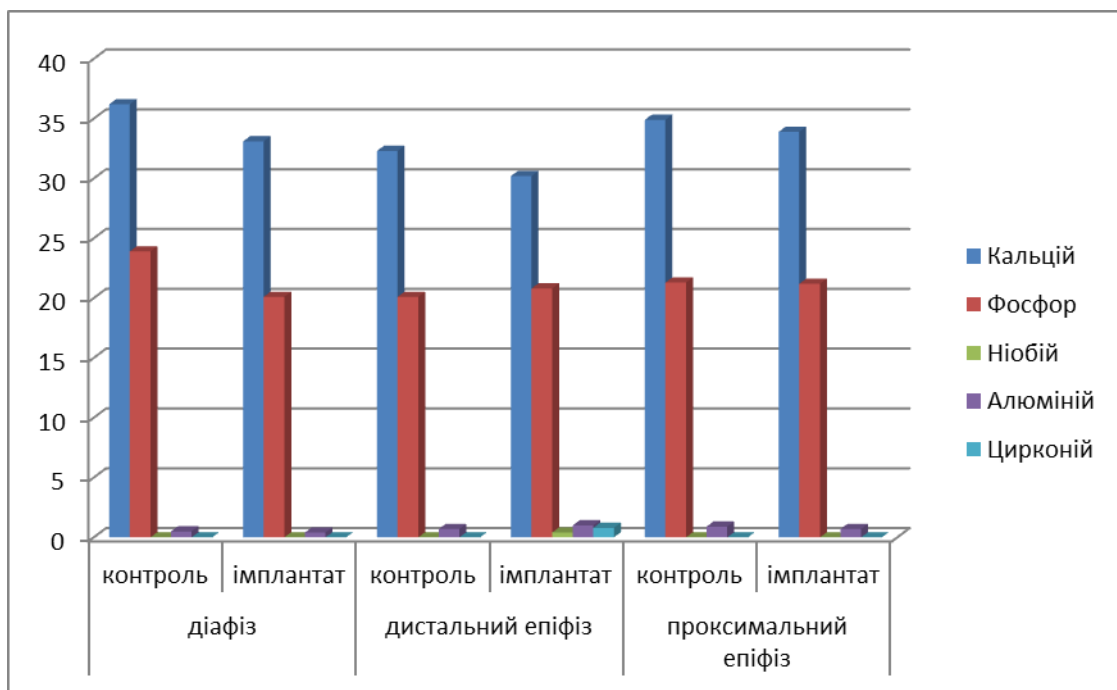


Рисунок 4.34 - Вміст кальцію та фосфору та складових елементів імплантату в різних ділянках стегнової кістки кроля через 3 місяці після імплантації сплаву КТЦ з ГА.

Число твердості кісткової тканини діяфізу та проксимального епіфізу майже не змінюється у порівнянні з попереднім терміном спостереження та становить відповідно  $259,6 \pm 8,2$  кгс/мм<sup>2</sup> ( $p=0.031$ ) та  $188,6 \pm 4,6$  кгс/мм<sup>2</sup> ( $p=0.02$ ). Формування повноцінної кісткової тканини навколо імплантату призводить до росту числа твердості до  $173,5 \pm 6,3$  кгс/мм<sup>2</sup> ( $p=0.04$ ), проте

даний показник є значно меншим за мікротвердість інтактної кістки (рис. 4.35).

Через 6 місяців після введення імплантату навколо нього формується повноцінна губчаста кісткова тканина. Проте, спостерігається наявність великого числа ліній склеювання та незначна мозаїчність забарвлення безпосередньо в періімплантаційній зоні. На поверхні трабекул зменшується число одиниць ремоделювання, проте їх кількість все ще перевищує контрольні показники. В діяфізі та проксимальному епіфізі не відмічається істотних змін у порівнянні з контролем, окрім більшого числа ліній склеювання, як наслідок активних процесів перебудови кісткового матриксу у попередні терміни спостереження (рис. 4.36).

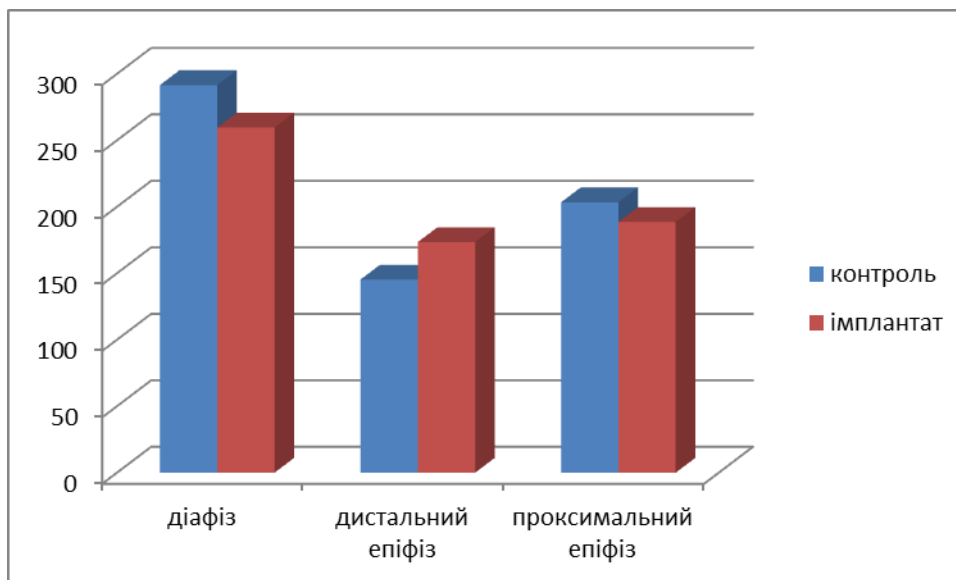


Рисунок 4.35 - Показник мікротвердості різних ділянок стегнової кістки кроля через 3 місяці після імплантації сплаву КТЦ з ГА.

Морфометричні дослідження показали значне зменшення кількості остеобластів в усіх відділах кістки, проте в дистальному епіфізі їх щільність становить  $14,3 \pm 0,41$  клітин на  $\text{мм}^2$ , що достовірно перевищує контроль (рис. 4.37). Щільність остеоцитів становить від  $6,1 \pm 0,23$  клітин на  $\text{мм}^2$  в діяфізі до  $6,9 \pm 0,31$  – в проксимальному епіфізі та не відрізняється від показників інтактних та контрольних тварин. Кількість одиниць ремоделювання не відрізняється від контролю та інтактних показників в діяфізі та

проксимальному епіфізі –  $2,8 \pm 0,3$  од/мм<sup>2</sup> та  $4,5 \pm 0,2$  од/мм<sup>2</sup>. Лише в періімплантаційній зоні кількість багатоклітинних одиниць ремоделювання становить  $4,8 \pm 0,26$  од/мм<sup>2</sup>, що достовірно перевищує контроль.

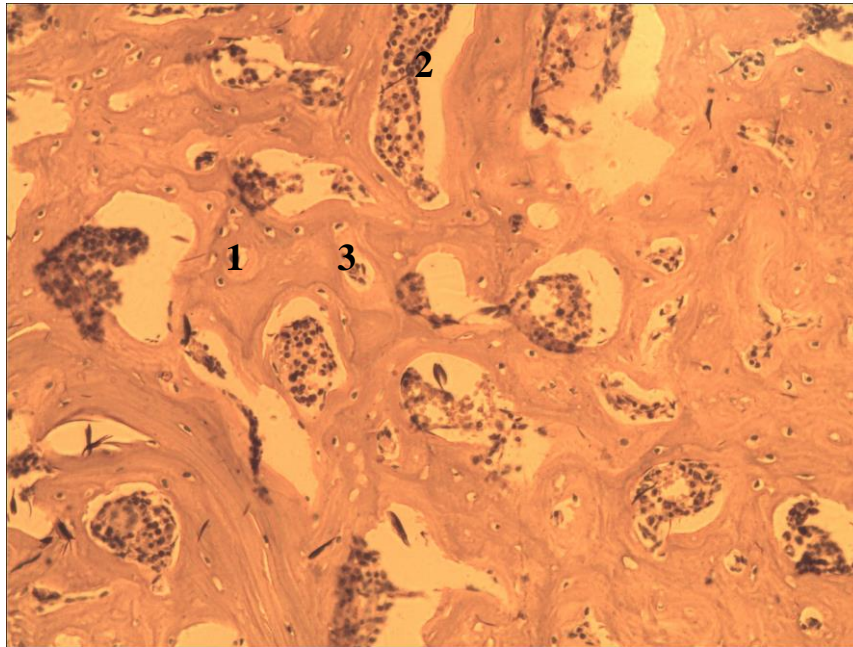


Рисунок 4.36 - Ділянка проксимального епіфізу стегнової кістки кроля через 6 місяців після імплантації сплаву КТЦ з ГА. Забарвлення Гематоксилін-Еозин, зб. X 140:

1. Мозаїчність забарвлення,
2. Червоний кістковий мозок,
3. Одиниця ремоделювання.

Всі інші показники морфометрії достовірно не відрізняються від контролю. Так, ширина одиниць ремоделювання становить від  $187,3 \pm 9,2$  мкм в дистальному епіфізі до  $209,4 \pm 7,3$  мкм – в діафізі. Ширина остеонів та їх каналів становить  $51,2 \pm 1,3$  мкм та  $20,2$  мкм відповідно, ширина трабекул проксимального та дистального епіфізу становить  $188,4 \pm 1,6$  мкм та  $170,4 \pm 3,8$  мкм відповідно. Загалом, морфометричні показники свідчать про зменшення активності процесів ремоделювання в усіх відділах кістки, окрім дистального епіфізу.

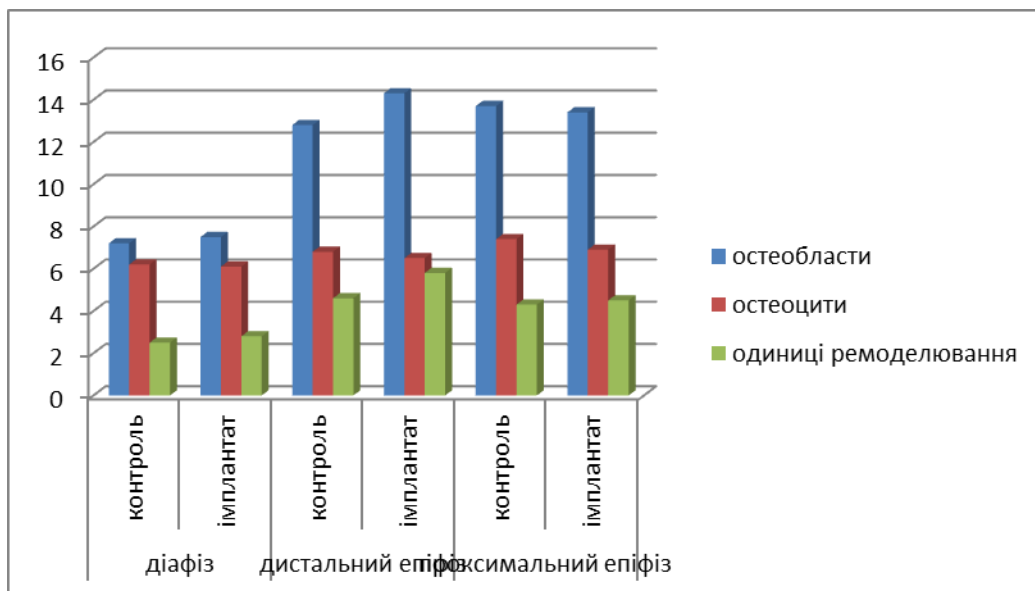


Рисунок 4.37 - Показники морфометрії різних ділянок стегнової кістки кролів через 6 місяців після імплантації сплаву КТЦ з ГА.

Дослідження поверхні кісткової тканини методом растрової електронної мікроскопії свідчить про розвиток ефекту стресового зміщення, що виявляється формуванням мікротріщин на поверхні трабекул губчастої речовини епіфізів та в товщі остеонного шару діафізу. Характерною особливістю в даній серії експерименту є відсутність негативної динаміки у порівнянні з попереднім терміном спостереження. Кількість мікротріщин є мінімальною в проксимальному епіфізі, максимальною – в періімплантаційній зоні дистального епіфізу.

Дослідження поверхні кістки рентгенструктурним аналізом виявив наявність кальцію та фосфору у кількості, що відповідає контрольним показникам (рис. 4.38). Так рівень кальцію становить в дистальному епіфізі  $34,8 \pm 0,66$  ваг%, в діафізі –  $37,8 \pm 0,29$  ваг% та в проксимальному епіфізі –  $35,8 \pm 1,12$  ваг%. Фосфору, відповідно зонам спостереження –  $23,1 \pm 0,72$  ваг%,  $24,2 \pm 0,33$  ваг% та  $22,5 \pm 0,59$  ваг%.



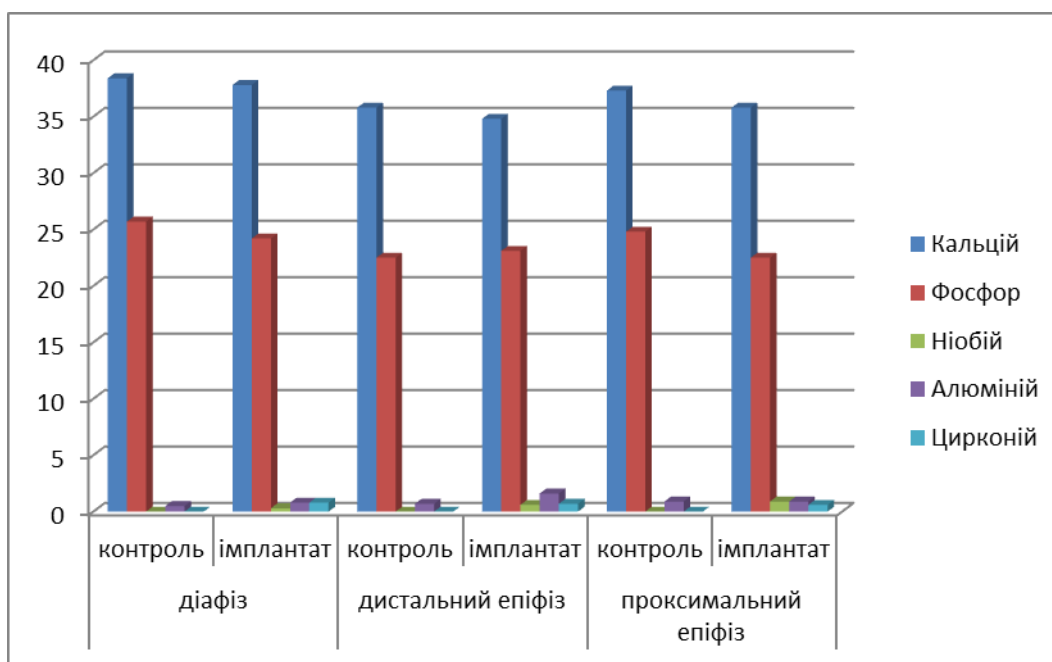


Рисунок 4.38 - Вміст кальцію та фосфору та складових елементів імплантату в різних ділянках стегнової кістки кроля через 6 місяців після імплантації сплаву КТЦ з ГА.

На відміну від попереднього терміну спостереження, метали, що входять до складу імплантату виявляються в усіх зонах. В дистальному епіфізі рівень ніобію становить  $0,6 \pm 0,15$  ваг%, алюмінію –  $1,6 \pm 0,22$  ваг% та цирконію –  $0,7 \pm 0,09$  ваг%. В діафізі їх концентрація становить  $0,3 \pm 0,05$  ваг%,  $0,8 \pm 0,3$  ваг% та  $0,8 \pm 0,12$  ваг%, в проксимальному епіфізі –  $0,9 \pm 0,29$  ваг%,  $0,9 \pm 0,07$  ваг% та  $0,6 \pm 0,1$  ваг% відповідно. Таким чином, не зважаючи на наявність гідроксиапатитного покриття, складові елементи простезу виявляються в усіх ділянках кістки. При цьому їх кількість є значно меншою, ніж при використанні імплантату без покриття.

Не зважаючи на майже повне відновлення будови стегнової кістки, показники мікротвердості залишаються нижчими за інтактні показники, хоча й відповідають контролю (рис. 4.39). Число твердості діафізу та проксимального епіфізу становить  $253,8 \pm 3,8$  кгс/мм<sup>2</sup> та  $184,5 \pm 5,2$  кгс/мм<sup>2</sup>, що відповідає показникам попереднього терміну спостереження. Мікротвердість



тканини періімплантаційної зони зростає до  $189,2 \pm 3,5$  кгс/мм<sup>2</sup>, проте залишається достовірно нижчою за контрольні показники.

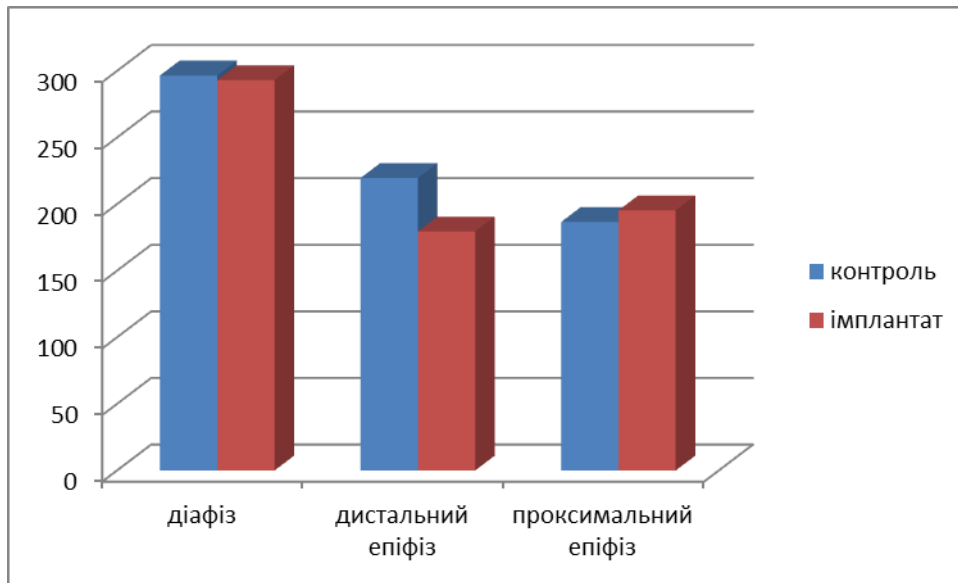


Рисунок 4.39 - Показник мікротвердості різних ділянок стегнової кістки кроля через 6 місяців після імплантації сплаву КТЦ з ГА.

Таким чином, застосування гідроксиапатиту для покриття сплаву КТЦ призводить до формування грубоволокнистої кісткової тканини навколо простезу вже через 1 місяць, що має збільшити стабільність імплантату. Не зважаючи на наявність гідроксиапатиту на поверхні металевого імплантату відбувається розвиток ефекту стресового зміщення, що призводить до появи мікротріщин через 3 місяці після операції.

#### 4.4 Ріст, будова, хімічний склад та мікротвердість стегнової кістки при імплантації сплаву $\beta$ (Ti-Zr).

$\beta$  (Ti-Zr) сплав завдяки інноваційній методиці виготовлення має високу міцність та достатньо низький модуль пружності, що не перевищує 47 ГПа та максимально наближається до характеристик кісткової тканини. Імплантація сплаву в дистальний відділ стегнової кістки кроля не призводить до порушення повздовжнього та більшості показників поперечного росту в усі терміни спостереження. Ширина діафізу, як і у попередніх експериментальних серіях достовірно зростає через місяць після імплантації та становить  $15,6 \pm 0,22$  мм ( $p=0.04$ ), залишаючись сталою упродовж всього експерименту. Таким чином, розвиток периостальної реакції не залежить від типу імплантату та є універсальною реакцією кісткової тканини на введення чужорідного металевго тіла.

Гістологічне дослідження показало наявність залишків сполучної тканини навколо імплантату через місяць після операції та її заміщення грубоволокнистою кістковою тканиною. Остання знаходиться здебільшого в міжвиткових зонах гвинтової частини імплантату та контактує з його металевою поверхнею. Загалом,  $\beta$  (Ti-Zr) протез щільно зафіксований в кістковому ложі. Навколо імплантату формуються трабекули губчастої кістки, що мають чисельні анастомози як з «материнською» кісткою, так і з грубоволокнистою кістковою тканиною. Трабекули витончені, мають чисельні одиниці ремоделювання та нерівномірне забарвлення. Спостерігається інтенсивна перебудова губчастої кісткової тканини «материнської» кістки з формуванням чисельних багатоклітинних кісткових одиниць ремоделювання.

На відміну від попередніх серій з використанням титанових та цирконієвих імплантатів, введення  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву не викликає масивної перебудови компактної речовини діафізу та губчастої тканини проксимального епіфізу (рис. 4.40). Зростання кількості одиниць

ремоделювання є незначним та відображає ранню реакцію кістки на введення чужорідного тіла. Діафіз має типову будову з вираженим остеонним шаром. Конуси ремоделювання розташовуються здебільшого в зоні зовнішніх генеральних пластинок та остеонному шарі. Трабекули проксимального епіфізу місцями мають нерівномірне забарвлення, як наслідок їх ремоделювання.

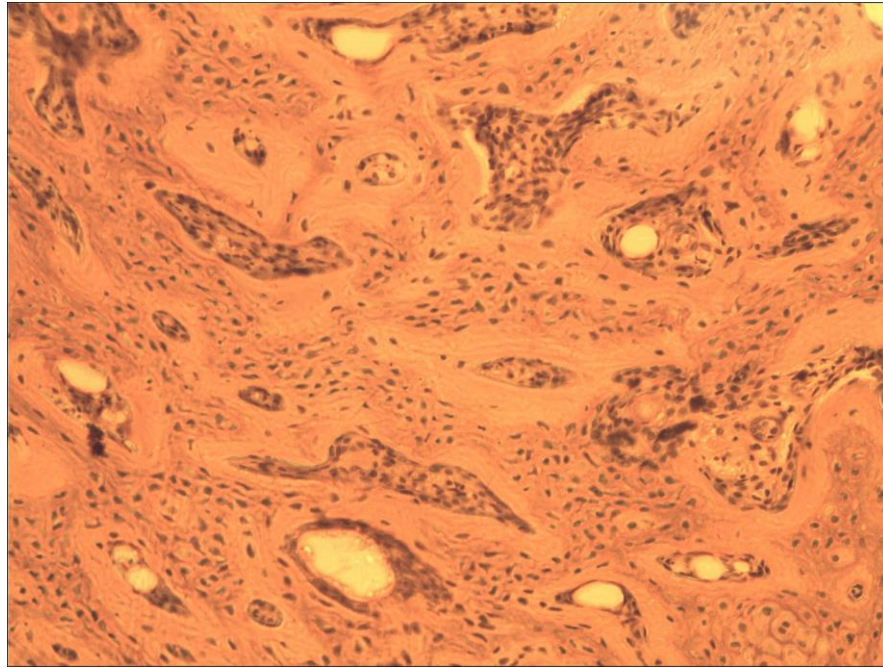


Рисунок 4.40 - Ділянка дистального епіфізу стегнової кістки кроля через місяць після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву. Забарвлення Гематоксилін-Еозин, зб. X 100.

Морфометричні дослідження виявило активну перебудову губчастої речовини дистального епіфізу (рис. 4.41). Так, кількість остеобластів становить  $24,2 \pm 0,6$  клітин на  $\text{мм}^2$ , що відповідає контрольним показникам. При цьому кількість остеоцитів зростає до  $11,2 \pm 0,23$  на  $\text{мм}^2$  ( $p=0.065$ ), що є достовірно вищим за контроль та показники інтактної серії. Щільність остеобластів в діафізі та проксимальному епіфізі становить  $11,2 \pm 0,3$  ( $p=0.03$ ) та  $15,3 \pm 0,22$  ( $p=0.004$ ) клітин на  $\text{мм}^2$ , що наближається до контрольних показників. Кількість одиниць ремоделювання перевищує контроль в усіх досліджуваних ділянках, проте найбільша різниця з контролем

спостерігається в періімплантаційній зоні, де їх кількість становить  $10,4 \text{ од/мм}^2$  ( $p=0.001$ ). Звертає на себе увагу незначне зростання одиниць ремоделювання в діяфізі та проксимальному епіфізі – до  $3,8 \pm 0,25$  та  $5,4 \pm 0,51 \text{ од/мм}^2$ , що є меншим навіть за контрольні показники. Проте їх кількість перевищує дані інтактних тварин та свідчить про активізацію процесів ремоделювання.

Ширина одиниць ремоделювання становить від  $182,6 \pm 2,7 \text{ мкм}$  в проксимальному епіфізі до  $238,3 \pm 8,3 \text{ мкм}$  в діяфізі та достовірно не відрізняється від показників інтактних та контрольних тварин. Поперечні розміри остеонів та їх каналів менші за показники інтактних тварин, проте ця різниця є недостовірною. Діаметр остеонів становить  $49,5 \pm 0,55 \text{ мкм}$ , їх каналів –  $23,0 \pm 0,12 \text{ мкм}$ . Товщина трабекул в періімплантаційній зоні становить  $138,2 \pm 3,8 \text{ мкм}$  ( $p=0.038$ ), що є достовірно меншим за контроль, в той час як даний показник для проксимального епіфізу становить  $182,7 \pm 4,1 \text{ мкм}$ .

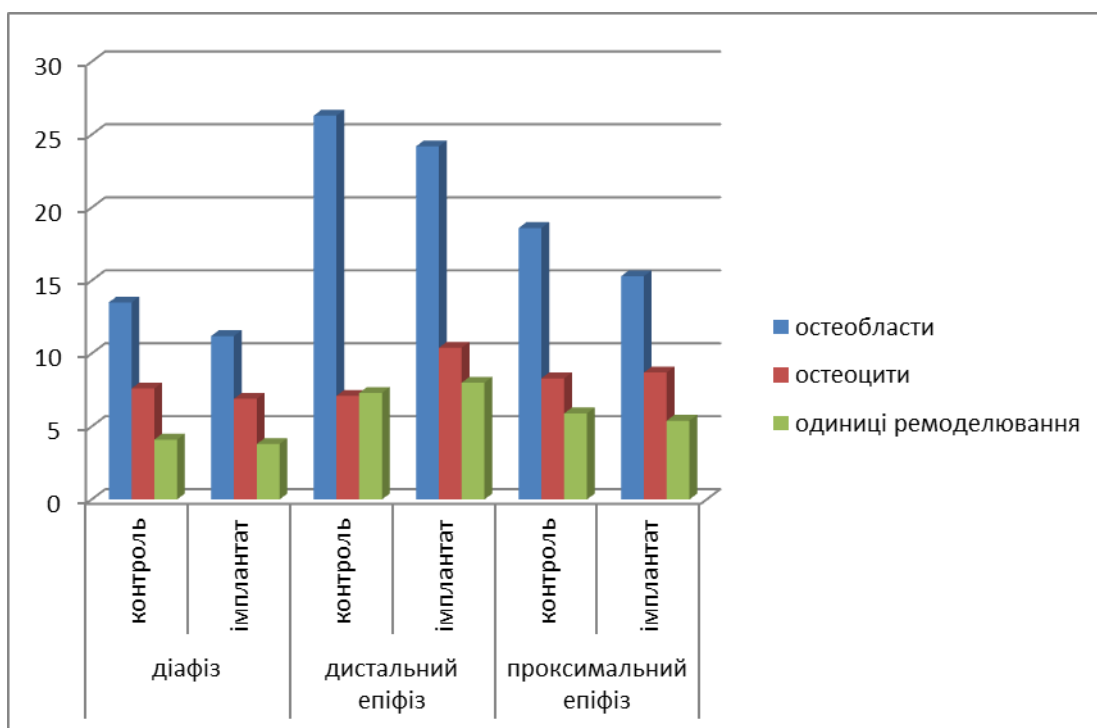


Рисунок 4.41 - Показники морфометрії різних ділянок стегнової кістки кролів через місяць після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву.

Через місяць після імплантації навколо простезу з  $\beta$  (Ti-Zr) спостерігаються залишки немінералізованої сполучної тканини та грубоволокнисту кісткову тканину. Остання інтегрується з трабекулами губчастої кістки, які формуються біля імплантату. Спостерігається витончення трабекул та наявність одиниць ремоделювання. Енергодисперсійний аналіз показав достовірне зменшення кількості кальцію в періімплантаційній зоні у порівнянні з контролем та інтактними тваринами, що свідчить про інтенсивну перебудову кісткового матриксу (рис. 4.42). Вміст фосфору достовірно не відрізняється від контролю. Рівень даних елементів становить відповідно  $26,3 \pm 0,45$  ваг% ( $p=0.038$ ) та  $18,4 \pm 0,71$  ваг%. Рівень титану та цирконію в періімплантаційній зоні складає відповідно  $0,8 \pm 0,12$  ваг% та  $1,0 \pm 0,26$  ваг%.

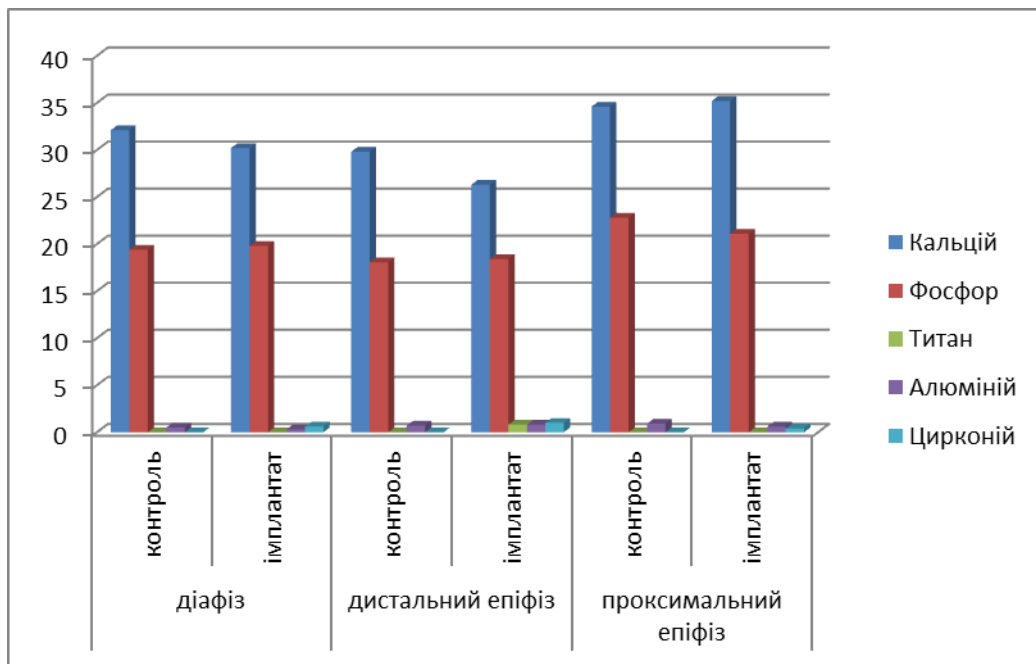


Рисунок 4.42 - Вміст кальцію та фосфору та складових елементів імплантату в різних ділянках стегнової кістки кроля через місяць після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву.

Структура діафізу та губчастої речовини проксимального епіфізу не відрізняється від контролю. Помітна наявність одиниць ремоделювання та збільшення клітин на поверхні трабекул. Натомість не спостерігається

розвитку мікротріщин та переломів на відміну від більшості попередніх експериментальних серій. Вміст кальцію та фосфору в досліджуваних ділянках достовірно не відрізняється від контрольної серії та складає в діяфізі  $30,2 \pm 0,19$  ваг% та  $19,8 \pm 0,44$  ваг% і в проксимальному епіфізі –  $35,2 \pm 0,62$  ваг% та  $21,1 \pm 0,73$  ваг% відповідно. З металів, які входять до складу імплантату визначається лише цирконій у концентрації  $0,6 \pm 0,2$  ваг% та  $0,4 \pm 0,14$  ваг% відповідно. Таким чином,  $\beta$  (Ti-Zr) сплав є більш стабільним до ерозії у порівнянні з іншими досліджуваними сплавами.

Через місяць після імплантації титан-цирконієвого сплаву з низьким модулем пружності мікротвердість кісткової тканини є нижчою за показники інтактних тварин, проте дещо перевищують контроль та показники всіх попередніх серій (рис. 4.43). Саме наявність низького модулю пружності може знизити розвиток ефекту стресового зміщення, який і призводить до порушення якості кісткової тканини. Число твердості в періімплантаційній зоні становить через місяць спостереження  $142,0 \pm 5,3$  кгс/мм<sup>2</sup> ( $p=0.017$ ), в діяфізі –  $253,9 \pm 9,7$  кгс/мм<sup>2</sup> та в проксимальному епіфізі –  $184,6 \pm 3,8$  кгс/мм<sup>2</sup> ( $p=0.047$ ).

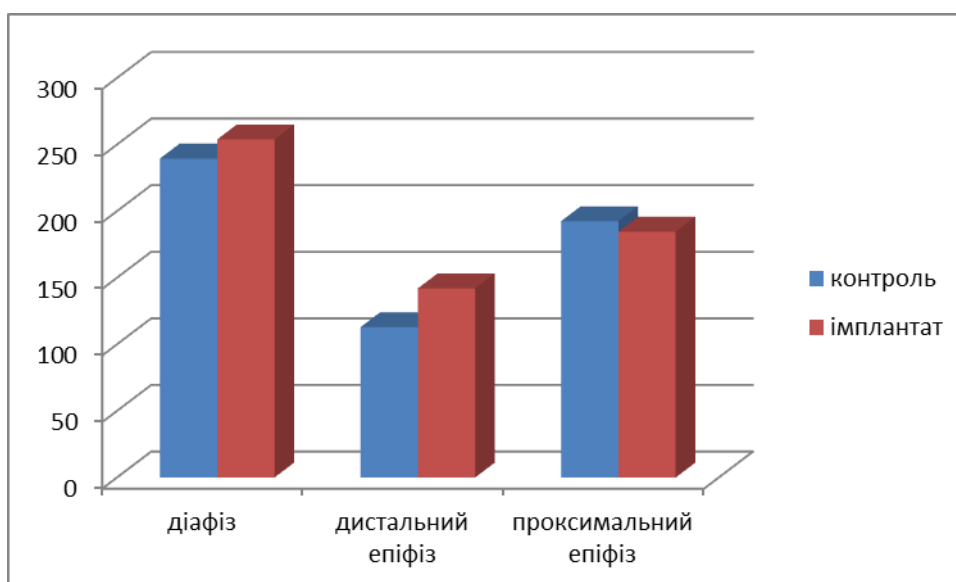


Рисунок 4.43 - Показник мікротвердості різних ділянок стегнової кістки кроля через місяць після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву.

Будова стегнової кістки через 3 та 6 місяців після імплантації титан-цирконієвого сплаву з низьким модулем пружності майже не відрізняється, окрім періімплантаційної зони. Через 3 місяці в ній спостерігається наявність активності кісткових клітин, зокрема остеобластів та остеоклістів, які формують одиниці ремоделювання. Сполучна речовина навколо імплантату, як і грубоволокниста кісткова тканина повністю заміщуються компактною кістковою тканиною. Остання формує сітку трабекул, які анастомозують одна з одною, утворюючи міжтрабекулярні простори. Імплантат тісно інтегрований в новоутворену кісткову тканину. Трабекули нерівномірно забарвлені та мають чисельні лінії склеювання. Через 6 місяців відбувається зменшення мозаїчності забарвлення, що є свідченням повноцінної мінералізації трабекул. Кількість одиниць ремоделювання зменшується, хоча їх активність залишається дещо більшою ніж у контролі.

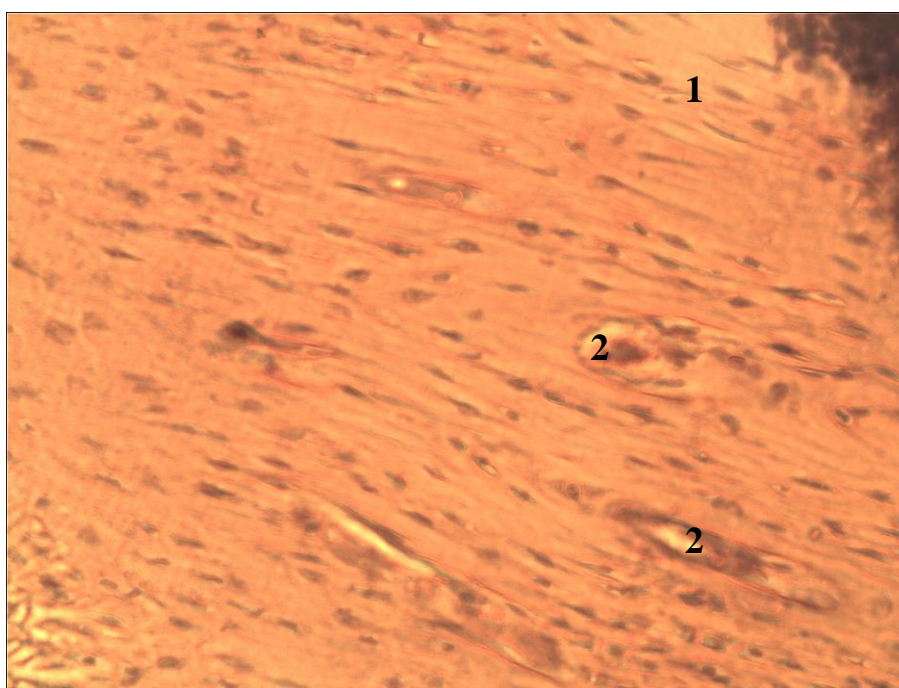


Рисунок 4.44 - Ділянка діяфізу стегнової кістки кроля через 6 місяців після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву:

1. Мозаїчність забарвлення,
2. Одиниця ремоделювання.



В діяфізі та проксимальному епіфізі зберігається активність ремоделювання через 3 місяці, яка майже повертається до контрольних значень через 6 місяців після імплантації (рис. 4.44). Загалом, ремоделювання віддалених від імплантату ділянок кістки значно менш виражене, ніж у попередніх експериментальних серіях.

Через 3 місяці після травми спостерігається наявність значної кількості остеобластів на поверхні трабекул періімплантаційної – їх щільність складає  $20,4 \pm 0,4$  ( $p=0.002$ ) клітин на  $\text{мм}^2$ . Щільність остеоцитів при цьому не відрізняється від контролю. Кількість остеобластів та остеоцитів в проксимальному епіфізі та діяфізі є нижчим ніж у контрольній серії тварин та наближається до показників інтактної серії. Щільність одиниць ремоделювання перевищує контроль лише в дистальному епіфізі та складає  $6,9 \pm 0,2$  од/ $\text{мм}^2$  ( $p=0.04$ ). Ширина одиниць ремоделювання є дещо вищою в періімплантаційній зоні і складає  $199,7 \pm 3,8$  мкм. В діяфізі та проксимальному епіфізі їх розміри становлять  $183,5 \pm 6,2$  мкм ( $p=0.045$ ) та  $215,7 \pm 11,5$  мкм ( $p=0.026$ ). В діяфізі відсутні морфометричні ознаки активної трансформації кісткової тканини – ширина остеонів та їх каналів не відрізняються від контрольних показників. Товщина трабекул в періімплантаційній зоні становить  $157,9 \pm 4,8$  мкм, що менше за контрольні показники, в той час як в проксимальному епіфізі товщина трабекул становить  $187,3 \pm 9,1$  мкм ( $p=0.03$ ).

Через 6 місяців після імплантації зберігається незначне збільшення кількості клітин на поверхні трабекул періімплантаційної зони – їх щільність становить  $14,5 \pm 0,33$  клітин на  $\text{мм}^2$ . В діяфізі та проксимальному епіфізі цей показник становить відповідно  $7,3 \pm 0,6$  та  $12,5 \pm 0,35$  клітин на  $\text{мм}^2$ , що достовірно не відрізняється від контролю (рис. 4.45, рис. 4.46). Щільність остеоцитів в усіх досліджуваних зонах повністю відповідає контрольним показникам. Кількість одиниць ремоделювання становить в діяфізі  $2,1 \pm 0,18$  од/ $\text{мм}^2$ , в дистальному епіфізі –  $6,2 \pm 0,31$  од/ $\text{мм}^2$  ( $p=0.031$ ) та в проксимальному епіфізі –  $4,4 \pm 0,53$  од/ $\text{мм}^2$ .



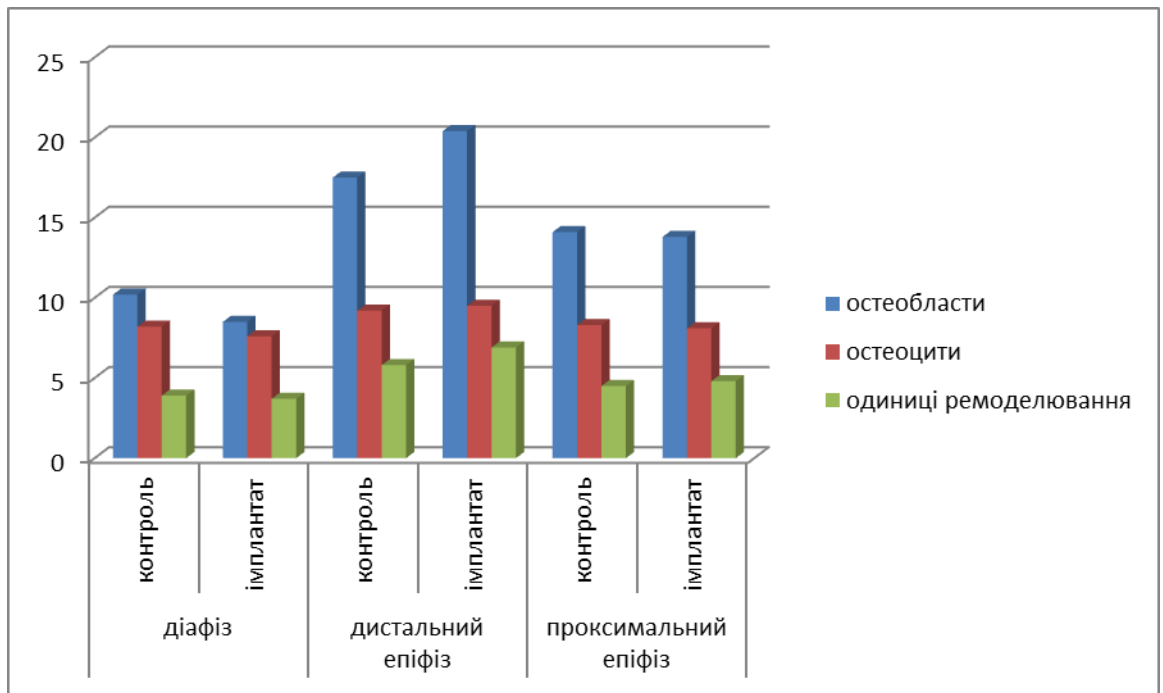


Рисунок 4.45 - Показники морфометрії різних ділянок стегнової кістки кролів через 3 місяці після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву.

Таким чином, активна перебудова кісткової тканини спостерігається лише в періімплантаційній зоні. Ширина одиниць ремоделювання становить від  $183,6 \pm 4,5$  мкм в епіфізах до  $209,4 \pm 7,2$  мкм – в середині діафізу. Ширина остеонів і їх каналів а також товщина трабекул губчастої речовини епіфізів достовірно не відрізняється від контролю.

Через 3 місяці після імплантації титан-цирконієвого сплаву методом растрової електронної мікроскопії відмічається формування губчастої кісткової речовини навколо протезу. Спостерігається тісний зв'язок між імплантатом та новоутвореною кістковою тканиною. Трабекули кісткової речовини дещо витончені. В діафізі та проксимальному епіфізі не спостерігається наявності морфологічних змін. На відміну від більшості попередніх серій, не відбувається формування мікротріщин та переломів трабекул в усіх досліджуваних ділянках.

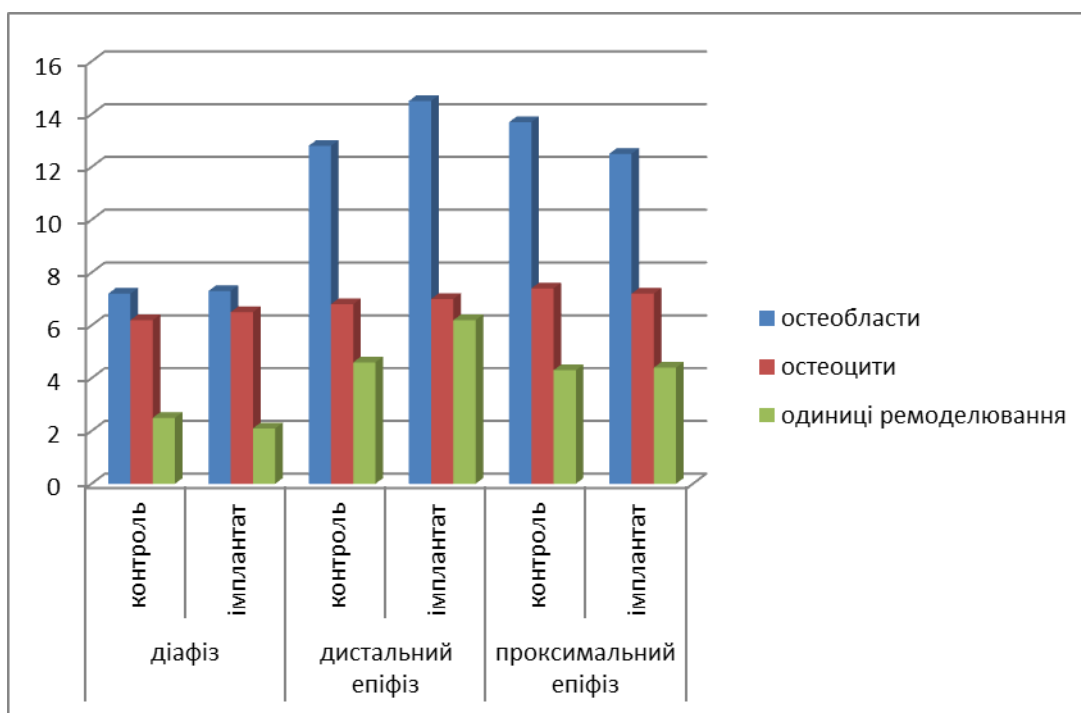


Рисунок 4.46 - Показники морфометрії різних ділянок стегнової кістки кролів через 6 місяців після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву.

Енергодисперсійний аналіз показав зростання вмісту кальцію до  $33,7 \pm 0,62$  ваг% в періімплантаційній зоні, до  $34,8 \pm 0,92$  ваг% - в діафізі та до  $35,6 \pm 1,2$  ваг% - в проксимальному епіфізі (рис. 4.47). Вміст фосфору становить відповідно  $21,5 \pm 0,43$  ваг%,  $23,1 \pm 0,28$  ваг% та  $22,8 \pm 0,37$  ваг%. Відбувається зростання кількості цирконію в усіх досліджуваних ділянках відповідно до  $1,4 \pm 0,32$  ваг%,  $0,9 \pm 0,19$  ваг% та  $0,8 \pm 0,21$  ваг% та поява титану у кількості  $1,1 \pm 0,11$  ваг%,  $0,6 \pm 0,2$  ваг% та  $0,4 \pm 0,1$  ваг%.

Через 6 місяців після імплантації навколо імплантату формується повноцінна кісткова тканина, яка має тісні зв'язки з протезом (рис. 4.48). При цьому в періімплантаційній зоні відмічається поява поодиноких мікротріщин, як наслідок не повної відповідності модуля пружності імплантату та кісткової тканини. Мікротріщини не перетинають всю поверхню трабекул та не призводять до формування мікропереломів, які значно зменшують тривкісні властивості кістки у цілому. При цьому, в діафізі та проксимальному епіфізі мікротріщини відсутні, що може бути

свідченням відсутності або мінімального розвитку ефекту стресового зміщення, як основного фактору зниження якості кісткової тканини у віддалені терміни після імплантації металевих простезів.

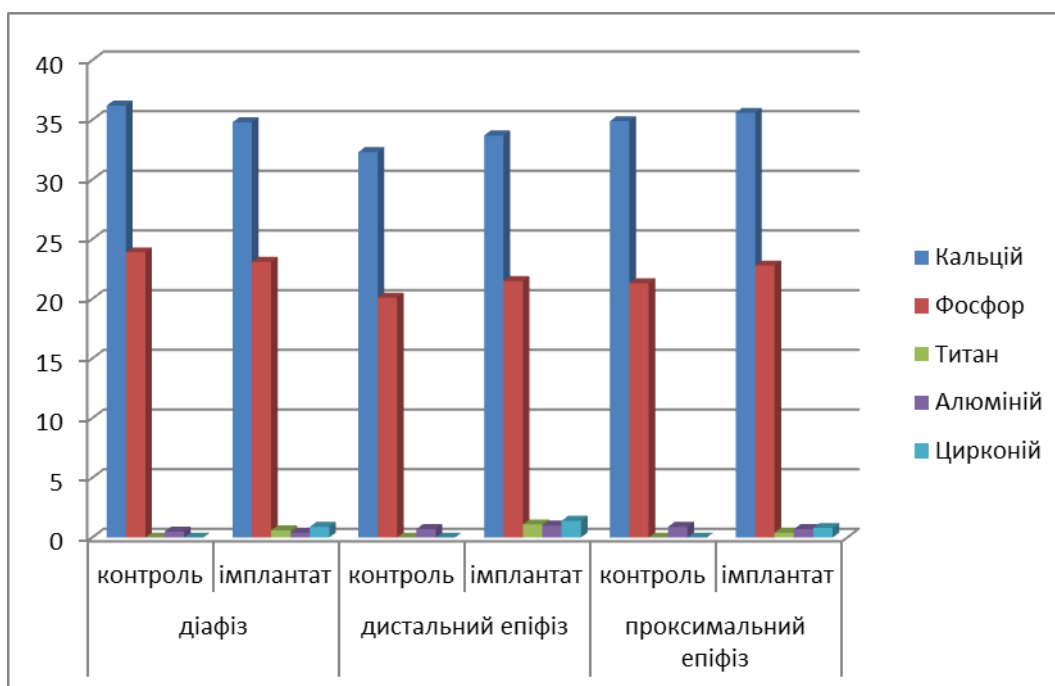


Рисунок 4.47 - Вміст кальцію та фосфору та складових елементів імплантату в різних ділянках стегнової кістки кроля через 3 місяці після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву.

Енергодисперсійний аналіз показав повне відновлення вмісту кальцію та фосфору на поверхні трабекул губчастої речовини епіфізів та компактної речовини діафізу через 6 місяців після імплантації (рис. 4.49). Даний показник також підтверджує відсутність активного ремоделювання у віддалений період після імплантації низькомодульного сплаву. При цьому спостерігається наявність титану та цирконію в усіх досліджуваних ділянках, при цьому їх концентрація майже не зростає у порівнянні з попереднім терміном спостереження. В дистальному епіфізі вміст титану та цирконію становить  $1,3 \pm 0,3$  ваг% та  $1,9 \pm 0,29$  ваг%, в діафізі –  $1,2 \pm 0,18$  ваг% та  $1,0 \pm 0,22$  ваг% і в проксимальному епіфізі – відповідно  $0,9 \pm 0,05$  ваг% та  $1,1 \pm 0,13$  ваг%.

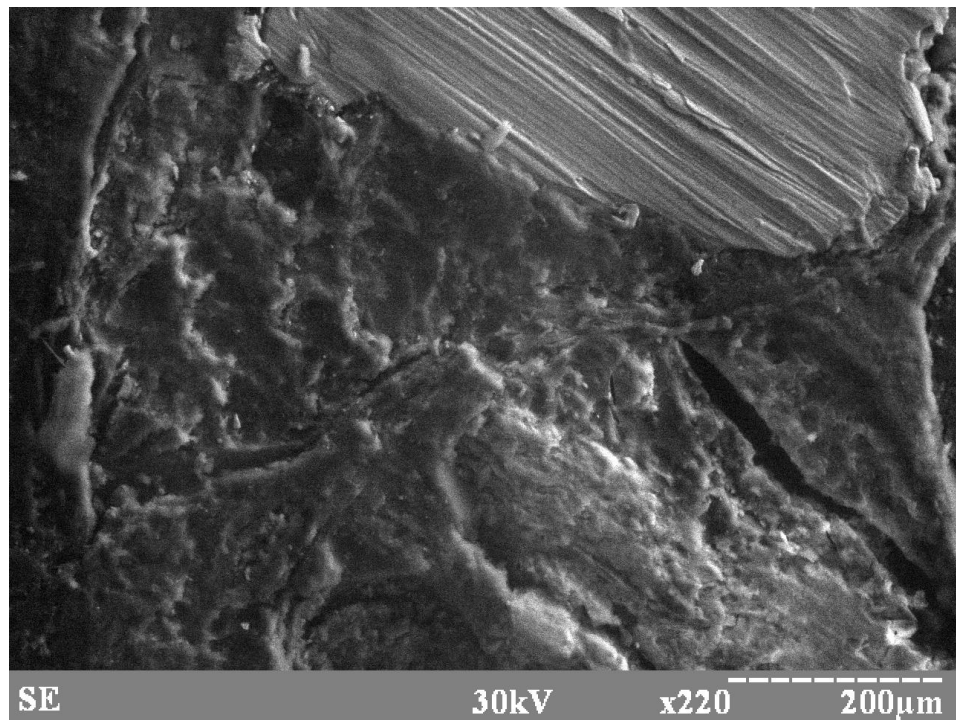


Рисунок 4.48 - Растрова електронна мікроскопія ділянки кістки навколо імплантату через 6 місяців після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву. Зб. 220:

1. – Поверхня імплантату,
2. – Кісткова тканина.

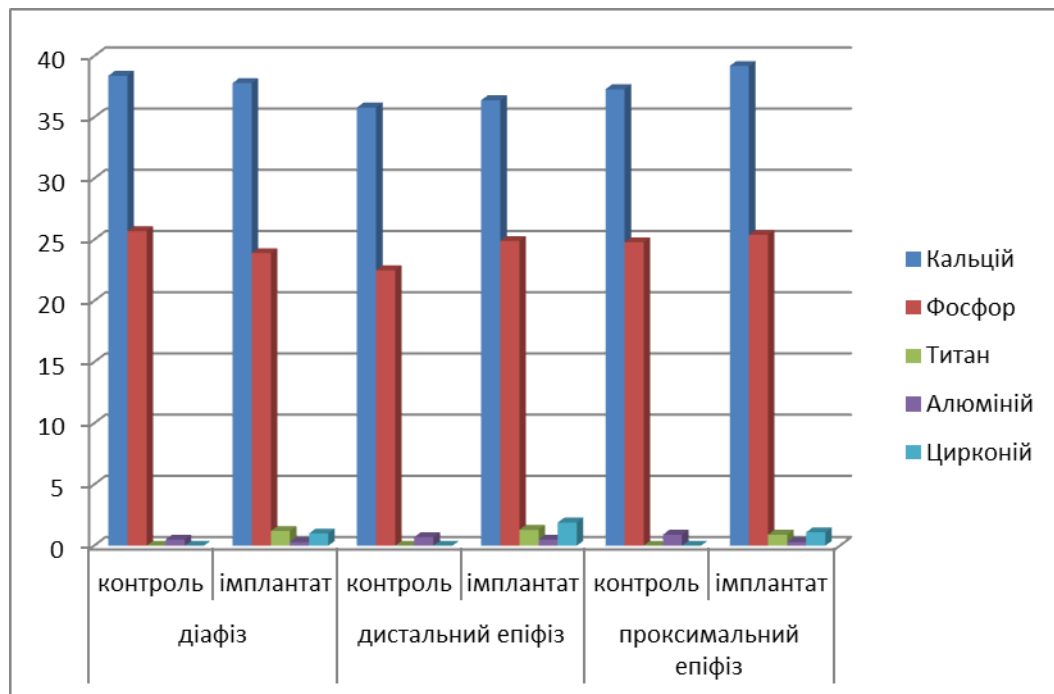


Рисунок 4.49 - Вміст кальцію та фосфору та складових елементів імплантату в різних ділянках стегнової кістки кроля через 6 місяців після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву.

Число твердості кісткової тканин діяфізу через 3 та 6 місяців достовірно, проте незначно відрізняється від інтактних тварин, що свідчить про незначні зміни будови кістки у віддалені терміни після імплантації (рис. 4.50). Одним з можливих механізмів майже повного відновлення мікротвердості є незначний розвиток ефекту стресового зміщення при використанні низькомодульного сплаву. Число твердості при цьому становить відповідно  $261,4 \pm 4,7$  кгс/мм<sup>2</sup> та  $277,2 \pm 1,4$  кгс/мм<sup>2</sup>. В проксимальному епіфізі відбувається повне відновлення даного показника до 6-го місяця спостереження, який становить  $195,3$  кгс/мм<sup>2</sup>. В періімплантаційній зоні спостерігається зростання числа твердості через 3 місяці до  $173,5 \pm 4,8$  кгс/мм<sup>2</sup> та через 6 місяців – до  $179,5 \pm 3,7$  кгс/мм<sup>2</sup>. Проте даний показник все ще достовірно відрізняється від контролю.

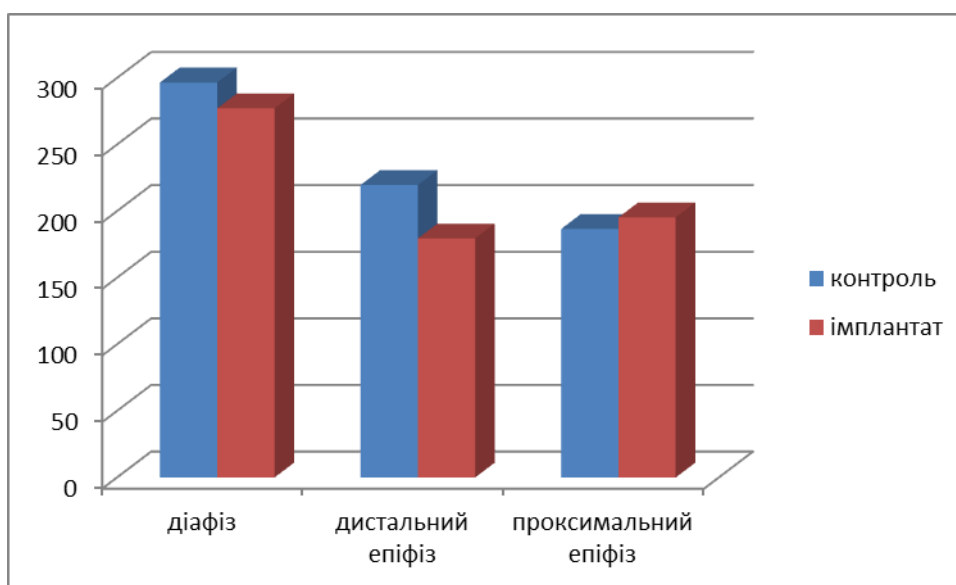


Рисунок 4.50 - Показник мікротвердості різних ділянок стегнової кістки кроля через 6 місяців після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву.

Таким чином, використання низькомодульного сплаву  $\beta$  (Ti-Zr) призводить до утворення незначної кількості сполучної тканини в міжвиткових проміжках, яка починає заміщуватись грубоволокнистою кістковою вже через місяць після введення протезу. В умовах застосування сплаву з низьким модулем пружності, який наближається до показника

кортикальної кістки не призводить до інтенсифікації ремоделювання кістки та дозволяє зменшити ушкодження внаслідок розвитку ефекту стресового зміщення.

#### 4.5 Ріст, будова, хімічний склад та мікротвердість стегнової кістки при імплантації сплаву $\beta$ (Ti-Zr) з гідроксиапатитним покриттям.

Імплантація титан-цирконієвого сплаву з гідроксиапатитним покриттям не впливає на повздовжній ріст стегнової кістки кролів в усі терміни спостереження. Довжина кістки коливається від  $81,6 \pm 1,4$  мм через місяць спостереження до  $87,3 \pm 2,5$  мм – через півроку після імплантації. Достовірна відмінність від показників контролю спостерігається лише для ширини діафізу, який складає  $15,3 \pm 0,4$  ( $p=0.04$ ) мм через місяць спостереження,  $15,8 \pm 0,22$  мм ( $p=0.048$ ) – через 3 місяці і  $15,9 \pm 0,41$  мм ( $p=0.024$ ) – через 6 місяців.

Гістологічне дослідження периімплантаційної зони через місяць після імплантації сплаву  $\beta$  (Ti-Zr) показало формування кісткової тканини навколо імплантату. За своєю будовою кісткова тканина представлена як грувоволокнистою, так і пластинчастою, яка формує трабекули, що тісно пов'язані з імплантатом. Гідроксиапатитне покриття виконує роль атрактанта для остеобластів та забезпечує їх адгезію на поверхні імплантату. Таким чином, наявність покриття стимулює розвиток саме кісткової тканини. В кістковій тканині помітні явища активної перебудови, що виявляються у зростанні кількості одиниць ремоделювання та мозаїчним забарвленням трабекул. Останні дещо витончені, що можна пояснити як формуванням нових кісткових одиниць навколо імплантату, так і процесами активного ремоделювання трабекул «материнської» кістки (рис. 4.51).

Будова діафізу стегнової кістки майже не відрізняється від контрольної серії і представлена 3-ма шарами пластинок, що формують остеонний шар, а також шари внутрішніх та зовнішніх генеральних пластинок. В останьому можна помітити зростання конусів ремоделювання, що є проявом реакції органу на імплантацію  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву.

Проксимальний епіфіз представлений кістковими трабекулами, які формують сітку та міжтрабекулярними порожнинами в яких візуалізується



червоний кістковий мозок. Деякі трабекули мають мозаїчне забарвлення та одиниці ремоделювання на своїй поверхні. Загалом, губчаста речовина проксимального епіфізу зазнає найменших змін через місяць після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву.

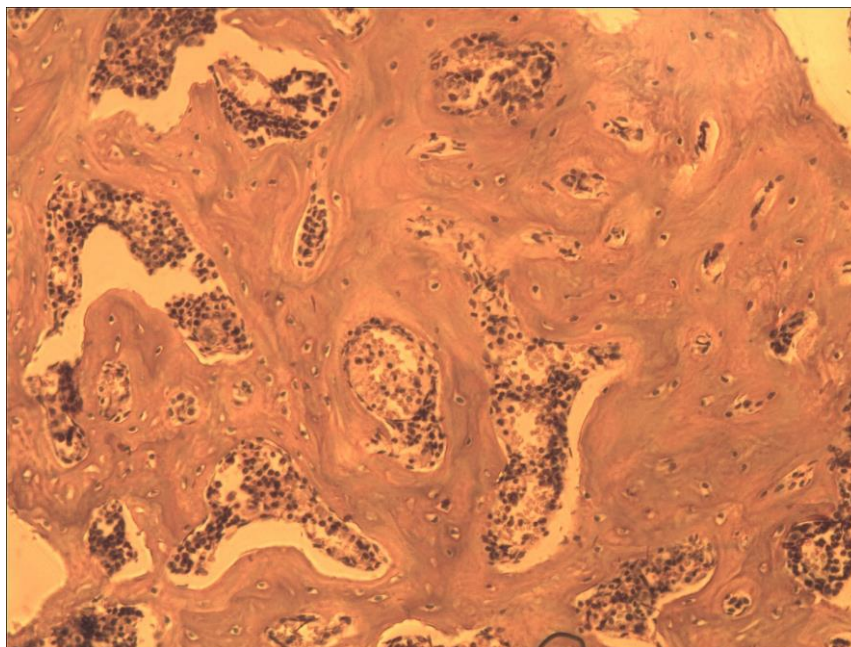


Рисунок 4.51 - Ділянка дистального епіфізу стегнової кістки кроля через місяць після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву з гідроксиапатитним покриттям. Забарвлення Гематоксилін-Еозин, зб. X 300.

Морфометрія гістологічних препаратів різних ділянок стегнової кістки показала активну перебудову в кістковій тканині в періімплантаційній зоні та відсутність активації процесів ремоделювання в інших ділянках (рис. 4.52). Так, щільність остеобластів в дистальному епіфізі становить  $28,4 \pm 0,43$  клітин на  $\text{мм}^2$ , що навіть більше за контрольні показники. При цьому, в діяфізі та проксимальному епіфізі їх кількість становить  $9,9 \pm 0,15$  ( $p=0.001$ ) та  $17,5 \pm 0,45$  клітин на  $\text{мм}^2$ , що є меншим за показники контролю. Кількість остеоцитів також не перевищує контроль в зазначених ділянках органу. При цьому щільність остеоцитів в періімплантаційній зоні становить  $10,8 \pm 0,62$  на  $\text{мм}^2$  ( $p=0.021$ ), що є достовірно вищим за контроль. Кількість одиниць ремоделювання на одиницю площі перевищує контроль в дистальному



епіфізі та становить  $8,9 \pm 0,25$  од/мм<sup>2</sup> ( $p=0.007$ ), в діяфізі та проксимальному епіфізі їх кількість є достовірно меншою та становить  $3,3 \pm 0,1$  ( $p=0.042$ ) та  $5,1 \pm 0,4$  од/мм<sup>2</sup>. Таким чином, на відміну від інших експериментальних серій, при імплантації низькомодульного сплаву  $\beta$  (Ti-Zr) з гідроксипатитним покриттям відбувається активізація процесів ремоделювання лише в зоні навколо простезу, в той час, як процеси перебудови інших відділів кістки залишаються на вихідному рівні.

Ширина одиниць ремоделювання в періімплантаційній зоні перевищує контроль та становить  $211,4 \pm 1,6$  мкм ( $p=0.001$ ), в той час як в діяфізі та проксимальному епіфізі вона становить  $175,6 \pm 3,2$  мкм та  $227 \pm 11,4$  мкм, що не перевищує контрольні показники. Діаметр остеонів та їх каналів становить  $53,8 \pm 0,43$  мкм та  $22,1 \pm 0,29$  мкм відповідно. Товщина трабекул губчастої речовини в періімплантаційній зоні є меншою за контроль і дорівнює в середньому  $131,5 \pm 2,7$  мкм, в дистальному епіфізі – становить  $178,5 \pm 1,7$  мкм, що не перевищує контрольні показники.

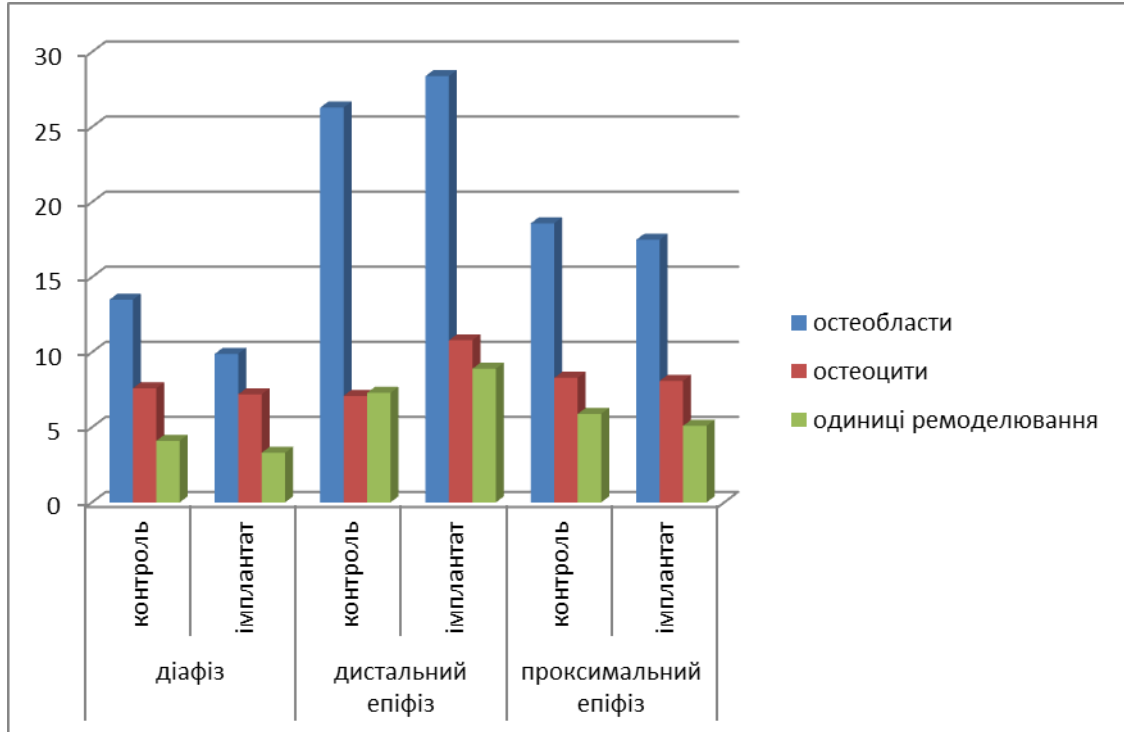


Рисунок 4.52 - Показники морфометрії різних ділянок стегнової кістки кролів через місяць після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву з гідроксипатитним покриттям.

Растрова електронна мікроскопія поверхні періімплантаційної зони через місяць після операції свідчить про формування кісткової тканини на межі з низькомодульним титан-цирконієвим простезом (рис. 4.53). Гідроксиапатитне покриття забезпечує формування тісних зв'язків між поверхнею імплантату та новоутвореною кістковою тканиною. На препаратах можливо розрізники грубоволокнисту кісткову тканину, яка залишається лише в міжгвинтових просторах та пластинчасту, що формує кісткові трабекули. Останні мають чисельні анастомози з поверхнею імплантату та з «материнською» кісткою. Енергодисперсійний аналіз показав зменшення рівню кальцію та фосфору на поверхні трабекул, що становить відповідно  $27,7\pm 0,54$  ваг% та  $20,4\pm 0,17$  ваг%. В тканині навколо імплантату виявляється титан у кількості  $0,2\pm 0,05$  ваг%, походження якого можна пояснити міграцією з поверхні простезу. Цирконій, який входить до складу імплантату, в кістковій тканині не виявляється.

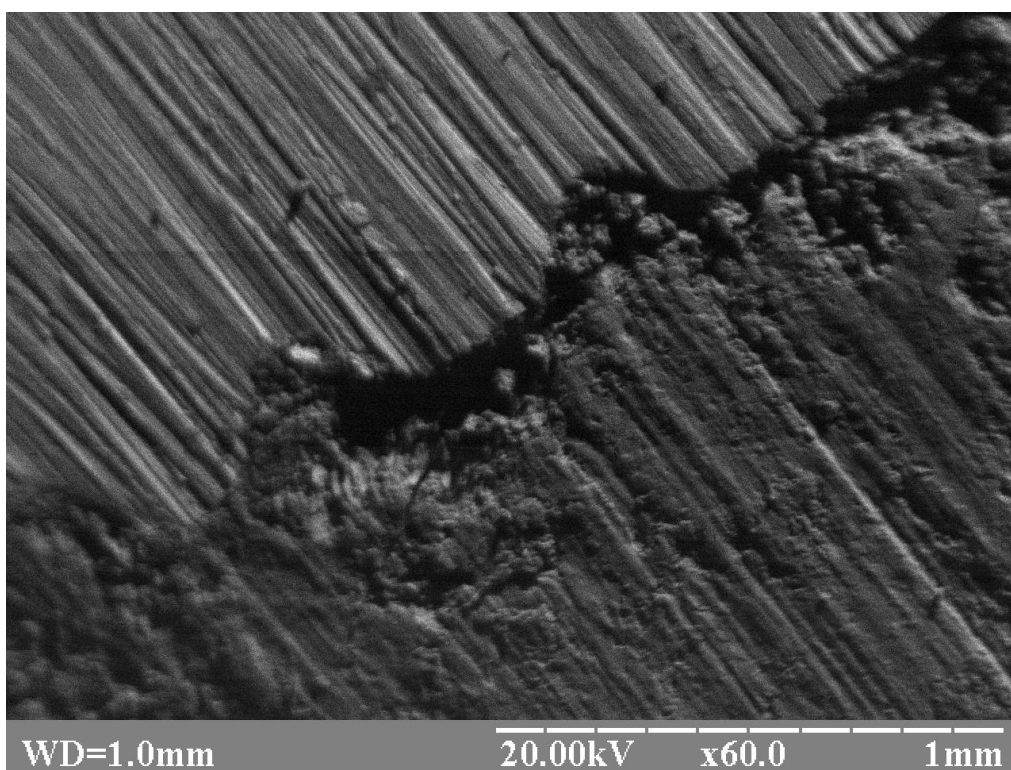


Рисунок 4.53 - Растрова електронна мікроскопія ділянки кістки навколо імплантату через 6 місяців після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву з гідроксиапатитним покриттям. Зб. X60.

Кісткова речовина діяфізу та проксимального епіфізу не відрізняється від контролю при дослідженні за допомогою растрової електронної мікроскопії. В діяфізі візуалізуються кісткові пластини, що формують остеони та шари зовнішніх та внутрішніх генеральних пластинок. Губчаста речовина епіфізу представлена кістковими балочками, в товщі яких розміщуються остецити. Енергодисперсійний аналіз показав наявність кальцію та фосфору в концентраціях, які характерні для інтактних тварин та перевищують контрольні показники (рис. 4.54). Так, вміст кальцію в діяфізі становить  $35,8 \pm 0,82$  ваг%, в проксимальному епіфізі –  $34,9 \pm 0,29$  ваг%. Вміст фосфору становить відповідно  $22,6 \pm 0,92$  ваг% та  $20,4 \pm 0,31$  ваг%. Титану та цирконію, що входять до складу імплантату в досліджуваних ділянках виявлено не було. Вміст алюмінію становить відповідно  $0,8 \pm 0,2$  ваг% та  $0,4 \pm 0,1$  ваг%, що достовірно не відрізняється від контролю.

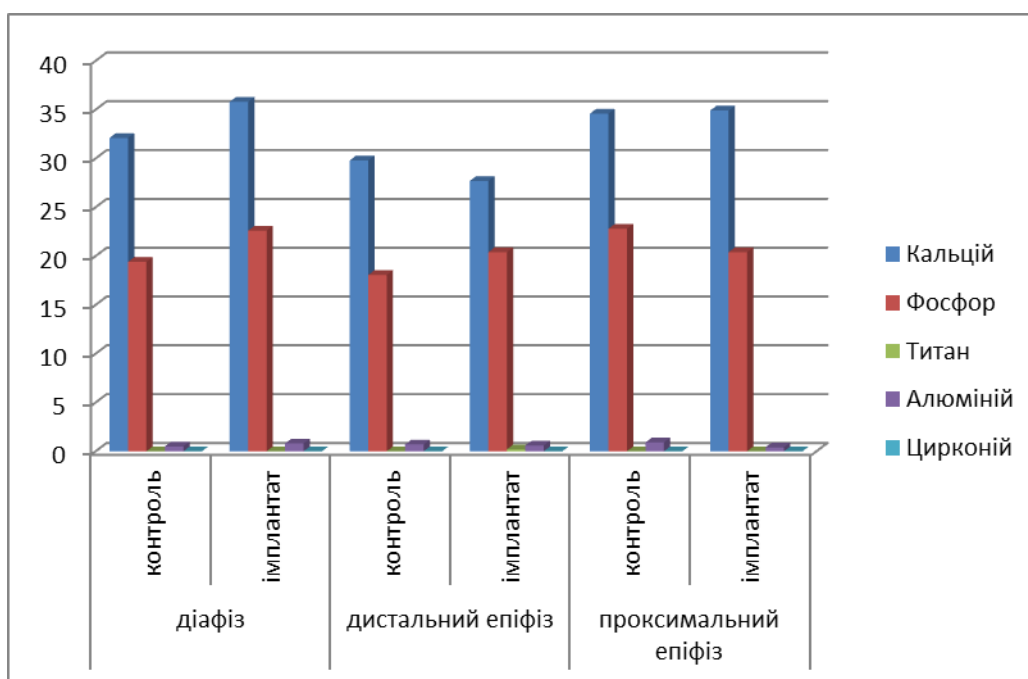


Рисунок 4.54 - Вміст кальцію та фосфору та складових елементів імплантату в різних ділянках стегнової кістки кроля через місяць після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву з гідроксиапатитним покриттям.

Як і у попередній експериментальній серії з використанням титан-цирконієвого без покриття гідроксиапатитом, в даній серії відбувається

зменшення числа твердості кісткової тканини в періімплантаційній зоні (рис. 4.55). Проте значення мікротвердості є найвищим у порівнянні з іншими серіями експерименту та складає  $153,4 \pm 1,8$  кгс/мм<sup>2</sup> ( $p=0.04$ ). Зменшення активності процесів ремоделювання обумовлює незначні зміни числа твердості кісткової тканини діафізу та проксимального епіфізу у порівнянні з інтактними. При цьому показник мікротвердості є достовірно вищим за контроль та складає відповідно  $271,2 \pm 3,6$  кгс/мм<sup>2</sup> ( $p=0.014$ ) та  $199,4 \pm 8,1$  кгс/мм<sup>2</sup> ( $p=0.047$ ).

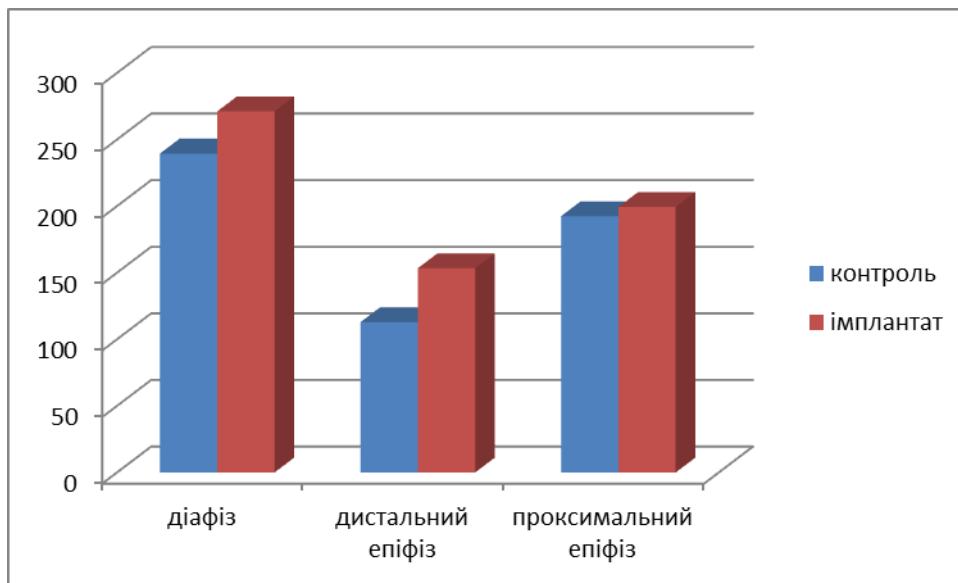


Рисунок 4.55 - Показник мікротвердості різних ділянок стегнової кістки кроля через місяць після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву з гідроксиапатитним покриттям.

Через 3 місяці після операції навколо імплантату утворюється повноцінна кісткова тканина, яка складається з типових трабекул. На поверхні останніх помітні лінії склеювання, як наслідок активних процесів ремоделювання. Мозаїчність забарвлення візуалізується лише на поверхні трабекул, що розташовані навколо простезу, що свідчить про рівномірність кальцифікації основної маси кісткової тканини дистального епіфізу. В періімплантаційній зоні відмічається наявність поодиноких одиниць ремоделювання, кількість яких достовірно менша за контрольні показники.

Зазначені зміни свідчать про завершення активної фази ремоделювання кістки в термін до 3-х місяців після операції.

В діяфізі та проксимальному епіфізі ми не спостерігали наявності морфологічних змін.

Морфометрія гістологічних препаратів свідчить про завершення ремоделювання кістки (рис. 4.56). Щільність остеобластів в періімплантаційній зоні знаходиться на рівні  $15,8 \pm 0,2$  клітин на  $\text{мм}^2$ , що достовірно менше за контроль, проте все ще перевищує показники інтактних тварин. В діяфізі та проксимальному епіфізі кількість активних клітин кісткової тканини зменшується у порівнянні з попереднім терміном спостереження та становить відповідно  $8,0 \pm 0,33$  ( $p=0.008$ ) та  $12,6 \pm 0,29$  клітин на  $\text{мм}^2$  ( $p=0.044$ ). Кількість остеоцитів становить від  $7,1 \pm 0,2$  клітин на  $\text{мм}^2$  в діяфізі до  $8,7 \pm 0,42$  клітин на  $\text{мм}^2$  – в дистальному епіфізі, що відповідає даним контрольної серії.

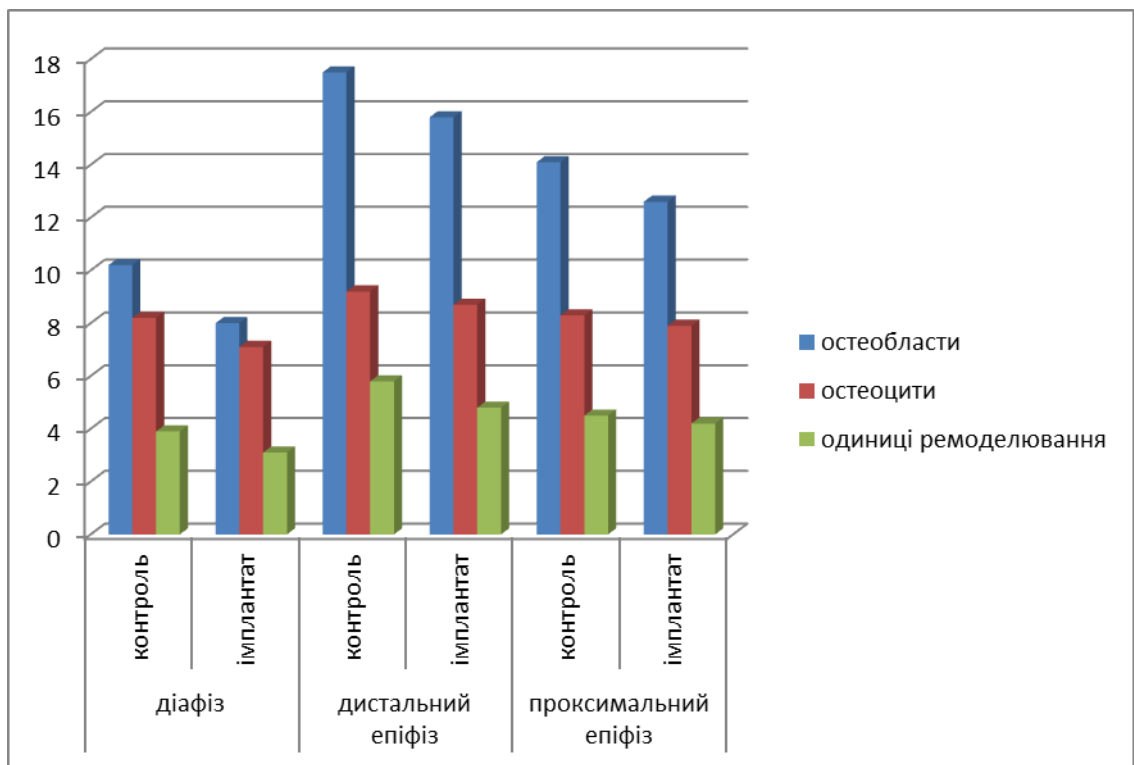


Рисунок 4.56 - Показники морфометрії різних ділянок стегнової кістки кролів через 3 місяці після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву з гідроксиапатитним покриттям.

Кількість одиниць ремоделювання достовірно зменшується у порівнянні з попереднім терміном спостереження в дистальному та проксимальному епіфізі і є сталою в кістковій речовині діафізу. При цьому, щільність кісткових багатоклітинних одиниць в періімплантаційній зоні є достовірно меншою у порівнянні з контролем. Ширина кісткових одиниць ремоделювання та показники морфометрії діафізу та епіфізів достовірно не відрізняється від контролю.

Растрова електронна мікроскопія виявила формування пластинчастої кісткової тканини навколо імплантату складу  $\beta$  (Ti-Zr). Останній щільно фіксований всередині кісткової тканини, помітні чисельні зв'язки між імплантатом та кісткою. Щільна фіксація обумовлює менш виражений вплив імплантату на оточуючі тканини, зменшення втрати кісткової тканини, та як наслідок – відсутність післяімплантаційних ускладнень. В діафізі та проксимальному епіфізі ми не виявили суттєвих відмінностей будови тканини від контрольної та інтактною серії тварин. Характерною особливістю є відсутність мікротріщин, що можливо є свідченням відсутності ефекту стресового зміщення при імплантації низькомодульного титин-цирконієвого сплаву.

Зменшення активності ремоделювання кістки обумовлює відсутність втрати основних елементів – кальцію та фосфору (рис. 4.57). Їх кількість суттєво зростає в тканині періімплантаційної зони – до  $34,7 \pm 0,62$  ваг% та  $22,1 \pm 0,37$  ваг% відповідно. В діафізі та проксимальному епіфізі вміст кальцію та фосфору майже не змінюється у порівнянні з попереднім терміном спостереження та становить відповідно  $36,5 \pm 1,33$  ваг% та  $23,8 \pm 0,49$  ваг% і  $37,2 \pm 0,56$  ваг% та  $21,8 \pm 0,99$  ваг%. Рівень титану в періімплантаційній зоні зростає до  $0,4 \pm 0,11$  ваг%, з'являється цирконій у концентрації  $0,3 \pm 0,09$  ваг%. Зазначені елементи повністю відсутні в діафізі та проксимальному епіфізі, на відміну від тварин попередньої серії у яких метали визначались з 3-го місяця спостереження. Таким чином, стимуляція утворення кісткової

тканини та зменшення активності процесів ремоделювання запобігають ерозії імплантату та міграції його складових.

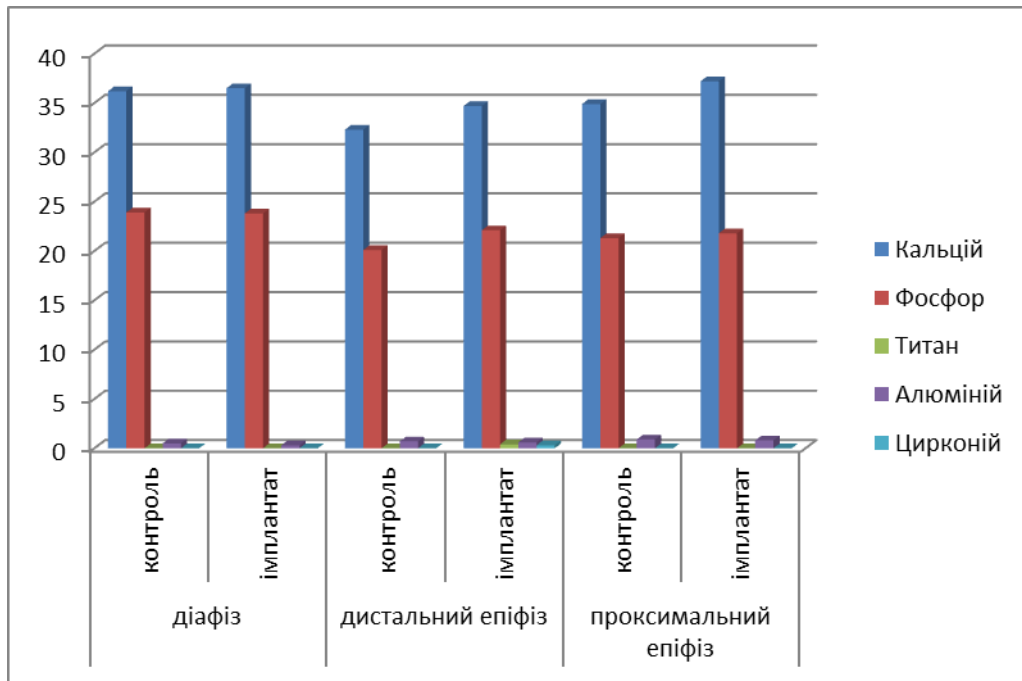


Рисунок 4.57 - Вміст кальцію та фосфору та складових елементів імплантату в різних ділянках стегнової кістки кроля через 3 місяці після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву з гідроксиапатитним покриттям.

Число твердості кісткової тканини в періімплантаційній зоні зростає до  $185,9 \pm 2,5$  кгс/мм<sup>2</sup>, що є значно перевищує контроль, проте є дещо меншим за показники інтактних тварин. Мікротвердість речовини діафізу становить  $283,9 \pm 4,5$  кгс/мм<sup>2</sup>, що відповідає інтактним показникам, проксимального епіфізу –  $193,6 \pm 7,2$  кгс/мм<sup>2</sup>, що незначно відрізняється від норми.

Через 6 місяців після операції періімплантаційна зона представлена типовою губчастою речовиною звичайної будови. Кісткові трабекули без ознак активного ремоделювання, інтенсивно та рівномірно забарвлені. В міжтрабекулярних просторах розміщений червоний кістковий мозок. В безпосередній близькості від імплантату трабекули формують більш густу сітку. Гістологічні препарати діафізу та проксимального епіфізу мають типову будову, яка відповідає інтактним тваринам. Загалом, через пів-року

після імплантації ми не виявили структурних особливостей в усіх досліджуваних ділянках кістки.

Морфометричні дослідження також свідчать про завершення ремоделювання на більш ранніх термінах. Кількість остеобластів відповідає контрольній та інтактній серіям і становить в дистальному епіфізі  $12,6 \pm 0,25$  клітин на  $\text{мм}^2$ , в діафізі  $7,8 \pm 0,42$  та в проксимальному епіфізі –  $13,0 \pm 0,6$  клітин на  $\text{мм}^2$ . Щільність остеоцитів становить від  $6,5 \pm 0,71$  до  $7,5 \pm 0,5$  клітин на  $\text{мм}^2$ . Щільність одиниць ремоделювання на одиницю площі кісткової тканини відповідає контролю та інтактним тваринам і становить відповідно ділянок дослідження  $4,9 \pm 0,3$ ,  $2,3 \pm 0,15$  та  $4,2 \pm 0,52$  од/ $\text{мм}^2$ . Як і у попередній термін спостереження, ширина одиниць ремоделювання, поперечні розміри остеонів і їх каналів та товщина трабекул відповідають даним контролю.

Растрова електронна мікроскопія ділянок стегнової кістки через 6 місяців після операції не відрізняється від результатів попереднього терміну спостереження. Імплантат щільно зв'язаний з новоутвореною кістковою тканиною, в губчастій речовині діафізу та проксимальному епіфізі відсутні мікротріщини та мікропереломи кісткових трабекул та пластинок. Енергодисперсійний аналіз показав деяке зростання вмісту кальцію та фосфору у порівнянні з попереднім терміном, що свідчить про подальшу кальцифікацію тканини досліджуваних ділянок. Вміст елементів не відрізняється від контролю та показників інтактних тварин (рис 4.58). Рівень кальцію при цьому становить в дистальному та проксимальному епіфізі  $37,2 \pm 1,4$  ваг% та  $38,5 \pm 0,76$  ваг%, в діафізі –  $38,9 \pm 1,5$  ваг%, вміст фосфору –  $23,8 \pm 0,46$  ваг%,  $24,2 \pm 0,71$  ваг% та  $24,1 \pm 1,2$  ваг% відповідно. Титан та цирконій, що входять до складу імплантату визначається лише в тканині періімплантаційної зони в концентраціях  $0,6 \pm 0,12$  ваг% та  $0,2 \pm 0,06$  ваг%, що не перевищує дані попереднього терміну спостереження.

Мікротвердість кісткової тканини становить в діафізі  $281,7 \pm 3,6$  кгс/ $\text{мм}^2$ , в дистальному та проксимальному епіфізі –  $191,5 \pm 2,7$  та  $209,4 \pm 9,2$  ваг% відповідно. Достовірна різниця з показниками інтактних тварин



спостерігається лише для періімплантаційної зони (рис. 4.59). Проте число твердості в даній ділянці через пів-року після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву з гідроксиапатитним покриттям є найвищим у порівнянні з іншими експериментальними серіями.

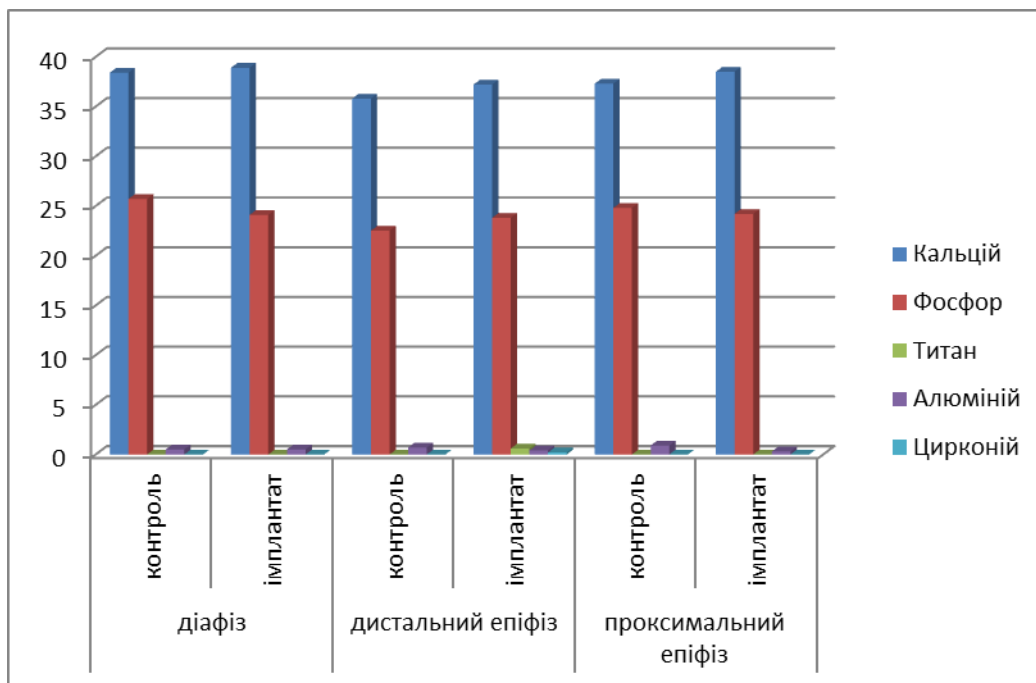


Рисунок 4.58 - Вміст кальцію та фосфору та складових елементів імплантату в різних ділянках стегнової кістки кроля через 6 місяців після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву з гідроксиапатитним покриттям.

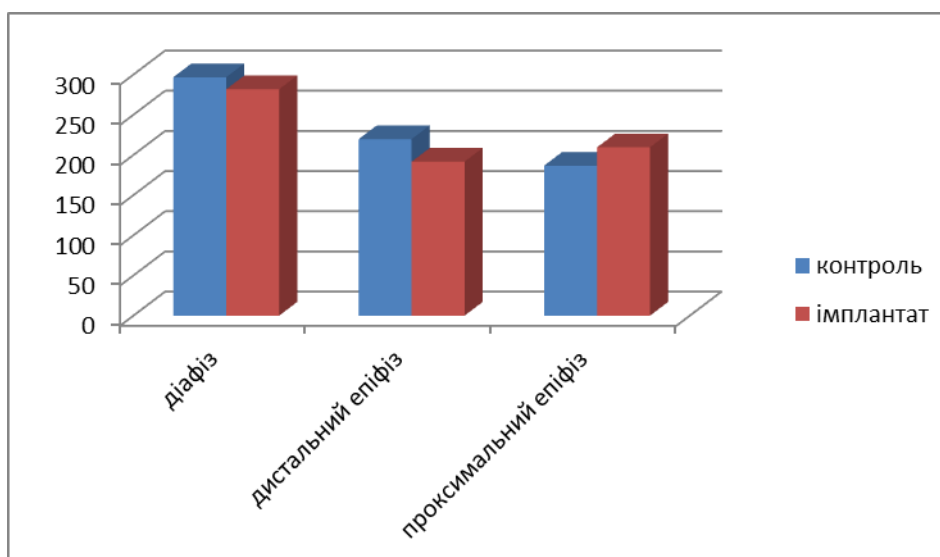


Рисунок 4.59 - Показник мікротвердості різних ділянок стегнової кістки кроля через 6 місяців після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву з гідроксиапатитним покриттям.

Таким чином, формування шару гідроксиапатиту на поверхні  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву призводить до стимуляції адгезії остеобластів на поверхні простезу та формування кісткової тканини навколо імплантату. Враховуючи низький модуль пружності простезу та його задовільну фіксацію всередині кістки, процеси ремоделювання віддалених ділянок є менш інтенсивними ніж у інших експериментальних серій. Зазначені особливості обумовлюють мінімальні зміни будови, хімічного складу та мікротвердості кісткової тканини у віддалені терміни після імплантації.

## РОЗДІЛ 5

### ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.

Головним фактором успішної імплантації є оптимальна остеоінтеграція простезу та збереження якості кісткової тканини у віддалений термін після введення простезу. Термін «остеоінтеграція» вперше був запропонований датським ортопедом Per-Ingvar Branemark у 1950 році для визначення процесів взаємодії металевого імплантату з оточуючою кістковою тканиною [131]. Успішна остеоінтеграція залежить як від якості кісткової тканини, зокрема наявності остеопорозу, вікових змін, хвороб опорно-рухового апарату тощо, так і від якості і виду імплантату [140, 141, 163]. У процесі використання «класичних» матеріалів, зокрема оксиду титану та його сплавів було доведено, що навіть через 17 років, відсоток контакту з кісткою не досягає 70% [107]. Відсоток ускладнень при використанні титанових сплавів досягаю 20% та зростає зі збільшенням терміну експлуатації імплантату [109].

Для вирішення проблеми покращення взаємодії імплантату з кісткою на сьогодні запропоновані чисельні модифікації, зокрема зміна морфології та складу поверхні матеріалу для збільшення адгезії остеогенних клітин та їх проліферації. Для цього використовують покриття імплантату гідроксиапатитом, формування нано- та мікроструктурованої поверхні тощо [97, 111]. Чисельні дослідження довели перевагу модифікованих імплантатів та зменшення ускладнень при їх використанні [117, 165].

Окремою проблемою є розвиток ефекту стресового зміщення в наслідок невідповідності модуля пружності кісткової тканини (до 30 ГПа) та традиційних імплантатів (від 100 ГПа) [40]. В результаті тривалого використання відбувається перерозподіл навантаження навколо імплантату за розвиток ремоделювання кісткової тканини з виникненням змін, характерних для остеопорозу в результаті чого може бути порушена стабільність простезу [4, 41]. Для вирішення цього питання створений низько

модульний сплав  $\beta$ -(Ti-Zr) з модулем пружності до 47 ГПа, що потенційно може зменшити розвиток ефекту стресового зміщення [7].

Іншою проблемою тривалого використання імплантів є їх корозія з вивільненням металів та їх інтеграцією у метаболізм кісткової тканини. Корозія імплантів виникає в результаті взаємодії продуктів кісткових клітин з поверхнею протезу, зокрема кислотна ерозія при вивільненні кислоти фосфатази остеокластами [6, 65].

Не зважаючи на чисельні експериментальні та клінічні дослідження змін кісткової тканини в періімплантаційній зоні при використанні імплантів різного складу, зміни віддалених ділянок кістки майже не вивчались [5, 8, 60, 72].

Тому, для вивчення будови, механічних властивостей та хімічного складу кісткової тканини стегнової кістки після імплантації матеріалів різного складу нами був проведений експеримент на 95 кролях породи «шиншила» віком 4-5 місяців з початковою масою  $3,5 \pm 0,3$  кг. Тварини були поділені на 7 серій – інтактна, контроль та 5 експериментальних серій. Контрольній серії кролів наносили дефект у проксимальному відділі стегнової кістки (на межі діяфізу та дистального епіфізу) діаметром 3,5 мм. Таким чином, дана група тварин використовувалась в якості негативного контролю для вивчення факту травми кістки на морфо-функціональні особливості кістки та порівняння їх з експериментальними групами.

Особинам 3 – 7 серії під наркозом (кетамін 7 мг/кг та тіопентал 10 мг/кг) проводилась операція з постановки зубного імплантату в проксимальний відділ стегнової кістки з навантаженням на імплантат від 30 до 35 Н. В експериментальній серії використовували імплантати наступного складу: Титановий сплав VT-6 (TiVT6); Цирконієвий сплав КТЦ-125; Цирконієвий сплав КТЦ-125 з гідроксиапатитним покриттям;  $\beta$  (Ti-Zr) сплав;  $\beta$  (Ti-Zr) сплав з гідроксиапатитним покриттям ( $\beta$  (Ti-Zr)-ГА).

Тварин всіх груп виводили з експерименту шляхом передозування наркозу у терміни 1, 3 та 6 місяців після операції з метою визначення морфо-

функціональних змін кісткової тканини в ранній та пізній післяопераційний періоди. Тваринам виділяли травмовану стегнову кістку, відсепаровували м'язи та інші м'які тканини та видаляли імплантат. Для дослідження брали три ділянки кістки: проксимальний епіфіз для виявлення змін в періімплантаційній зоні, середину діяфізу та дистальний епіфіз для визначення змін віддалених ділянок органу на імплантацію матеріалу.

Для вивчення особливостей росту, будови, хімічного складу та мікротвердості кісткової тканини використовували методи остеометрії, гістології, гістоморфометрії, визначення мікротвердості та статистичну обробку цифрових даних.

Дірчастий дефект в дистальному відділі кістки не призводить до порушення росту органу в усі терміни спостереження. При цьому відмічається зростання ширини дистального епіфізу через місяць спостереження, що є проявом періостальної реакції та формування кісткового мозолу. У подальшому відбувається зменшення значення показника поперечного росту.

Як видно з графіку (Рис. 5.1), імплантація металевих сплавів призводить до достовірного росту показника ширини дистального епіфізу у порівнянні з контролем. При цьому в процесі експлуатації простезу не відбувається зменшення ширини дистального відділу кістки. Помітно, що введення класичного титанового сплаву викликає найбільш виражену реакцію, проте різниця між видами імплантатів є недостовірною. Звертає також увагу те, що найменші зміни відбуваються при введенні цирконієвого сплаву КТЦ та КТЦ з гідроксиапатитом.

Таким чином, періостальна реакція є універсальною відповіддю на імплантацію металевих сплавів і обумовлена гіперутворенням кісткового матриксу. Постійні механічні стимули від імплантату передаються на клітини окістя, зокрема остеобласти та через каналцеві-лакунарну систему – до остеоцитів [45, 58]. Останні активізують процеси ремоделювання кістки з утворенням надлишкової кількості міжклітинного матриксу [14, 69].

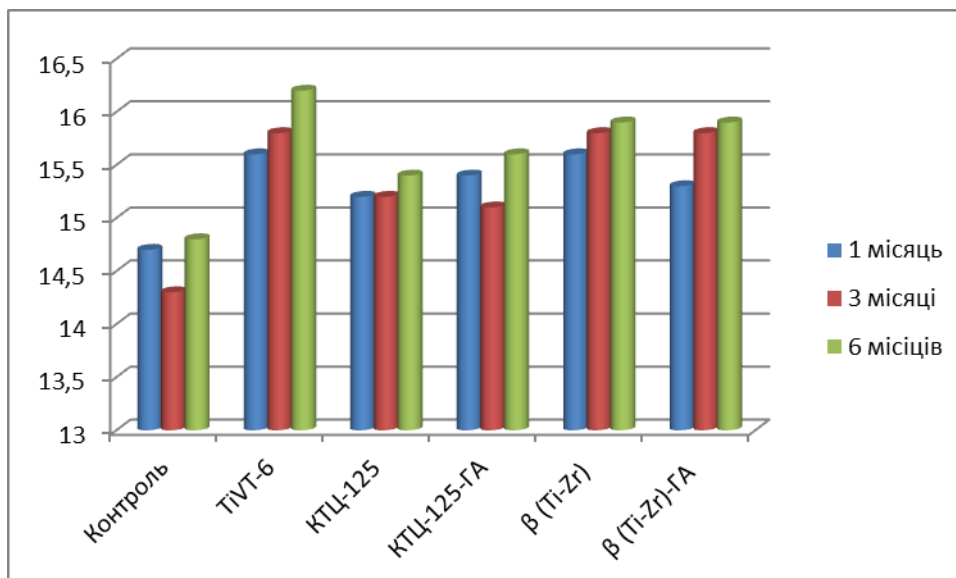


Рисунок 5.1 Динаміка змін ширини дистального епіфізу стегнових кісток тварин контрольної та експериментальної серії в різні терміни спостереження.

Через місяць після нанесення дірчастого дефекту відбувається його заповнення пластинчастою кістковою тканиною, яка формує трабекули губчастої кістки. Трабекули знаходяться на стадії перебудови, яка завершується через 3-6 місяців після травми. При цьому відбувається активізація процесів ремоделювання всієї кістки, що обумовлено з одного боку іммобілізацією кінцівки, а з іншого – наявними біохімічними стимулами, які продукуються в процесі формування кісткової тканини в дефекті [18, 93]. При цьому відбувається зростання кількості одиниць ремоделювання як в діяфізі, так і в проксимальному епіфізі – найбільш віддаленій ділянці від травми. Через 3 місяці спостерігається зменшення активності процесів ремоделювання і через півроку стегнова кістка морфологічно не відрізняється від інтактної.

Через місяць після імплантації металевих протезів без гідроксиапатитного покриття відбувається формування грубоволокнистої кісткової тканини, а також сполучної тканини, що забезпечує розмежування в

системі імплантат-кістка. Навколо імплантатів складу TiVT6 та КТЦ-125 спостерігається наявність значної кількості сполучної тканини, тоді як навколо  $\beta$  (Ti-Zr) – лише її залишки. Кісткова речовина дистального епіфізу навколо імплантатів зазнає масивної перебудови з витонченням кісткових трабекул. Найбільш помітні зміни характеризуються при імплантації TiVT6, найменші – при введенні  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву.

Одночасно з перебудовою періімплантаційної зони відбуваються зміни гістологічної будови діяфізу та проксимального епіфізу, що характеризуються активацією процесів ремоделювання з переважанням резорбції. Основний механізм активації ремоделювання – це наявність металевго імплантату, який створює градієнт еластичності, що спричиняє до утворення механічних сигналів через лакунарну систему остеоцитів [96, 128].

Навіть через 6 місяців після операції при імплантації сплавів TiVT6 та КТЦ-125 спостерігаються структурні зміни кісткової тканини діяфізу та проксимального епіфізу. В дистальному епіфізі відмічається втрата кісткової тканини, що нагадує остеопоротичні зміни і може бути причиною втрати імплантату та розвитку ускладнень.

Імплантація сплавів з гідроксипатитним покриттям створює сприятливі умови для адгезії та проліферації остеобластів, що доведено чисельними *in-vitro* та *in-vivo* дослідженнями [131, 134, 139, 169, 175]. Через місяць після операції відмічається формування кісткової речовини навколо імплантатів, що забезпечує щільну фіксацію простезу та запобігання його гіпермобільності. Це зменшує кількість та інтенсивність механічних сигналів та як наслідок зменшення перебудови віддалених ділянок кістки. При цьому, при використанні назькомодульного  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву змін будови діяфізу та проксимального епіфізу не спостерігається вже через 3 місяці після операції.

Зважаючи на значну роль в процесах перебудови кістки саме ремоделювання [171], для кількісної оцінки процесу ми використовували показник кількості одиниць ремоделювання на  $1 \text{ мм}^2$ . Як видно з діаграми (рис. 5.2), після нанесення травми відбувається суттєве зростання кількості

багатоклітинних кісткових одиниць в зоні регенерату дистального епіфізу. Через 3 місяці спостерігається зменшення їх кількості, проте відсутність різниці з інтактними тваринами можна констатувати лише через 6 місяців після травми. Введення імплантату призводить до більш активного ремоделювання кісткової речовини дистального епіфізу, про що свідчить достовірне зростання кількості одиниць ремоделювання. При цьому найбільші зміни спостерігаються при введенні імплантатів складу TiVT6 та КТЦ-125. Покриття імплантату складу КТЦ-125 гідроксиапатитом не призводить до зменшення кількості одиниць ремоделювання в усі терміни спостереження. При цьому в серії тварин з використанням сплаву  $\beta$  (Ti-Zr) з гідроксиапатитом відбувається суттєве та достовірне зменшення кількості багатоклітинних кісткових одиниць вже через 3 місяці спостереження.

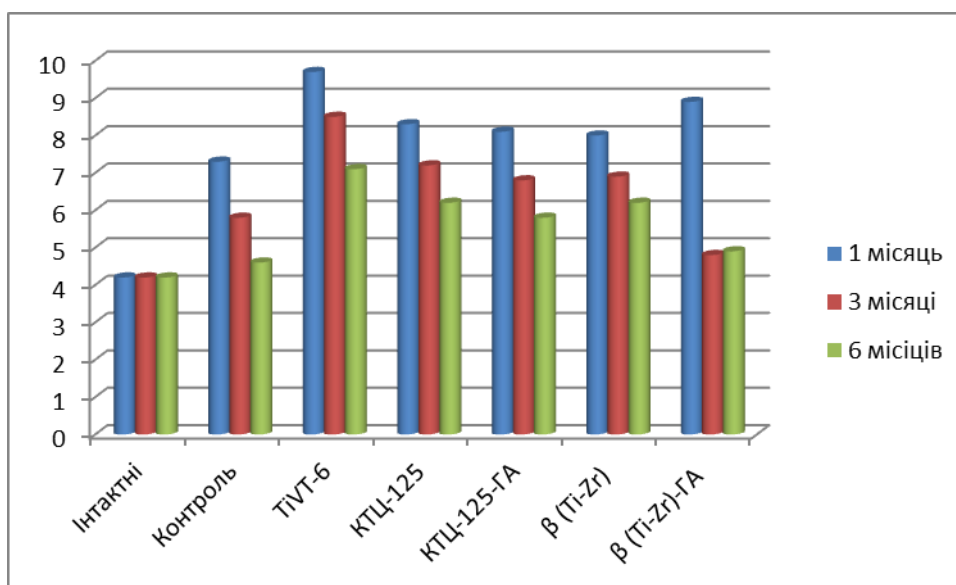


Рисунок 5.2 Динаміка змін кількості одиниць ремоделювання в дистальному епіфізі стегнових кісток тварин інтактною, контрольною та експериментальною серії в різні терміни спостереження.

В проксимальному епіфізі кількість одиниць ремоделювання в контролі перевищує дані інтактних тварин лише в перший місяць спостереження, що свідчить про короткострокові зміни метаболізму органу при травмі. Імплантація сплаву TiVT6 призводить до значного зростання кількості одиниць ремоделювання через місяць та їх збільшення через 3 місяці і деяке



зменшення їх кількості лише через півроку. При цьому спостерігається достовірні різниця як з контролем, так і з показниками інтактних тварин. Всіх інших експериментальних серіях максимальне зростання кількості одиниць ремоделювання спостерігається через 1 місяць після операції, а у тварин з імплантованими сплавами  $\beta$  (Ti-Zr) та  $\beta$  (Ti-Zr)-ГА відсутня різниця з контролем вже через 3 місяці (рис. 5.3).

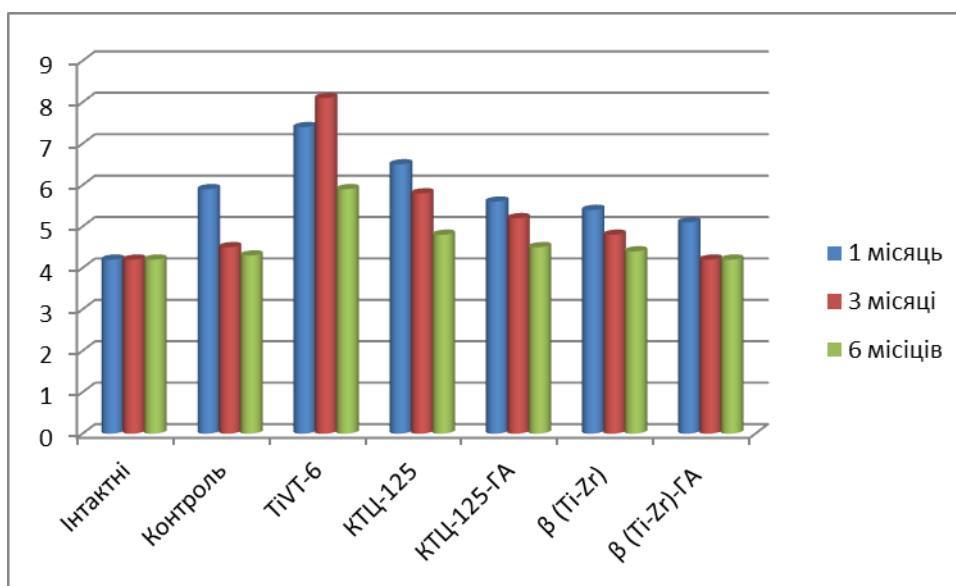


Рисунок 5.3 Динаміка змін кількості одиниць ремоделювання в проксимальному епіфізі стегнових кісток тварин інтактної, контрольної та експериментальної серії в різні терміни спостереження.

Кількість конусів ремоделювання в діяфізі тварин контрольної серії перевищує інтактні показники через 1 та 3 місяці спостереження. Це обумовлено більш тривалим циклом ремоделювання кортикальної кістки у порівнянні з губчастою речовиною діяфізу [188]. Більш тривала фаза ремоделювання компактною речовиною діяфізу обумовлює достовірні зміни в терміни 1 та 3 місяці після імплантації в усіх експериментальних серіях. Звертає на себе увагу, що матеріали, які вкриті гідроксиапатитом, викликають меншу відповідь з боку компактною речовиною діяфізу (рис. 5.3). При імплантації сплаву  $\beta$  (Ti-Zr) та  $\beta$  (Ti-Zr) з ГА через 6 місяців спостереження не спостерігається різниці з інтактними та контрольними тваринами. Низький модуль пружності сплаву та адекватна клітинна

відповідь в процесі остеointegraції забезпечують мінімальний вплив сплаву на будову і функцію кісткової тканини травмованого органу.

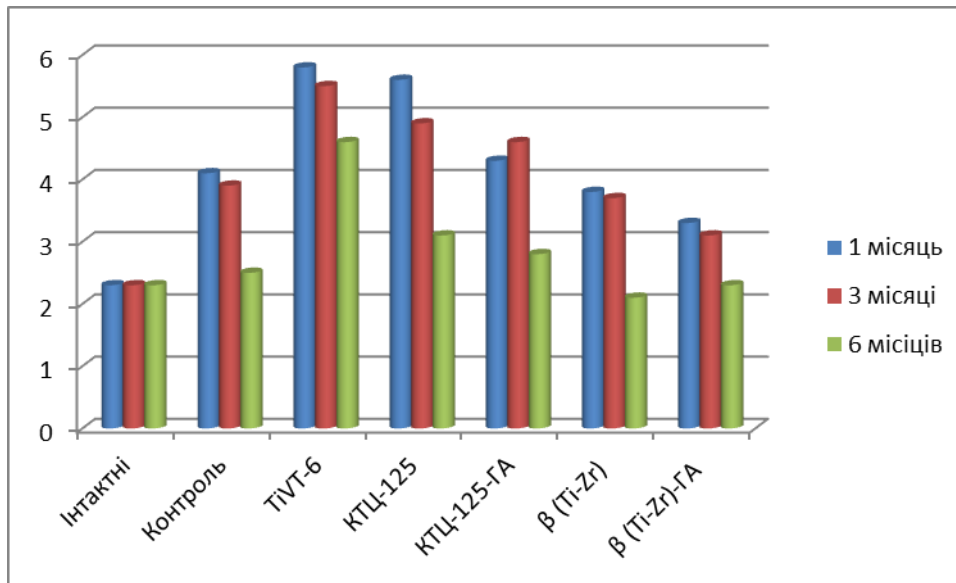


Рисунок 5.4 Динаміка змін кількості одиниць ремоделювання в діяфізі стегнових кісток тварин інтактної, контрольної та експериментальної серії в різні терміни спостереження.

Растрова електронна мікроскопія ділянок стегнової кістки в різні терміни після формування дірчастого дефекту також свідчить про активізацію процесів ремоделювання, що виявляється у витонченні трабекул губчастої речовини, втрата кальцію та фосфору як в зоні дефекту, так і на віддалених ділянках. Через 6 місяців після травми відбувається відновлення будови та хімічного складу всіх досліджуваних ділянок. Подібні результати були отримані на різних тваринних моделях, таких як щурі та собаки. Проте, за даними деяких авторів у деяких випадках фаза закінчення ремоделювання кісткової тканини може тривати до 1,5 року у великих тварин, таких як собаки [180]. У людини повне відновлення будови та функції тканини після травми залежить від вихідного стану кістки, фізичної активності, виду перелому та супутніх захворювань та триває від 6 до 24 місяців [181, 186].

Растрова електронна мікроскопія періімплантаційної зони свідчить про формування немінералізованої сполучнотканинної капсули навколо сплавів TiVT6 та КТЦ-125 через місяць після травми. Навколо сплаву КТЦ-125 з ГА

спостерігається лише залишок сполучної тканини та формування грубоволокнистої низькомінералізованої кісткової тканини навколо імплантату. Імплантація чистого низькомодульного титан-цирконієвого сплаву та з гідроксиапатитним покриттям стимулює розвиток кісткової тканини навколо простезу в ранні терміни після травми.

Характерною морфологічною особливістю періімплантаційної зони та віддалених ділянок кістки після імплантації металевих простезів є формування мікротріщин та мікропереломів. Мікротріщина визначається як дефект кісткової тканини в межах трабекули губчастої речовини чи пластинки компактної кістки. Розповсюдження дефекту за межі даних анатомічних утворень характеризується як мікроперелом і свідчить про глибокі порушення функції кістки. В нормі, механізми ремоделювання компенсують розвиток мікроструктурних дефектів, проте в умовах надлишкового навантаження або порушення процесів відновлення кісткового матриксу відбувається розвиток мікропереломів [127, 164]. Критична кількість мікроструктурних дефектів кістки може призвести до повноцінного перелому навіть при допороговому навантаженні [126]. Імплантація високомодульних сплавів утворює градієнт міцності в системі імплантат-кістка, що призводить до утворення значної кількості мікротріщин та подальших руйнування кісткової тканини [111]. Нестабільність імплантату підсилює даний ефект [108].

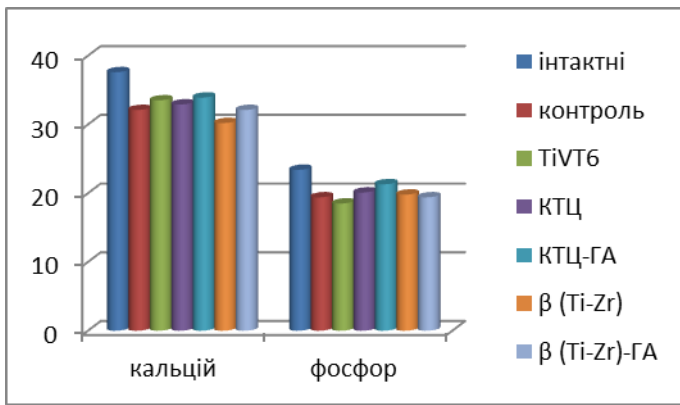
В нашому експерименті спостерігається розвиток мікротріщин вже через місяць після імплантації сплаву TiVT6, який має найбільший модуль пружності. При імплантації сплаву КТЦ-125 утворення мікроструктурних дефектів відбувається на 3-му місяці після операції, що свідчить про більшу відповідність механічних параметрів сплаву кістковій тканині. Застосування гідроксиапатитного покриття створює умови для формування кісткової тканини навколо простезу і як наслідок цього – кращу фіксацію імплантату. Це зменшує кількість та інтенсивність механічних сигналів в процесі навантаження кінцівки і зменшує активність ремоделювання у порівнянні з

«чистими» сплавами. Не зважаючи на це, ефект стресового зміщення присутній і при використанні гідроксиапатитного покриття сплаву КТЦ, що виявляється у формуванні мікротріщин трабекул та кісткових пластинок навіть у віддалених ділянках кістки.

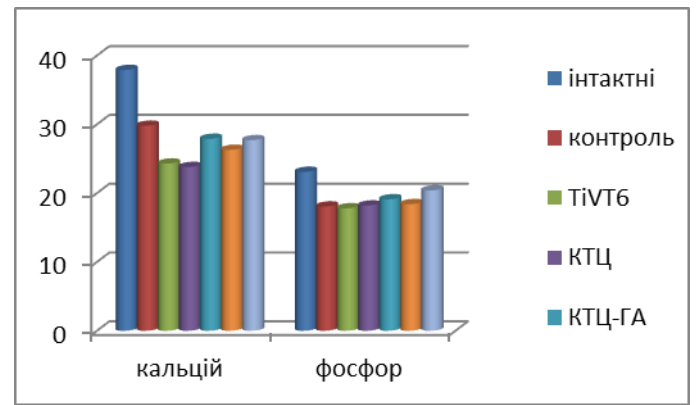
$\beta$  (Ti-Zr), на відміну від попередніх має найменший модуль пружності, який наближається до кісткової тканини. Тому імплантація даного сплаву призводить лише до появи мікротріщин в періімплантаційній зоні через півроку після операції. Нанесення гідроксиапатитного покриття покращує інтеграцію імплантату та зменшує кількість мікротріщин, які візуалізуються лише в деяких препаратах в періімплантаційній зоні.

Растрова електронна мікроскопія виявила зменшення кальцію та фосфору в усіх ділянках стегнової кістки після формування дірчастого дефекту. Як видно з малюнка 5.5, найбільші зміни спостерігаються в дистальному епіфізі за рахунок утворення нової кісткової тканини. Остання має меншу ступінь мінералізації, яка досягає рівня інтактних тварин лише через півроку. В інших відділах кістки різниця з інтактними тваринами є менш значимою.

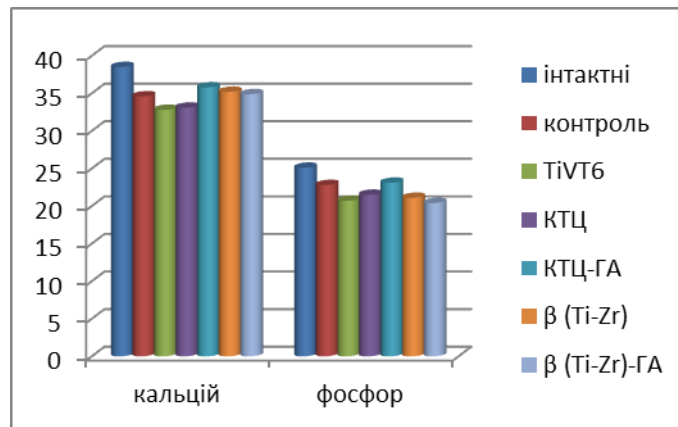
При імплантації металевих протезів відбувається достовірне зменшення вмісту кальцію в усіх серіях. При цьому рівень фосфору майже не змінюється. Найбільш значиме зменшення основного елементу кісткової тканин відбувається в періімплантаційній зоні, найменше – в проксимальному епіфізі. Рівень зменшення вмісту кальцію є майже однаковим в усіх експериментальних серіях. Проте, при використанні протезів з гідроксиапатитним покриттям частка втраченого кальцію є меншою у порівнянні з непокритими імплантатами.



А



В



С

Рисунок 5.5 Вміст кальцію та фосфору в діафізі (А), дистальному (В) та проксимальному (С) епіфізах стегнових кісток тварин інтактної, контрольної та експериментальної серії через місяць спостереження.

Через 3 та 6 місяців відбувається відновлення рівню основних елементів кістки, проте в періімплантаційній зоні навколо сплавів TiVT6 та КТЦ-125 спостерігається їх частковий дефіцит. Гістологічні дані свідчать про наявність активного ремоделювання в зоні навколо даних імплантатів, що може бути призводити до дефіциту кальцію та фосфору.

Іншим механізмом зменшення кількості кальцію є його заміщення на іони металів, які входять до складу імплантатів. В експерименті доведено, що починаючи з першого місяця спостереження відмічається поява титану, ванадію, ніобію та цирконію, які входять до складу імплантатів. Вивільнення

металів, за даними літератури відбувається за рахунок процесів електрохімічного розчинення та механічного зносу [92, 109]. Перший процес відбувається за рахунок контакту поверхні сплаву з іонами водню та ферментами, які вивільняються кістковими клітинами [83]. Знос імплантату можливий за умов його недостатньої фіксації та розвитку гіпермобільності [89]. Найбільший відсоток вивільнення металів фіксується при імплантації сплаву TiVT6 та КТЦ-125. При цьому в різних концентрація іони металів фіксуються як в періімплантаційній зоні, так і у віддалених ділянках кістки, що свідчить про їх міграцію в процесі перебудови кісткового матриксу.

Покриття сплаву КТЦ-125 гідроксиапатитом призводить до зменшення його корозії та вивільнення іонів цирконію та ніобію в оточуючі тканини.  $\beta$  (Ti-Zr) сплав є стійкий до корозії і кількість іонів металів в оточуючих тканинах є мінімальною, а використання гідроксиапатитного покриття створює додатковий бар'єр, який попереджає ранню ерозію сплаву.

Активне ремоделювання кісткової тканини в при травмі органу призводить до зменшення числа твердості, що є одним з інтегративних показників якості кісткової тканини. Через місяць після травми відбувається зменшення числа твердості в дистальному епіфізі за рахунок утворення нової низькомінералізованої тканини, яка заповнює зону дефекту. Проте, мікротвердість зменшується і у віддалених ділянках – в середині діафізу та проксимальному епіфізі. Таким чином, якість кісткової тканини після нанесення дірчастого дефекту дещо зменшується за рахунок активної перебудови з переважанням резорбції. Через 3 та 6 місяців відбувається повне відновлення числа твердості в усіх досліджуваних ділянках (рис. 5.6).

Через місяць після імплантації металевих протезів спостерігається зменшення числа твердості кісткової тканин, особливо в періімплантаційній зоні. За рахунок зменшення ефекту стресового зміщення при використанні гідроксиапатитного покриття та використання низькомодульного сплаву число твердості кістки в діафізі в 5 та 7 серії експерименту не зменшується. Через 3 та 6 місяців спостерігається поступове відновлення якості кісткової

тканини, проте відновлення числа твердості в усіх ділянках кістки спостерігається лише при імплантації сплаву  $\beta$  (Ti-Zr) та  $\beta$  (Ti-Zr) з гідроксиапатитним покриттям.

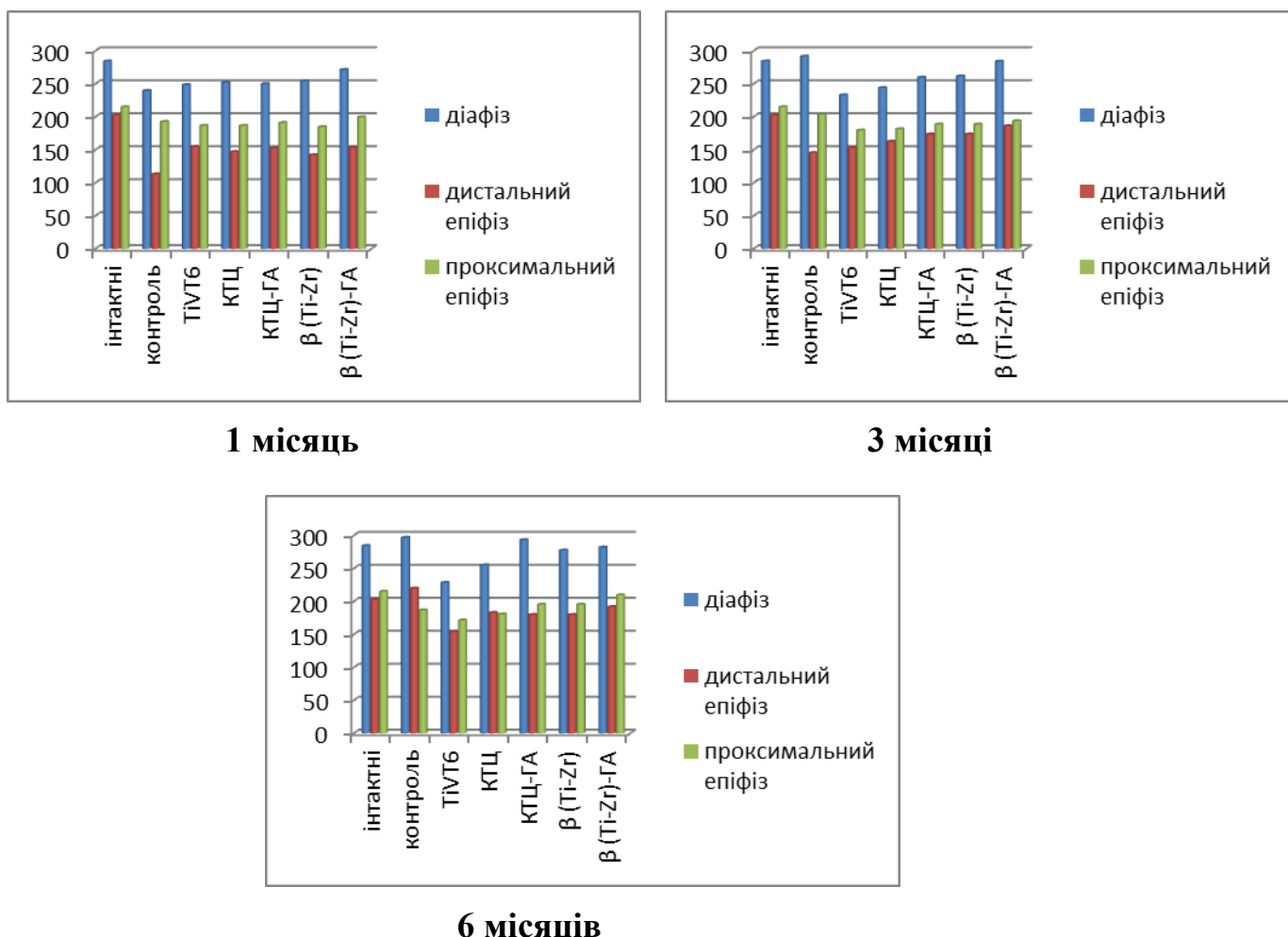


Рисунок 5.6 Число твердості кісткової тканини тварин інтактної, контрольної та експериментальної серії через в різні терміни спостереження.

Таким чином, імплантація металевих протезів в дистальний відділ стегнової кістки призводить до розвитку периостальної реакції, яка обумовлює зміну формоутворення органу та розвитку реакцій, які призводять до зміни метаболізму кісткової тканини. За умов застосування титанових та цирконієвих імплантатів відбувається їх інкапсуляція, що може призвести до гіпермобільності і наступної втрати протезу. Застосування гідроксиапатитного покриття активізує формування кісткової тканини навколо імплантату, що свідчить про оптимізацію процесів остеоінтеграції.

Високий модуль пружності «класичних» імплантатів призводить до розвитку ефекту стресового зміщення і як наслідок – до порушення мікроструктури кісткової тканини у вигляді мікротріщин та мікропереломів і зменшення числа твердості кісткової тканини. Імплантація низькомодульного сплаву  $\beta$  (Ti-Zr) та його модифікація гідроксиапатитом запобігає утворенню мікротріщин та втраті якості кісткової тканини.



## ВИСНОВКИ

У дисертації наведене нове вирішення актуальної медико-біологічної задачі – визначення особливостей будови, біомеханічних параметрів та хімічного складу довгої трубчастої кістки за умов імплантації металевих сплавів різного хімічного складу та з гідроксиапатитним покриттям.

1. Травма кістки спричиняє активацію механізмів, які направлені на відновлення втраченої тканини. Заміщення дефекту кістковою тканиною відбувається в перший місяць після травми, проте якість нової тканини є суттєво нижчою за інтактну кістку, що виявляється в витоншенні трабекул губчастої речовини до 28,98% ( $p=0.008$ ) зменшенні кількості кальцію до 21,38% ( $p=0.041$ ) та фосфору до 23,48% ( $p=0.003$ ) і зниженні мікротвердості на 44,28% ( $p\leq 0.001$ ). Травма дистального відділу стегнової кістки супроводжується активацією процесів ремоделювання усього органу, що також призводить до зниження рівню основних елементів та числа твердості навіть у віддалених ділянках кістки. Відновлення будови, хімічного складу кістки та числа твердості відбувається лише через 6 місяців після нанесення травми.
2. Імплантація в дистальний епіфіз сплаву TiVT6 призводить до утворення грубоволокнистої кісткової тканини навколо простезу, формування поодиноких ділянок сполучної тканини та активації процесів ремоделювання як в періімплантаційній зоні, так на віддаленні. Активність перебудови кістки зберігається в усі терміни спостереження та призводить до зменшення кількості кальцію до 35,89% ( $p=0.02$ ) та фосфору до 24,58% ( $p=0.017$ ) на поверхні кістки а також та зниженню числа твердості до 23,7 % ( $p=0.03$ ) через 3 місяці спостереження. Через 3 та 6 місяців після імплантації спостерігається наявність ознак ефекту стресового зміщення у

вигляді мікротріщин та мікропереломів в усіх досліджуваних ділянках.

3. Введення простезу зі сплаву КТЦ-125 також призводить до формування поодиноких ділянок сполучної тканини, що дозволяє стверджувати про єдиний механізм реакції кісткової тканини на введення металевих імплантатів. Не зважаючи на формування трабекул пластинчастої кісткової тканини через 3 місяці після операції навколо імплантату, в стегновій кістці спостерігається наявність мікротріщин та мікропереломів і зменшення числа твердості навіть через 6 місяців спостереження від 14,06% ( $p=0.023$ ) до 16,81% ( $p=0.04$ ) в залежності від ділянки кістки.
4. Імплантація в дистальний епіфіз сплаву  $\beta$ -(Ti-Zr), який має низький модуль пружності та стійкий оксидний шар, призводить до формування щільного шару кісткової тканини навколо простезу, що підвищує якість його інтеграції. Зменшення градієнту міцності в системі «імплантат-кісткова тканина» призводить до розвитку мінімальних змін структури, хімічного складу та біомеханічних параметрів кістки в усі терміни спостереження.
5. Використання гідроксиапатиту в якості покриття металевих імплантатів створює оптимальні умови для адгезії клітин на поверхні простезу та стимулює розвиток кісткової тканини, що забезпечує його оптимальну фіксацію. Оптимізація процесів остеоінтеграції призводить до зниження активності процесів ремоделювання, зокрема зменшення кількості одиниць ремоделювання до  $3,3 \pm 0,1$  ( $p=0.042$ ) у порівнянні зі сплавами без покриття, попереджує втрату кальцію та зниження мікротвердості. Гідроксиапатитне покриття  $\beta$ -(Ti-Zr) сплаву забезпечує відсутність ефекту стресового зміщення та розвиток мікроушкоджень кісткової тканини.

6. Елементний склад кістки при імплантації металевих протезів характеризується втратою кальцію та фосфору в усіх відділах кістки. Найбільша різниця з контролем спостерігається при імплантації сплаву TiVT6 – до 35,89% ( $p=0.0082$ ) та 24,58% ( $p=0.017$ ) відповідно та зберігається до кінця спостереження. Активація кісткових клітин навколо імплантату призводить до його електрохімічної ерозії з вивільненням іонів, які виявляються як в періімплантаційній зоні, так і у віддалених ділянках кістки у кількості від 0,4 до 2,7 ваг%. Покриття імплантату гідроксиапатитом зменшує втрати кальцію до 7,5% ( $p=0.045$ ) та знижує вивільнення складових елементів імплантату у навколишні тканини і їх міграцію у віддалені ділянки органу.

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Отримані експериментальні дані доповнюють та узагальнюють знання з питань росту, будови, хімічного складу та біомеханіки інтактною та травмованою кісткою і можуть бути використані при вивченні відповідних розділів анатомії, гістології, травматології та ортопедії, стоматології.
2. Виявлені особливості перебудови кісткової тканини при імплантації металевих протезів можуть бути використані як морфологічна основа вибору типу імплантату в клініках стоматології, протезування та щелепно-лицевої хірургії.
3. Дані, щодо мінімальних змін при застосуванні  $\beta$ -(Ti-Zr) сплаву можуть бути використані при розробці дентальних імплантатів з низьким модулем пружності для запобігання ефекту стресового зміщення та зменшення відсотку пізніх післяопераційних ускладнень.

## ЛІТЕРАТУРА

1. A combined metallurgical and histological study of tissue-prosthesis interactions in orthopedic patients / D. F. Williams, G. Meachim // *Biomed. Mater. Res.* – 1974. – V. 8. – P. 1-9.
2. A prospective comparison of butel and PCA hip arthroplasty / S.A. Jaconsson, K. Djerf, J. Gillquist et al. // *Bone and Joint Surg. Br.* – 1993. – V. 75. – P. 624-629.
3. A scrutiny of matrix metalloproteinases in osteoclasts: evidence for heterogeneity and for the presence of MMPs synthesized by other cells / T.L. Andersen, M. del Carmen Ovejero, T. Kirkegaard et al // *Bone*. – 2004. – V. 3. – P. 1107-1119.
4. Advanced biomaterials for skeletal tissue regeneration: Instructive and smart functions / F. Barrère, T.A. Mahmood, K. de Groot et al // *Mater. Sci. Eng. Rep.* – 2008. – V. 59. – P. 38–71.
5. Advancing dental implant surface technology—From micron- to nanotopography / G. Mendonça, D.B.S. Mendonça, F.J.L. Aragço et al. // *Biomaterials*. – 2008. – V. 29. – P. 3822–3835.
6. Albrektsson T. Oral implant surfaces: Part 1—Review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to the / T. Albrektsson, A. Wennerberg // *Int. J. Prosthodont.* – 2004. – V. 17. – P. 536–543.
7. Analysis of a femoral hip prosthesis designed to reduce stress shielding / M.G. Joshi, S.G. Advni, F. Miller, M.H. Santare // *J. Biomechanics*. – 2010. – V. 33. – P. 1655-1662
8. Anderson J.M. Foreign body reaction to biomaterials / J.M. Anderson, A. Rodriguez, D.T. Chang // *Semin. Immunol.* – 2008. – V. 20. – P. 86–100.
9. Anitua E. Plasma rich in growth factors promote gingival tissue regeneration by stimulating fibroblast pro-liferation and migration and by blocking

- transforming growth factor- 1-induced myodifferentiation / E. Anitua, M. Troya, G. Orive // *J Periodontol.* – 2012. – 83. – P. 1028–1037.
10. Anselme K. Osteoblast adhesion on biomaterials / K. Anselme // *Biomaterials.* – 2000. – V. 21. – P. 667–681.
11. Antibacterial coatings on titanium implants / L. Zhao, P.K. Chu, Y. Zhang, Z. Wu // *J. Biomed. Mater. Res. Appl. Biomater.* – 2009. – V. 91. – P. 470–480.
12. Anti-osteoporotic activity of sialoglycoproteins isolated from the eggs of *Carassius auratus* by promoting osteogenesis and increasing RANKL/OPG ratio / Guanghua Xia, Shanshan Wang, Min He // *Journal of Functional Foods.* – 2015. – V. 15. – P. 137-150
13. Assessment of periprosthetic bone loss after total hip arthroplasty / H. Tang, Y. Jiang, X.Z. Luo et al. // *Clin. Med. J.* – 2002. – V. 115. – P. 510-513
14. Autoamplification of NFATc1 expression determines its essential role in bone homeostasis / M. Asagiri, K. Sato, T. Usami et al. // *J Exp Med.* – 2005. – V. 202. – P. 1261-1269.
15. Baron R. Minireview: targeting the Wnt/b-catenin pathway to regulate bone formation in the adult skeleton / R. Baron, G. Rawadi // *Endocrinology.* – 2007. – V. 148. – P. 2635-2643.
16. Bartolozzi A. Chromium concentrations in serum, blood clot and urine from patients following total hip arthroplasty / A. Bartolozzi, J. Black // *Biomaterials.* – 1985. – V. 6. – P. 2-8.
17. Belinha J. The Meshless methods in the bone Tissue Remodelling\_Analysis / J. Belinha, L.M.J.S. Dinis, R.M. Natal Jorge // *Procedia Engineering.* – 2015. – V. 110. – P. 51-58
18. Bilezikian J. Principles of bone biology / J. Bilezikian, L. Raisz, T. Martin // 3rd ed. San Diego: Academic Press; 2008. - 1900 pp.

19. Biocompatibility and osteogenesis of refractory metal implants, titanium, hafnium, niobium, tantalum and rhenium / H. Matsuno, A. Yokoyama, F. Watari et al. // *Biomaterials*. – 2001. – V. 22. – P. 1253–1262.
20. Biomedical applications of polymer-composite materials: A review. / S. Ramakrishna, J. Mayer, E. Wintermantel, K.W. Leong // *Compos. Sci. Technol.* – 2001. – V. 61. – P. 1189–1224.
21. Bone formation at rhBMP-2-coated titanium implants in the rat ectopic model / J. Hall, R.G. Sorensen, J.M. Wozney et al. // *J. Clin. Periodontol.* – 2007. – v. 34. – p. 444–451.
22. Boyce B.F. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling / B.F. Boyce, L. Xing // *Arch Biochem Biophys.* – 2008. – V. 473. – P. 139–146.
23. Boyle W.J. Osteoclast differentiation and activation / W.J. Boyle, W.S. Simonet, D.L. Lacey // *Nature*. – 2003. V. 423. – P. 337-342.
24. Brunski J.B. In vivo bone response to biomechanical loading at the bone/dental-implant interface / J.B. Brunski // *Adv Dent Res.* – 1999. – V. 13. – P. 99–119.
25. Bugbee W.D. Bone remodeling around cementless hip implant / W.D. Bugbee, C.J. Suchterz, C.A. Bugh // *Southern Med. J.* – 1990. – V. 89. – P. 1036-1040.
26. Canonical WNT signalling promotes osteogenesis by directly stimulating RUNX2 gene expression / T. Gaur, C.J. Lengner, H. Hovhannisyan et al. // *J Biol Chem.* – 2005. – V. 280. P. 33132-33140.
27. Carbonic anhydrase type II deficiency / R.J. Bolt, J.M. Wennink, J.I. Verbeke, et al. // *Am J Kidney Dis.* – 2005. – V. 46. – P. e71-73.
28. Ceramic hydroxyapatite implants for the release of bisphosphonate / H. Denissen, E. van Beek, C. Lowik // *Bone Miner.* – 1994. – V. 25. – P. 123–134.

29. Chloride channel CICN7 mutations are responsible for severe recessive, dominant and intermediate osteopetrosis / A. Frattini, A. Pangrazio, L. Susani et al. // *J Bone Miner Res.* – 2003. – V. 18. – P. 1740-1747.
30. CIC-7 requires Ostm1 as a beta-subunit to support bone resorption and lysosomal function / P.F. Lange, L. Wartosch, T.J. Jentsch et al. // *Nature.* – 2006. V. 440. – P. 220-223.
31. Classification of osseointegrated implant surfaces: Materials, chemistry and topography / D.M. Dohan Ehrenfest, P.G. Coelho, B.-S. Kang et al. // *Trends Biotechnol.* – 2010. – V. 28. – P. 198–206.
32. Clevers H. Wnt/b-catenin signalling in development and disease / H. Clevers // *Cell.* – 2006. – V. 127. – P. 469-480.
33. Cobalt, chromium, and nickel concentrations in body fluids of patients with porous-coated knee or hip prostheses / F. W. Sunderman, S. M. Hopfer et al. // *Orthop. Res.* – 1989. – V. 7. – P. 307-315.
34. Commitment and differentiation of osteoclast precursor cells by sequential expression of c-Fms and receptor activator of nuclear kappaB (RANK) receptors / F. Arai, T. Miyamoto, O. Ohneda et al. // *J Exp Med.* – 1999. V. 190. – P. 1741-1754.
35. Control of bisphosphonate release using hydroxyapatite granules / H. Seshima, M. Yoshinari, S. Takemoto et al. // *J. Biomed. Mater. Res. Appl. Biomater.* – 2006. – V. 78. – P. 215–221.
36. Cost-effectiveness of the treatment and prevention of osteoporosis—A review of the literature and a reference model / N. Zethraeus, F. Borgström, O. Ström // *Osteoporos. Int.* – 2007. – V. 18. – P. 9–23.
37. Costimulatory signals mediated by the ITAM motif cooperate with RANKL for bone homeostasis / T. Koga, M. Inui, K. Inoue et al. // *Nature.* – 2004. – V. 428. P. 758-763.
38. Crevice corrosion of cemented titanium alloy stems in total hip replacements / H.-G. Willert L.-G. Broback, G. H. Buchhorn et al. // *Clin. Orthop.* – 1996. – V. 333. – P. 51-75.



39. CTRP3 acts as a negative regulator of osteoclastogenesis through AMPK-c-Fos -NFATc1 signaling in vitro and RANKL-induced calvarial bone destruction in vivo / Ju-Young Kim, Jung-Youl Min, Jong Min Baek et al. // *Bone*. – 2015. – V. 79. – P. 242-251
40. Davies J.E. In vitro modeling of the bone/implant interface / J.E. Davies // *Anat Rec*. – 1996. – V. 245. – P. 426–445.
41. Davies J.E. Mechanisms of endosseous integration / J.E. Davies // *Int J Prosthodont*. – 1998. – V.11 – P. 391-401.
42. Davies J.E. Understanding peri-implant endosseous healing / J.E. Davies // *J Dent Educ*. – 2003. – V. 67. – P. 932–949.
43. De Oliveira P.T. Nanotexturing of titanium-based surfaces upregulates expression of bone sialoprotein and osteopontin by cultured osteogenic cells / P.T. De Oliveira, A. Nanci // *Biomaterials*. – 2004. – V. 25. – P. 403-413.
44. Defects in TCIRG1 subunit of the vacuolar proton pump are responsible for a subset of human autosomal recessive osteopetrosis / A. Frattini, P.J. Orchard, C. Sobacchi et al. // *Nature Genet*. – 2000. – V. 25. – P. 343-346.
45. Del Fattore A. Genetics, pathogenesis and complications of osteopetrosis / A. Del Fattore, A. Cappariello, A. Teti // *Bone*. – 2008. – V. 42. – P. 19-29.
46. Differential effects of eight metal ions on lymphocyte differentiation antigens in vitro / I. Bravo, G. S. Carvalho, M. A. Barbosa et al. // *Biomed. Mater. Res*. – 1990. – V. 24. – P. 1059-1068.
47. Dinda G.P. Pulsed laser deposition of hydroxyapatite thin films on Ti-6Al-4V: Effect of heat treatment on structure and properties / G.P. Dinda, J. Shin, J. Mazumder // *Acta Biomater*. – 2009. – V. 5. – P. 1821–1830.
48. Dudek A. Investigations of microstructure and properties in bioceramic coatings used in medicine / A. Dudek // *Arch. Metall. Mater*. – 2011. – V. 56. – P. 135–140.
49. Endogenous TGF-beta signaling suppresses maturation of osteoblastic mesenchymal cells / S. Maeda, M. Hayashi, S. Komiya et al. // *EMBO J*. – 2004. – V. 23. – P. 552–563.

50. Evaluation of a femoral stem with reduced stiffness a randomized study with use of radiostereometry and bone densitometry / J. Karrholm, C. Anderberg, F. Snorrason et al. // *J. Bone and Joint Surg.* – 2002. – 84. – P. 1651-1658.
51. Evidence for the presence of a proton pump of the vacuolar H(+)-ATPase type in the ruffled borders of osteoclasts / H.K. Väänänen, E.K. Karhukorpi, K. Sundquist et al. // *J Cell Biol.* – 1990. – V. 111. – P. 1305-1311.
52. Ferrara N. The biology of VEGF and its receptors / N. Ferrara, H.P. Gerber, J. LeCouter // *Nat Med.* – 2003. – V. 9. – P. 669–676.
53. Fluoridated hydroxyapatite/carbon nanotubes composite coating fabricated by radio frequency magnetron sputtering / L. Ding, Y. Zheng, Q.B. Wan et al. // *Mater. Sci. Forum.* – 2011. – V. 675–677. – P. 869–871.
54. Friedl P. T cell migration in three-dimensional extra-cellular matrix: guidance by polarity and sensations / P. Friedl, E.B. Bröcker // *Dev Immunol.* – 2000. – V. 7. – P. 249–266.
55. Frost H.M. The Utah paradigm of skeletal physiology: An overview of its insights for bone, cartilage and collagenous tissue organs / H.M. Frost // *J. Bone Miner. Metab.* – 2000. – V. 18. – P. 305–316
56. Functionalization of dental implant surfaces using adhesion molecules / H. Schliephake, D. Scharnweber, M. Dard et al. // *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* – 2005. – V. 73. – P. 88-96
57. Functionally graded hydroxyapatite coatings doped with antibacterial components / X. Bai, K. More, C.M. Rouleau, A. Rabiei // *Acta Biomater.* – 2010. – V. 6. – P. 2264–2273.
58. Glass D.A. Minireview: In vivo analysis of Wnt signalling in bone / D.A. Glass, G. Karsenty // *Endocrinology.* – 2007. – V. 148. – P. 2630-2634.
59. Gorbet M.B. Biomaterial-associated thrombosis: roles of coagulation factors, complement, platelets and leukocytes / M.B. Gorbet, M.V. Sefton // *Biomaterials.* – 2004. – V. 25. – P. 5681–5703.

- 60.Graves D.T. Inflammation and uncoupling as mechanisms of periodontal bone loss / D.T. Graves, J. Li, D.L. Cochran // *J Dent Res.* – 2011. – 90. – P. 143–153.
- 61.Hall B.K. Craniofacial development of avian and rodentembryos / B.K. Hall, T. Miyake // *Methods Mol Biol.* – 2000. – V. 135. – P. 127–137.
62. High bone density due to a mutation in LDL-receptor-related protein 5 / L.M. Boyden, J. Mao, J. Belsky et al. // *New Engl J Medicine.* – 2002. V. 346. – P. 1513-1521.
- 63.High surface energy enhances cell response to titanium substrate microstructure / G. Zhao, Z. Schwartz, M. Wieland et al. // *J Biomed Mater Res A.* – 2005. – V. 74. – P. 49-58.
- 64.Hong M. Laser assisted surface nanopatterning // M. Hong // *Sens Actuators A: Phys.* – 2003. – V. 108. – P. 69–74.
65. Human monocyte/macrophage response to cobalt-chromium corrosion products and titanium particles in patients with total joint replacements / S.-H. Lee, F. R. Brennan, J. J. Jacobs // *Orthop. Res.*, 15:40-49,1997.
- 66.Hypoxia-induced production of stromal cell-derived factor 1 (CXCL12) andvascular endothelial growth factor by synovial fibroblasts / C. Hitchon, K. Wong, G. Ma et al. // *Arthritis Rheum.* – 2002. -46. - 2587–2597.
- 67.Impaired intramembranous bone formation during bone repair in the absence of tumor necrosis factor-alpha signaling / L. Gerstenfeld, T. Cho, T. Kon // *Cells TissuesOrgans.* – 2001. – V. 169. – P. 285–294.
68. In vitro responses to electrosprayed alkaline phosphatase/calcium phosphate composite coatings / L.T. De Jonge, J.J.J.P. van den Beucken, S.C.G. Leeuwenburgh et al. // *Acta Biomater.* – 2009. – V. 5. – P. 2773–2782.
69. Induction and activation of the transcription factor NFATc1 (NFAT2) integrate RANKL signalling for terminal differentiation of osteoclasts / H. Takayanagi, S. Kim, T. Koga et al. // *Dev Cell.* – 2002. – V. 3. – P. 889-901.

70. Inhibition of RANKL-induced osteoclastogenesis by (-)-DHMEQ, a novel NF- $\kappa$ B inhibitor, through downregulation of NFATc1 / H. Takatsuna, M. Asagiri, T. Kubota et al. // *J Bone Miner Res.* – 2005. – V. 20. – P. 653-662.
71. Interaction between LRP5 and Frat1 mediates the activation of the Wnt canonical pathway / E. Hay, C. Faucheu, I. Suc-Royer et al. // *J Biol Chem.* – 2005. – V. 280. – P. 13616-13623.
72. Intra-osseous anchorage of dental prostheses / P.I. Brånemark, U. Breine, R. Adell // I. Experimental studies. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.* – 1969. – V. 3. P. 81–100.
73. Involvement of PLEKHM1 in osteoclastic vesicular transport and osteopetrosis in incisors absent rats and humans / L. Van Wesenbeeck, P.R. Odgren, F.P. Coxon et al. // *J Clin Invest.* – 2007. – V. 117. – P. 919-930.
74. Involvement of PU.1 in NFATc1 promoter function in osteoclast development / Kentaro Ishiyama, Takuya Yashiro, Nobuhiro Nakano et al. // *Allergology International.* – 2015. – V. 64 (3). – P. 241-247
75. John C.W. Predicting clinical biological responses to dental materials / C.W. John // *Dent. Mater.* – 2012. – V. 28. – P. 23–40.
76. Karl O.A. Yu In vitro derivation of macrophage from guinea pig bone marrow with human M-CSF / Karl O.A. Yu, Steven A. Porcelli, Howard A. Shuman // *Journal of Immunological Methods.* – 2015. – V. 389 (1-2). – P. 88-94
77. Karmakar S. Bone damage in rheumatoid arthritis: mechanistic insights and approaches to prevention / S. Karmakar, J. Kay, E.M. Gravallesse // *Rheum Dis Clin North Am.* – 2010. – V. 36. – P. 385–404.
78. Katti K.S. Biomaterials in total hip replacement / K.S. Katti // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* – 2004. – V. 39. – P. 133-142
79. Ko H.C.H. Engineering thick tissues—the vascularisation problem / H.C.H. Ko, B.K. Milthorpe, C.D. McFarland // *Eur Cells Mater.* – 2007. – V. 14. – P. 1–18.

80. Kremen proteins are Dickkopf receptors that regulate Wnt/beta-catenin signalling / B. Mao, W. Wu, G. Davidson et al. // *Nature*. – 2002. – V. 417. – P. 664-667.
81. Kumar Nikhil A pterostilbene derivative suppresses osteoclastogenesis by regulating RANKL-mediated NF $\kappa$ B and MAPK signaling in RAW264.7 cells / Kumar Nikhil, Shruti Sharan, Partha Roy // *Pharmacological Reports*. – 2015. – V. 67 (6). – P. 1264-1272
82. Lamagna C. The bone marrow constitutes a reservoir of pericyte progenitors / C. Lamagna, G. Bergers // *J Leukoc Biol*. – 2006. – V. 80. – P. 677–681.
83. Mandibular bone remodeling induced by dental implant / D. Lin, Q. Li, W. Li, N. Duckmanton, M. Swain // *J Biomech*. – 2010. – V. 43(2). – P. 287-93
84. Mann S. Biomineralization: principles and concepts in bioinorganic materials chemistry / S. Mann // Oxford: Oxford University Press; 2001.p. 89–124.
85. Material fundamentals and clinical performance of plasma-sprayed hydroxyapatite coatings: A review / L. Sun, C.C. Berndt, K.A. Gross, A. Kucuk // *J. Biomed. Mater. Res*. – 2001. – V. 58. – P. 570–592.
86. Measurement of the fatigue life of minidental implants: A pilot study / D. Flanagan, H. Ilies, P. Mc Cullough, S. Mc Quoid // *J. Oral Implantol*. – 2008. – V. 34. – P. 7–11.
87. Mechanics and contraction dynamics of single platelets and implications for clot stiffening / W.A. Lam, O. Chaudhuri, A. Crow et al. // *Nat Mater*. – 2011. – V. 10. – P. 61–66.
88. Mechanosensors in integrin signaling: The emerging role of p130Cas / Radoslav Janoštiak, Andreea Csilla Pataki, Jan Brábek et al. // *European Journal of Cell Biology*. – 2014. – V. 93(10). – P. 445-454
89. Metallosis associated with a stable titanium-alloy femoral component in total hip replacement. A case report / J. Black, H. Sherk, J. Bonini et al. // *J. Bone and Joint Surg*. – 1990. – V. 72-A. – P. 126-130.

90. Migration of corrosion products from modular hip prostheses. Particle microanalysis and histopathological findings / R. M. Urban, J. J. Jacobs, J. L. Gilbert et al. // *Bone and Joint Surg.* – 1994. – V. 76- A. – P. 1345-1359.
91. Missense mutations abolishing DNA binding of the osteoblast-specific transcription factor OSF2/CBFA1 in cleidocranial dysplasia / B. Lee, K. Thirunavukkarasu, L. Zhou et al. // *Nat Genet.* – 1997. – V. 16. – P. 307-310.
92. Mitsuo N. Mechanical properties of biomedical titanium alloys / N. Mitsuo // *Mater. Sci. Eng.* – 1998. – V. 243. – P. 231–236.
93. Nakashima K. Transcriptional mechanisms in osteoblast differentiation and bone formation / K. Nakashima, B. de Crombrughe // *Trends Genet.* – 2003. – V. 19. – P. 458-466.
94. Nanoscale engineering of biomimetic surfaces: cues from the extracellular matrix / K. von der Mark, J. Park, S. Bauer, P. Schmuki // *Cell Tissue Res.* – 2010. – V. 339. – P. 131-153
95. Nanostructured Si, Mg, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>-substituted hydroxyapatite coatings deposited by liquid precursor plasma spraying: Synthesis and characterization / T. Huang, Y. Xiao, S. Wang et al. // *J. Therm. Spray Technol.* – 2011. – V. 20. – P. 829–836.
96. Niinimaki T. A proximal fixed anatomic femoral stem reduces stress shielding / T. Niinimaki, J. Junila, P. Jalovaara // *Intl. Orthodaedics.* – 2001. – V. 25. – P. 85-88
97. Nijhuis, A.W.G. Wet-Chemical deposition of functional coatings for bone implantology / A.W.G. Nijhuis, S.C.G. Leeuwenburgh, J.A. Jansen // *Macromol. Biosci.* – 2010. – V. 10. – P. 1316–1329
98. Nuclear factor of activated T cells (NFAT) rescues osteoclastogenesis in precursors lacking c-Fos / K. Matsuo, D.L. Galson, C. Zhao et al. // *J Biol Chem.* – 2004. – V. 279. – P. 26475-26480.

99. Osseointegration—communication of cells / H. Terheyden, N.P. Lang, S. Bierbaum, B. Stadlinger // *Clin Oral Implants Res.* – 2012. – V. 23. – P. 1127–1135.
100. Osteoclast differentiation independent of the TRANCE-RANK-TRAF6 axis / N. Kim, Y. Kadono, M. Takami et al. // *J Exp Med.* – 2005. – V. 202. – P. 589-595.
101. Osteoclast-poor human osteopetrosis due to mutation in the gene encoding RANKL / C. Sobacchi, A. Frattini, M.M. Guerrini et al. // *Nat Genet.* – 2007. – V. 39. – P. 960-962.
102. Osteoclasts in the interface with electrospun hydroxyapatite / Jenni Pasuri, Jani Holopainen, Hanna Kokkonen et al. // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* – 2015. – V. 135. – P. 774-783
103. Osteoimmunology: interplay between the immune system and bone metabolism / M.C. Walsh, N. Kim, Y. Kadono et al. // *Ann Rev Immunol.* – 2006. – V. 24. – P. 33-63.
104. Osteomorphometry of the bones of the thigh, crus and foot in the New Zealand white rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) / Itopa E Ajayi, James C Shawulu, Tags S Zachariya, Sanusi Ahmed // *Italian journal of anatomy and embryology.* – 2012. – V. 117(3). – P. 125-34.
105. Over-expression of activated NFATc1 plus RANKL rescues the osteoclastogenesis defect of NF- $\kappa$ B p50/p52 double knockout splenocytes / F. Li, K. Matsuo, L. Xing et al. // *J Bone Miner Res.* – 2004. – V. 19. – P. S2.
106. Paital S.R. Calcium phosphate coatings for bio-implant applications: Materials, performance factors, and methodologies / S.R. Paital, N.B. Dahotre // *Mater. Sci. Eng. Rep.* – 2009. – V. 66. – P. 1–70.
107. Pangano M.W. Primary and revision total hip arthroplasty for patient 90 years of age and older / M.W. Pangano, L.A. McLamb, R.T. Trousdale // *Mayo Clin. Proc.* – 2003. – V. 78. – P. 285-288

108. Paul G.P. Strength requirement for internal and external prostheses / G.P. Paul // *J. Biomechanics*. – 1999. – V. 32. – P. 381-393
109. Periimplant osteogenesis in health and osteoporosis / F. Marco, O. Milena, G. Gianluca, O. Vittoria // *Micron*. – 2005. – V. 36. – P. 630–644.
110. Perivascular ancestors of adult multipotent stem cells // M. Corselli, C.W. Chen, M. Crisan // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. – 2010. – V. 30. – P. 1104–1109.
111. Physicochemical investigation of pulsed laser deposited carbonated hydroxyapatite films on titanium / J.V. Rau, A. Generosi, S. Laureti et al. // *ACS Appl. Mater. Interf.* – 2009. – V. 1. – P. 1813–1820.
112. Platelet binding and protein adsorption to titanium and gold after short time exposure to heparinized plasma and whole blood / S. Kanagaraja, I. Lundström, H. Nygren, P. Tengvall // *Biomaterials*. – 1996. – V. 17. – P. 2225–2232.
113. Platelet interactions with calcium-phosphate-coated surfaces / L. Kikuchi, J.Y. Park, C. Victor, J.E. Davies // *Biomaterials*. – 2005. – V. 26. – P. 5285–5295.
114. Platelet-released supernatants increase migration and proliferation, and decrease osteogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells under in vitro conditions / R. Gruber, F. Karreth, D. Kandler et al. // *Platelets*. – 2004. – V. 15. – P. 29–35.
115. Poole K.E.S. Parathyroid hormone—a bone anabolic and catabolic agent / K.E.S. Poole, J. Reeve // *Curr Opin Pharmacol*. – 2005. – 5. – P. 612–617.
116. Primary cilia acts as mechanosensors during bone healing around an implant / P. Leucht, S.D. Monica, S. Temiyasathit et al. // *Medical Engineering & Physics*. – 2013. – V. 35 (3). – P. 392-402
117. Production and characterization of HA and SiHA coatings / Q. Tang, R. Brooks, N. Rushton et al. // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* – 2010. – V. 21. – P. 173–181.



118. Prognosis of total hip replacement, update and validation of results from the Swedish National hip arthroplasty registry 1979-1998 / H. Malchau, P. Herberts, P. Soderman, A. Oden // Proceedings of the Scientific Exhibition Presented at the 67<sup>th</sup> Annual Meetings of the American Academy of Orthopaedic Surgeons. - 2000
119. Puleo D.A. Understanding and controlling the bone–implant interface / D.A. Puleo, A. Nanci // Biomaterials. – 1999. – V. 20. – P. 2311–2321.
120. Rahman A. Functionally graded cellular metal alloys for joint implants. / A. Rahman, M. Mahamid // Proceedings of the 15<sup>th</sup> ASCE Engineering Mechanics Conference, Columbia University, New York. - 2002
121. RANKL maintains bone homeostasis through c-Fos dependent induction of interferon- $\beta$  / H. Takayanagi, S. Kim, K. Matsuo et al. // Nature. - 2002. – V. 416. – P. 744-749.
122. RANK-mediated amplification of TRAF6 signaling leads to NFATc1 induction during osteoclastogenesis / Gohda J, Akiyama T, Koga T, et al. // EMBO J. – 2005. – V. 24. – P. 790-799.
123. Rawadi G. Wnt signalling pathways: a new target for the treatment of osteoporosis / G. Rawadi, S. Roman-Roman // Exp Opin Ther Targets. – 2005. V. 9. – P. 1063-1077.
124. Regulation of osteoblastogenesis and bone mass by Wnt 10b / C.N. Bennett, K.A. Longo, W.S. Wright et al. // Proc Natl Acad Sci USA.- 2005. –V. 102. – P. 3324-3329.
125. Regulatory mechanism of osteoclastogenesis by RANKL and Wnt signals / N. Takahashi, K. Maeda, A. Ishihara et al. // Front Biosci. - 2011. – V. 16. – P. 21–30.
126. Rho J.Y. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone / J.Y. Rho, L. Kuhn-Spearing, P. Zioupos // Med Eng Phys. – 1998. – V. 20. – P. 92–102.

127. Robling A.G. Mechanical signaling for bone modeling and remodeling / A.G. Robling, C.H. Turner // *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* – 2009. – V. 19. – P. 319–338.
128. Rosa A.L. Effect of cpTi surface roughness on human bone marrow cell attachment, proliferation, and differentiation / A.L. Rosa, M.M. Beloti // *Braz Dent J.* – 2003 . V. 14. – P. 16-21.
129. Saithna A. The influence of hydroxyapatite coating of external fixator pins on pin loosening and pin track infection: A systematic review / A. Saithna // *Injury.* – 2010. – V. 41. – P. 128–132.
130. Sato K. Osteoclast, rheumatoid arthritis and osteoimmunology / K. Sato, H. Takayanagi // *Curr Opin Rheumatol.* – 2006. – V. 18. – P. 419-426.
131. Schliephake H. Chemical and biological functionalization of titanium for dental implants / H. Schliephake, D. Scharnweber // *J. Mater. Chem.* – 2008. V. 18. – P. 2404–2414.
132. Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation / K.E.S. Poole, R.L. Van Bezooijen, N. Loveridge // *FASEB J.* – 2005. – V. 19. – P. 1842–1844.
133. Segregation of TRAF6-mediated signalling pathways clarifies its role in osteoclastogenesis / N. Kobayashi, Y. Kadono, A. Naito et al. // *EMBO J.* – 2001. – V. 20. – P. 1271-1280.
134. Silver-doped calcium phosphate cements with antimicrobial activity / A. Ewald, D. Hösel, S. Patel et al.// *Acta Biomater.* – 2011. – V. 7. – P. 4064–4070.
135. Sims N.A. Bone remodeling: multiple cellular interactions required for coupling of bone formation and resorption / N.A. Sims, J.H. Gooi // *Semin Cell Dev Biol.* – 2008. – V. 19. – P. 444–451.
136. Six novel missense mutations in the LDL receptor-related proteins (LRP5) gene in different conditions with increased bone density / L. Van Wesenbeeck, E. Cleiren, J. Gram et al. // *Am J Human Genet.* – 2003. – V. 72. – P. 763-771.

137. Solheim E. Growth factors in bone / E. Solheim // *Int. Orthop.* – 1998. – V. 22. – P. 410–416.
138. Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) recruits osteoclast precursors by inducing chemo-taxis, matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) activity, and collagen transmigration / X. Yu, Y. Huang, P. Collin-Osdoby, P. Osdoby // *J Bone Miner Res.* – 2003. – V. 18. – P. 1404–1418.
139. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration / L. Le Guéhennec, A. Soueidan, P. Layrolle, Y. Amouriq // *Dent Mater.* – 2007. – V. 23. – P. 844-854.
140. Takayanagi H. Inflammatory bone destruction and osteoimmunology / H. Takayanagi // *Curr Opin Rheumatol.* – 2006. – V. 18. – P. 419-426.
141. Takayanagi H. Osteoimmunology: shared mechanisms and crosstalk between the immune and bone systems / H. Takayanagi // *Nature.* – 2007. – V. 7. – P. 292-304.
142. Temiyasathit S. Osteocyte primary cilium and its role in bone mechanotransduction / S. Temiyasathit, C.R. Jacobs // *Ann N Y Acad Sci.* – 2010. – V. 1192. – P. 422–428.
143. Tengvall P. Proteins at titanium interfaces. In: Brunette DM, Tengvall P, Textor M, Thomsen P, editors. *Titanium in medicine.* Berlin:Springer-Verlag; 2001. p. 458–483.
144. TGF-beta1-induced migration of bone mesenchymal stem cells couples bone resorption with formation / Y. Tang, X. Wu, W. Lei et al. // *Nat Med.* – 2009. – V. 15. – P. 757–765.
145. The cell biology of osteoclast function / H.K. Väänänen, H. Zhao, M. Mulari, J.M. Halleen // *J Cell Sci.* – 2000. – V. 113(Pt 3). – P. 377–381.
146. The combination of micron and nanotopography by H(2)SO(4)/H(2)O(2) treatment and its effects on osteoblast-specific gene expression of hMSCs / G. Mendonça, D.B. Mendonça, F.J. Aragão, L.F. Cooper // *J Biomed Mater Res A.* – 2010. – V. 94. – P. 169-179

147. The effect of a nanothickness coating on rough titanium substrate in the osteogenic properties of human bone cells / C.C.G. Moura, M.A. Souza, P. Dechichi et al. // *J. Biomed. Mater. Res.* – 2010. – V. 94. – P. 103–111
148. The effect of stem stiffness on femoral bone resorption after canine porous-coated total hip arthroplasty / J.D. Bobyn, A.H. Glassman, H. Goto et al. // *Clin. Orthopaedics.* – 1990. – V. 261. – P. 96-213.
149. The effects of remodeling on the elastic properties of bone / J.L. Katz, H.S. Yoon, S. Lipson et al. // *Calcif Tissue Int.* – 1984. – V. 36(Suppl. 1). – P. S31–36.
150. The influence of nanoscale grooved substrates on osteoblast behavior and extracellular matrix deposition / E. Lamers, X.F. Walboomers, M. Domanski et al. // *Biomaterials.* – 2010. – V. 31. – P. 3307-3316.
151. The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation / K. Nakashima, X. Zhou, G. Kunkel et al. // *Cell.* – 2002. – V. 108. – P. 17-29.
152. The osteocyte / M.L. Knothe Tate, J.R. Adamson, A.E. Tami, T.W. Bauer // *Int J Biochem Cell Biol.* – 2004. – V. 36. – P. 1–8.
153. The osteocyte. In: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA eds. *Principles of bone biology* / P.J. Nijweide, E.H. Burger, J. Klein Nulend et al. // London UK: Academic Press; 1996. P. 115-126.
154. TNF promotes RUNX2 degradation through up-regulation of SMURF1 and SMURF2 in osteoblasts / H. Kaneki, R. Guo, D. Chen et al. // *J Biol Chem.* – 2006. – V. 281. – P. 4326-4333.
155. Transforming growth factor beta1 immobilized adsorptively on Ti6Al4V and collagen type I coated Ti6Al4V maintains its biological activity / U. Fischer, U. Hempel, D. Becker et al. // *Biomaterials.* – 2003. – V. 24. – P. 2631–2641.
156. Tumor necrosis factor- $\alpha$  induces differentiation of and bone resorption by osteoclasts / Y. Azuma, K. Kaji, R. Katogi et al. // *J Biol Chem.* - 2000. – V. 275. – P. 4858-4864.

157. Vestermark M.T. Strontium in the bone-implant interface / M.T. Vestermark // *Dan Med. Bull.* – 2011. – V. 58. – P. B4286.
158. Wahl D.A. Collagen-hydroxyapatite composites for hard tissue repair / D.A. Wahl, J.T. Czernuszka // *Eur. Cell Mater.* – 2006. – V. 11. – P. 43–56.
159. Weiner S. Transient precursor strategy in mineral formation of bone / S. Weiner // *Bone.* – 2006. – V. 39. – P. 431–433.
160. Westendorf J.J. Wnt signalling in osteoblasts and bone diseases / J.J. Westendorf, R.A. Kahler, T.M. Schroeder // *Gene.* – 2004. – V. 341. – P. 19-39.
161. Williams D.F. On the mechanisms of biocompatibility / D.F. Williams // *Biomaterials.* – 2008. – V. 29. – P. 2941–2953.
162. Yang Y. A review on calcium phosphate coatings produced using a sputtering process-an alternative to plasma spraying / Y. Yang, K.H. Kim, J.L. Ong // *Biomaterials.* – 2005. – V. 26. – P. 327-337.
163. Zaidi M. Skeletal remodelling in health and disease / M. Zaidi // *Nature Med.* – 2007. – V. 13. – P. 791-801.
164. Біомеханічні властивості інтактно́ї та травмовано́ї кістки/ В.З. Сікора, В.І. Бумейстер, М.В. Погорелов [та ін.] // *Світ медицини та біології.* - 2009. - №3.- С. 149-153.
165. Використання пористих нанокмпозитних матеріалів для заміщення кісткових дефектів/ В.З. Сікора, Л.Ф. Суходуб, С.М. Данильченко [та ін.] // *Український морфологічний альманах.*-2008.- Т.6, №1.-С. 155-156.
166. Гололобов В. Г. Характеристика культури пластинчатой костной ткани *invitro*/ В.Г. Гололобов, Р.В. Деев, Н.С. Николаенко [и др.] // *Морфология (Morphology).* - 2004. - т.126, №2. - С. 64-66.
167. Гумінський Ю.Й. Сучасні аспекти екоморфології репаративного остеогенеза (літературний огляд) / Ю.Й. Гумінський, О.В. Кореньков //

Вісник Сумського державного університету серія медицина. – 2009. – Том 1, № 2. – С. 17-23.

168. Дедух Н.В. Регенерация кости: основные тенденции развития проблемы / Н.В. Дедух // Матеріали наукового конгресу «IV Міжнародні Пирогвські читання», м. Вінниця, 2-5 червня, 2010 р. – С. 30 – 31.
169. Ефективність лікування хворих із діафізарними переломами кісток нижньої кінцівки за допомогою сучасних технологій остеосинтезу /А.В. Калашнікова, К.В. Вдовіченко, Т.П. Чалайдюк [та ін.] // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №1. – С. 39 – 42
170. К методике определения модуля упругости костной ткани/ А.Е. Лоскутов, А.В. Красовский, А.Е. Олейник [и др.] // Ортопедия, травматол. и протез. – 2000. – №3. – С. 28-31.
171. Картамышева Н.Н. Костное ремоделирование как модель клеточных взаимодействий/ Н.Н. Картамышева, О.В. Чумакова // Нефрология и диализ. - 2004. - Т.6, №1. - С. 43-46.
172. Кількісний мікроаналіз кальцій-фосфорного обміну кісткової тканини після остеотомії/ В.З. Сікора, В.І. Бумейстер, М.В. Погорелов, [та ін.]// Світ медицини та біології. – 2007. - №3. – С. 36-38.
173. Клітинний склад ранього кісткового регенерату щурів за умов гіпергідратації організму / М.В. Погорелов, В.І. Бумейстер, С.Д. Бончев [та ін.] // Галицький лікарський вісник. – 2010. – Т.7, №2, частина 2. – С. 83 – 85
174. Кореньков О.В. Біомеханічні параметри довгих трубчатих кісток тварин після перелому в умовах мікроелементозу / О.В. Кореньков / Матеріали міжнародної науково-практичної конференції [«Прикладні аспекти морфології» присвяченої пам'яті професорів-морфологів Терентьєва Г.В., Роменського О.Ю., Когана Б.И.], м. Вінниця, 20-21 травня 2009 р. – С. 156-157.

175. Корж Н.А. Имплантационные материалы и остеогенез. Роль оптимизации и стимуляции в реконструкции кости / Н.А. Корж, Л.А. Кладченко, С.В. Малышкина // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2008. - № 4. – С. 5 – 14.
176. Корж Н.А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Локальные факторы, влияющие на заживление перелома/ Н.А. Корж, Л.Д. Горидова, К.К. Романенко // Ортопедия, травматология и протезирование. - 2006. - №2. - С. 99-105.
177. Корж Н.А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Методы тканевой терапии и генной инженерии/ Н.А. Корж, Н.В. Дедух, Н.А. Ашукина // Ортопедия, травматология и протезирование. - 2006. - №3. - С. 93-99.
178. Мікротвердість неушкодженої кістки, а також під час репаративного остеогенезу та при порушенні ВЕБ організму/ М.В. Погорелов, В.І. Бумейстер, Г.Ф. Ткач [та ін.]// Вісник морфології. - 2009.
179. Мінеральний склад кістки в різні терміни репаративного процесу/ В.З. Сікора, В.І. Бумейстер, О.О. Устянський [та ін.] // Здобутки клінічної та експериментальної медицини. – 2007. - №2. – С.150-152.
180. Нагорнов М.Н. Основные модели используемые при изучении процесса заживления перелома/ М.Н. Нагорнов // Архив судебной медицины. - 2001. - №2, Т.4. - С. 58-78.
181. Новый подход к лечению дефектов длинных костей конечностей. От культур *invitro* к культурам *invivo*/ В.Г. Гололобов, А.К. Дулаев, Р.В. Деев [и др.] // Анатомия и военная медицина.-СПб.: ВмедА, 2003. - С. 104-106.
182. Поворознюк В.В. Возрастные аспекты структурно-функционального состояния костной ткани населения Украины/ В.В. Поворознюк //Остеопороз и остеопатии. - 2000. - №1. - С.

15-22.

183. Погорелов М.В. Мікротвердість інтактно́ї та травмовано́ї кістки / М.В. Погорелов, Г.Ф. Ткач // Матеріали науково-практичної конференції "Актуальні проблеми функціональної морфології", Полтава 10-12 вересня 2009 р. – 2009. – С.34.
184. Попова Н.В. Щелочная фосфатаза и минеральная плотность трабекулярной костной ткани поясничных позвонков у женщин с естественной менопаузой/ Н.В. Попова, Т.И. Рубченко, С.Ю. Лукашенко // Проблемы репродукции. - 2005. - №4. - С. 72-76.
185. Применение метода растровой электронной микроскопии для изучения репаративной регенерации кости/ В.З. Сикора, В.И. Бумейстер, М.В. Погорелов [та ін.] // XV Российский симпозиум по растровой электронной микроскопии и аналитическим методам исследования твердых тел. - Москва. 2007. – С. 309-310.
186. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Медикаментозные препараты, оптимизирующие репаративный остеогенез/ Н.А. Корж, Н.В. Горидова, Н.В. Дедух [и др.]// Ортопедия, травматология и протезирование. - 2006. - №3. - С. 85-92.
187. Репарация костной ткани с помощью мезенхимальных стволовых клеток / Н.В. Кругляков, И.Б. Соколова, Н.Н. Некрасова [и др.]// Цитология.- 2004.- т. 46, № 10.- с. 920-921.
188. Родионова Н.В. Цитологические механизмы ремоделирования костной ткани при снижении опорной нагрузки / Н.В. Родионова // Матеріали наукового конгресу «IV Міжнародні Пирогвські читання», м. Вінниця, 2-5 червня, 2010 р. – С. 101 – 102.
189. Родіонова Н.В. Морфологічні особливості взаємодії клітин в зонах остеогенезу / Н.В. Родіонова, О.М. Нестеренко // Таврический медико-биологический вестник. – 2006. – Том 9, №3, Ч. III. – С. 146 – 148



190. Уровни организации минерального матрикса костной ткани и механизмы, определяющие параметры их формирования/ А.С. Аврунин, Р.М. Тихилов, А.Б. Аболин [и др.]// Морфология. – 2005. – Т. 127, №2. – С. 78-82.
191. Участие трансфузированных клеток костного мозга в репаративной регенерации костной ткани у мышей/ Р. В. Деев, Н. В. Цупкина, В. Г. Гололобов [и др.]// Цитология.- 2004.- Т. 46, № 10. – С.912-913.

## **ДОДАТОК А**

Таблиця 1

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів остеометрії стегнових кісток тварин інтактної та контрольної серії

Серія тварин	Показник			
	Довжина	Ширина проксимального епіфізу	Ширина дистального епіфізу	Ширина діафізу
Інтактні	82,4±2,7	15,7±1,3	13,3±0,4	6,3±0,5
Контроль 1 місяць	83,1±1,6	15,5±0,9	14,7±0,2* p=0,038	6,23±0,6
Контроль 3 місяці	86,2±2,8	15,8±0,5	14,3±0,3* p=0,047	6,74±0,4
Контроль 6 місяців	88,3±3,4	16,1±0,4	14,8±0,6* p=0,04	6,84±0,5

\* - достовірність різниці у порівнянні з інтактними тваринами ( $p \leq 0,05$ ). Для показників, які мають достовірну відмінність наведено точне значення «р».

Таблиця 2

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів остеометрії стегнових кісток тварин в різні терміни після імплантації титанового сплаву ВТ-6.

Термін після імплантації	Показник			
	Довжина	Ширина проксимального епіфізу	Ширина дистального епіфізу	Ширина діафізу
1 місяць	84,2±1,7	15,4±0,76	15,6±0,18* p=0,042	6,25±0,27
3 місяці	85,9±0,34	15,6±0,17	15,8±0,23* p=0,006	6,44±0,44
6 місяців	89,1±0,71	15,9±0,31	16,2±0,16* p=0,029	6,72±0,28

\* - достовірність різниці у порівнянні з контролем ( $p \leq 0,05$ ). Для показників, які мають достовірну відмінність наведено точне значення «р».

Таблиця 3

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів остеометрії стегнових кісток тварин в різні терміни після імплантації цирконієвого сплаву КТЦ-125.

Термін після імплантації	Показник			
	Довжина	Ширина проксимального епіфізу	Ширина дистального епіфізу	Ширина діафізу
1 місяць	83,7±0,92	15,1±0,38	15,2±0,62* p=0,031	6,32±0,42
3 місяці	85,4±0,55	15,8±0,23	15,2±0,17* p=0,046	6,49±0,26
6 місяців	88,6±2,13	16,1±0,62	15,4±0,021	6,68±0,38

\* - достовірність різниці у порівнянні з контролем ( $p \leq 0,05$ ). Для показників, які мають достовірну відмінність наведено точне значення «р».

Таблиця 4

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів остеометрії стегнових кісток тварин в різні терміни після імплантації цирконієвого сплаву КТЦ-125 з гідроксиапатитним покриттям.

Термін після імплантації	Показник			
	Довжина	Ширина проксимального епіфізу	Ширина дистального епіфізу	Ширина діафізу
1 місяць	83,2±1,15	15,4±0,61	15,4±0,23* p=0,003	6,37±0,12
3 місяці	84,9±2,04	15,6±0,42	15,1±0,018	6,43±0,42
6 місяців	88,9±1,76	15,9±0,81	15,6±0,32* p=0,035	6,57±0,29

\* - достовірність різниці у порівнянні з контролем ( $p \leq 0,05$ ). Для показників, які мають достовірну відмінність наведено точне значення «р».

Таблиця 5

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів остеометрії стегнових кісток тварин в різні терміни після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву.

Термін після імплантації	Показник			
	Довжина	Ширина проксимального епіфізу	Ширина дистального епіфізу	Ширина діафізу
1 місяць	84,5±0,83	15,2±0,13	15,6±0,22* p=0,04	6,41±0,33
3 місяці	85,1±1,25	15,7±0,58	15,8±0,31* p=0,048	6,43±0,18
6 місяців	87,8±0,82	15,8±0,39	15,9±0,28* p=0,024	6,49±0,15

\* - достовірність різниці у порівнянні з контролем ( $p \leq 0,05$ ). Для показників, які мають достовірну відмінність наведено точне значення «р».

Таблиця 6

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів остеометрії стегнових кісток тварин в різні терміни після імплантації  $\beta$  (Ti-Zr) сплаву з гідроксиапатитним покриттям.

Термін після імплантації	Показник			
	Довжина	Ширина проксимального епіфізу	Ширина дистального епіфізу	Ширина діафізу
1 місяць	81,6±1,4	15,1±0,25	15,3±0,4* p=0,019	6,39±0,27
3 місяці	84,8±0,69	15,5±0,32	15,8±0,22* p=0,004	6,41±0,34
6 місяців	87,3±2,5	15,9±0,16	15,9±0,41* p=0,022	6,47±0,24

\* - достовірність різниці у порівнянні з контролем ( $p \leq 0,05$ ). Для показників, які мають достовірну відмінність наведено точне значення «р».

Таблиця 7

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів мікротвердості кісткової тканини стегнових кісток тварин інтактної та контрольної серії, кгс/мм<sup>2</sup>

	Ділянка кістки		
	Діафіз	Дистальний епіфіз	Проксимальний епіфіз
<b>Інтактні</b>	284,1±8,2	202,6±8,6	214,8±4,5
<b>Контроль 1 місяць</b>	239,5±12,7* p=0,039	112,9±4,8* p=0,0029	192,5±7,9
<b>Контроль 3 місяці</b>	291,6±17,2	145,3±7,4* p=0,001	203,4±8,1
<b>Контроль 6 місяців</b>	296,6±23,6	219,6±16,3	186,6±11,5* p=0,038

\* - достовірність різниці у порівнянні з інтактними тваринами ( $p \leq 0,05$ ). Для показників, які мають достовірну відмінність наведене точне значення «р».

Таблиця 8

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів мікротвердості кісткової тканини стегнових кісток тварин в різні терміни після імплантації титанового сплаву ВТ-6, кгс/мм<sup>2</sup>

Термін після імплантації	Ділянка кістки		
	Діафіз	Дистальний епіфіз	Проксимальний епіфіз
<b>1 місяць</b>	248,5±4,8	154,6±2,9* p=0,0071	186,6±1,8
<b>3 місяці</b>	232,9±9,2* p=0,0085	153,2±5,2* p=0,035	179,4±3,7
<b>6 місяців</b>	228,3±6,4* p=0,033	153,7±5,8* p=0,009	171,2±2,5

\* - достовірність різниці у порівнянні з контролем ( $p \leq 0,05$ ). Для показників, які мають достовірну відмінність наведене точне значення «р».

Таблиця 9

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів мікротвердості кісткової тканини стегнових кісток тварин в різні терміни після імплантації сплаву КТЦ, кгс/мм<sup>2</sup>

Термін після імплантації	Ділянка кістки		
	Діафіз	Дистальний епіфіз	Проксимальний епіфіз
<b>1 місяць</b>	251,9±12,7	146,8±5,9* p=0,001	186,5±6,8
<b>3 місяці</b>	243,8±7,8* p=0,021	162,7±8,3* p=0,02	181,3±11,5* p=0,037
<b>6 місяців</b>	254,9±15,3* p=0,03	182,7±6,4* p=0,04	180,4±12,8

\* - достовірність різниці у порівнянні з контролем ( $p \leq 0,05$ ). Для показників, які мають достовірну відмінність наведено точне значення «р».

Таблиця 10

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів мікротвердості кісткової тканини стегнових кісток тварин в різні терміни після імплантації сплаву КТЦ з гідроксиапатитним покриттям, кгс/мм<sup>2</sup>

Термін після імплантації	Ділянка кістки		
	Діафіз	Дистальний епіфіз	Проксимальний епіфіз
<b>1 місяць</b>	249,9±9,7	152,4±5,8* p=0,04	190,9±10,2
<b>3 місяці</b>	259,6±8,2* p=0,04	173,5±6,3* p=0,045	188,6±4,6* p=0,04
<b>6 місяців</b>	293,1±±3,8	179,5±3,5* p=0,03	195,3±5,2

\* - достовірність різниці у порівнянні з контролем ( $p \leq 0,05$ ). Для показників, які мають достовірну відмінність наведено точне значення «р».

Таблиця 11

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів мікротвердості кісткової тканини стегнових кісток тварин в різні терміни після імплантації сплаву  $\beta$  (Ti-Zr), кгс/мм<sup>2</sup>

Термін після імплантації	Ділянка кістки		
	Діафіз	Дистальний епіфіз	Проксимальний епіфіз
<b>1 місяць</b>	253,9±9,7	142,0±5,3* p=0,005	184,6±3,8
<b>3 місяці</b>	261,4±4,7* p=0,032	173,5±2,4* p=0,028	188,6±4,0* p=0,039
<b>6 місяців</b>	277,2±1,4	179,5±3,7* p=0,042	195,3±6,9

\* - достовірність різниці у порівнянні з контролем ( $p \leq 0,05$ ). Для показників, які мають достовірну відмінність наведено точне значення «р».

Таблиця 12

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів мікротвердості кісткової тканини стегнових кісток тварин в різні терміни після імплантації сплаву  $\beta$  (Ti-Zr) з гідроксиапатитним покриттям, кгс/мм<sup>2</sup>

Термін після імплантації	Ділянка кістки		
	Діафіз	Дистальний епіфіз	Проксимальний епіфіз
<b>1 місяць</b>	271,2±3,6	153,4±1,8* p=0,026	199,4±8,1
<b>3 місяці</b>	283,8±4,5	185,9±2,5* p=0,035	193,6±7,2
<b>6 місяців</b>	281,7±3,6	191,5±2,7	209,4±9,2* p=0,04

\* - достовірність різниці у порівнянні з контролем ( $p \leq 0,05$ ). Для показників, які мають достовірну відмінність наведено точне значення «р».



Таблиця 13

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів морфометрії гістологічних препаратів стегнових кісток тварин інтактної та контрольної серії через місяць після нанесення травми

Показник	Ділянка кістки					
	Діафіз		Дистальний епіфіз		Проксимальний епіфіз	
	Інтактні	Контроль	Інтактні	Контроль	Інтактні	Контроль
<b>Остеобласти (на мм<sup>2</sup>)</b>	6,9±0,5	13,5±1,2* p=0,004	13,6±1,5	26,3±2,1* p=0,03	13,4±0,42	18,6±0,9* p=0,037
<b>Остеоцити (на мм<sup>2</sup>)</b>	6,3±0,4	7,6±0,5 p=0,02	6,9±0,8	7,1±1,2	7,2±1,1	8,3±0,7* p=0,041
<b>Одиниці ремоделювання (на мм<sup>2</sup>)</b>	2,3±0,5	4,1±0,7* p=0,006	4,2±1,1	7,3±0,3* p=0,042	4,2±1,1	5,9±0,4* p=0,008
<b>Ширина одиниць ремоделювання (мкм)</b>	205,5±14,3	264,6±21,8* p=0,04	186,7±11,8	175,9±12,1	181,5±6,9	179,3±7,2
<b>Ширина остеонів (мкм)</b>	53,6±3,5	45,1±1,7* p=0,037	-	-	-	-
<b>Ширина каналу остеонів (мкм)</b>	19,5±1,6	24,1±2,5* p=0,0095	-	-	-	-
<b>Товщина трабекул (мкм)</b>	-	-	165,8±16,1	127,7±2,6* p=0,001	170,4±9,4	172,4±21,5

\* - достовірність різниці у порівнянні з інтактними тваринами (p≤0,05).

Для показників, які мають достовірну відмінність наведено точне значення «р».

Таблиця 14

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів морфометрії гістологічних препаратів стегнових кісток тварин інтактної та контрольної серії через три місяці після нанесення травми

Показник	Ділянка кістки					
	Діафіз		Дистальний епіфіз		Проксимальний епіфіз	
	Інтактні	Контроль	Інтактні	Інтактні	Контроль	Інтактні
<b>Остеобласти (на мм<sup>2</sup>)</b>	6,9±0,5	10,2±0,7* p=0,034	13,6±1,5	17,5±0,4* p=0,0052	13,4±0,42	14,1±0,8
<b>Остеоцити (на мм<sup>2</sup>)</b>	6,3±0,4	8,2±0,6* p=0,04	6,9±0,8	9,2±0,5* p=0,003	7,2±1,1	8,3±0,5
<b>Одиниці ремоделювання (на мм<sup>2</sup>)</b>	2,3±0,5	3,9±0,4* p=0,008	4,2±1,1	5,8±0,3* p=0,04	4,2±1,1	4,5±0,2
<b>Ширина одиниць ремоделювання (мкм)</b>	205,5±14,3	210,6±32,1* p=0,041	186,7±11,8	194,6±19,5	181,5±6,9	182,2±11,6
<b>Ширина остеонів (мкм)</b>	53,6±3,5	52,8±1,7	-	-	-	-
<b>Ширина каналу остеонів (мкм)</b>	19,5±1,6	20,1±0,6	-	-	-	-
<b>Товщина трабекул (мкм)</b>	-	-	165,8±16,1	142,6±2,6* p=0,008	172,4±9,4	169,6±2,8

\* - достовірність різниці у порівнянні з інтактними тваринами (p≤0,05).

Для показників, які мають достовірну відмінність наведено точне значення «р».

Таблиця 15

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів морфометрії гістологічних препаратів стегнових кісток тварин інтактною та контрольної серії через шість місяців після нанесення травми

Показник	Ділянка кістки					
	Діафіз		Дистальний епіфіз		Проксимальний епіфіз	
	Інтактні	Контроль	Інтактні	Інтактні	Контроль	Інтактні
<b>Остеобласти (на мм<sup>2</sup>)</b>	6,9±0,5	7,2±0,7	13,6±1,5	12,8±0,9	13,4±0,42	13,7±1,1
<b>Остеоцити (на мм<sup>2</sup>)</b>	6,3±0,4	6,2±0,7	6,9±0,8	6,8±0,9	7,2±1,1	7,4±0,5
<b>Одиниці ремоделювання (на мм<sup>2</sup>)</b>	2,3±0,5	2,5±0,4	4,2±1,1	4,6±0,3	4,2±1,1	4,3±0,6
<b>Ширина одиниць ремоделювання (мкм)</b>	205,5±14,3	209,8±18,5	186,7±11,8	193,6±13,6	181,5±6,9	189,4±6,9
<b>Ширина остеонів (мкм)</b>	53,6±3,5	56,3±8,6	-	-	-	-
<b>Ширина каналу остеонів (мкм)</b>	19,5±1,6	18,3±2,8	-	-	-	-
<b>Товщина трабекул (мкм)</b>	-	-	165,8±16,1	179,7±18,5	172,4±9,4	182,9±14,1

\* - достовірність різниці у порівнянні з інтактними тваринами ( $p \leq 0,05$ ).

Для показників, які мають достовірну відмінність наведене точне значення «р».

Таблиця 16

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів морфометрії гістологічних препаратів стегнових кісток тварин в різні терміни після імплантації сплаву TiVT6

	Діафіз			Дистальний епіфіз			Проксимальний епіфіз		
	1 місяць	3 місяці	6 місяців	1 місяць	3 місяці	6 місяців	1 місяць	3 місяці	6 місяців
<b>Остеобласти (на мм<sup>2</sup>)</b>	14,2±1,4	13,4±0,5* p=0,03	8,1±0,2	28,9±1,4	24,3±1,6* p=0,02	19,3±1,0* p=0,002	16,5±0,8* p=0,04	17,8±1,2* p=0,026	15,3±0,7
<b>Остеоцити (на мм<sup>2</sup>)</b>	10,8±0,6* p=0,04	9,2±0,3	6,9±0,2	9,4±0,5* p=0,007	10,5±0,6	8,2±0,5* p=0,019	10,2±0,3* p=0,028	8,6±0,7	7,9±0,4
<b>Одиниці ремоделювання (на мм<sup>2</sup>)</b>	5,8±0,4* p=0,007	5,5±0,3* p=0,044	4,6±0,2* p=0,04	9,7±0,5* p=0,041	8,5±0,9* p=0,0059	7,1±0,5* p=0,004	7,8±0,3* p=0,047	8,1±0,6* p=0,0052	5,9±0,4* p=0,04
<b>Ширина одиниць ремоделювання (мкм)</b>	295,0±21,5* p=0,001	278,9±21,5* p=0,006	211,6±32,4	236,9±15,8* p=0,0071	228,6±7,9* p=0,03	204,7±10,6	221,3±27,8* p=0,039	231,5±9,2* p=0,03	152,9±23,8* p=0,031
<b>Ширина остеонів (мкм)</b>	43,8±1,6	41,3±0,31* p=0,02	49,8±0,23	-	-	-	-	-	-
<b>Ширина каналу остеонів (мкм)</b>	23,9±0,7	24,6±0,18	23,7±0,12	-	-	-	-	-	-
<b>Товщина трабекул (мкм)</b>	-	-	-	143,6±2,8* p=0,04	139,2±2,8	143,8±21,5* p=0,03	159,6±5,3* p=0,005	147,0±1,6* p=0,0089	153,6±8,4* p=0,048

\* - достовірність різниці у порівнянні з контролем (p≤0,05).

Для показників, які мають достовірну відмінність наведено точне значення «р».

Таблиця 17

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів морфометрії гістологічних препаратів стегнових кісток тварин в різні терміни після імплантації сплаву КТЦ

	Діафіз			Дистальний епіфіз			Проксимальний епіфіз		
	1 місяць	3 місяці	6 місяців	1 місяць	3 місяці	6 місяців	1 місяць	3 місяці	6 місяців
<b>Остеобласти (на мм<sup>2</sup>)</b>	12,9±0,32	11,5±0,2	7,8±0,2	25,9±0,87	21,6±0,5* p=0,045	15,1±0,5* p=0,009	19,5±0,25	17,4±1,1* p=0,009	13,2±0,8
<b>Остеоцити (на мм<sup>2</sup>)</b>	8,2±0,28	6,1±0,7* p=0,03	4,6±0,4* p=0,0046	8,4±0,15* p=0,004	7,6±0,3* p=0,03	7,1±0,2	8,9±0,31	6,8±0,2* p=0,048	7,5±0,8
<b>Одиниці ремоделювання (на мм<sup>2</sup>)</b>	5,6±0,25* p=0,008	4,9±0,38, 3	3,2±0,6	8,3±0,5	7,2±0,1* p=0,007	6,2±0,6* p=0,001	6,5±0,5	5,8±0,4* p=0,035	4,1±0,3
<b>Ширина одиниць ремоделювання (мкм)</b>	254,7±11,2	195,6±4,8	194,8±12,5	203,6±5,9* p=0,038	201,5±6,1	189,6±11,8	181,6±12,9	216,5±11,6* p=0,003	203,5±7,4
<b>Ширина остеонів (мкм)</b>	44,9±1,5	39,8±1,8* p=0,027	52,8±1,4	-	-	-	-	-	-
<b>Ширина каналу остеонів (мкм)</b>	23,2±0,65	21,2±0,41	19,6±0,54	-	-	-	-	-	-
<b>Товщина трабекул (мкм)</b>	-	-	-	138,6±2,6	143,6±2,7	157,9±3,9* p=0,03	154,9±1,5* p=0,006	151,9±3,4	172,4±5,1

\* - достовірність різниці у порівнянні з контролем (p≤0,05).

Для показників, які мають достовірну відмінність наведено точне значення «р».

Таблиця 18

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів морфометрії гістологічних препаратів стегнових кісток тварин в різні терміни після імплантації сплаву КТЦ з гідроксиапатитним покриттям

	Діафіз			Дистальний епіфіз			Проксимальний епіфіз		
	1 місяць	3 місяці	6 місяців	1 місяць	3 місяці	6 місяців	1 місяць	3 місяці	6 місяців
<b>Остеобласти (на мм<sup>2</sup>)</b>	10,8±0,12* p=0,007	9,1±0,3	9,3±0,51* p=0,043	23,5±0,34	21,2±0,5* p=0,009	14,3±0,41	17,5±0,43	15,4±0,49	11,5±0,73* p=0,041
<b>Остеоцити (на мм<sup>2</sup>)</b>	7,5±0,23	7,3±0,8* p=0,03	6,1±0,47	7,8±0,10	10,1±0,25	6,4±0,5	9,1±0,32	6,4±0,3* p=0,03	6,9±0,45
<b>Одиниці ремоделювання (на мм<sup>2</sup>)</b>	4,3±0,42	4,8±0,44* p=0,001	2,8±0,3	8,1±0,23	6,8±0,5* p=0,01	4,8±0,2	5,6±0,31	4,7±0,25	4,5±0,7
<b>Ширина одиниць ремоделювання (мкм)</b>	241,6±15,2	211,6±12,4	209,4±14,9	176,7±9,15	179,5±1,6* p=0,04	187,3±9,2	183,2±4,6	188,5±4,9	187,4±2,7
<b>Ширина остеонів (мкм)</b>	50,2±0,5	43,8±0,4* p=0,04	51,2±1,3	-	-	-	-	-	-
<b>Ширина каналу остеонів (мкм)</b>	22,1±0,16	19,6±0,31	20,5±0,5	-	-	-	-	-	-
<b>Товщина трабекул (мкм)</b>	-	-	-	142,8±3,6* p=0,038	152,6±0,44	170,4±3,8	175,5±9,1	183,6±0,29	188,4±1,6

\* - достовірність різниці у порівнянні з контролем (p≤0,05).

Для показників, які мають достовірну відмінність наведено точне значення «р».

Таблиця 19

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів морфометрії гістологічних препаратів стегнових кісток тварин в різні терміни після імплантації сплаву  $\beta$  (Ti-Zr)

	Діафіз			Дистальний епіфіз			Проксимальний епіфіз		
	1 місяць	3 місяці	6 місяців	1 місяць	3 місяці	6 місяців	1 місяць	3 місяці	6 місяців
<b>Остеобласти (на мм<sup>2</sup>)</b>	11,2±0,3* p=0,03	9,4±0,62	7,3±0,6,3	24,2±0,6	20,4±0,4* p=0,002	14,5±0,33	15,3±0,22* p=0,004	11,7±0,29* p=0,0049	12,5±0,35
<b>Остеоцити (на мм<sup>2</sup>)</b>	9,4±0,43* p=0,018	8,2±0,3	8,7±0,42* p=0,002	11,2±0,23* p=0,0065	9,5±0,4	8,1±0,37	8,7±0,33	7,0±0,40	7,2±0,81
<b>Одиниці ремоделювання (на мм<sup>2</sup>)</b>	3,8±0,25	3,1±0,21	2,1±0,18	10,4±0,28* p=0,001	6,9±0,2* P=0.04	6,2±0,31* p=0,031	5,4±0,51	4,1±0,4	4,4±0,53
<b>Ширина одиниць ремоделювання (мкм)</b>	238,3±8,3	183,5±6,2* p=0,045	209,4±7,2	168,9±4,5	199,7±3,8	183,6±4,5	182,6±2,7	215,7±11,5* p=0,026	180,9±6,2
<b>Ширина остеонів (мкм)</b>	49,5±0,55	51,3±0,73	52,8±0,55	-	-	-	-	-	-
<b>Ширина каналу остеонів (мкм)</b>	23,0±0,12	20,4±0,36	21,6±0,19	-	-	-	-	-	-
<b>Товщина трабекул (мкм)</b>	-	-	-	138,2±3,8* p=0,038	157,9±4,8	184,9±1,8	182,7±4,1	187,3±9,1* p=0,03	190,5±3,7

\* - достовірність різниці у порівнянні з контролем (p≤0,05).

Для показників, які мають достовірну відмінність наведено точне значення «р».

Таблиця 20

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів морфометрії гістологічних препаратів стегнових кісток тварин в різні терміни після імплантації сплаву  $\beta$  (Ti-Zr) з гідроксиапатитним покриттям

	Діафіз			Дистальний епіфіз			Проксимальний епіфіз		
	1 місяць	3 місяці	6 місяців	1 місяць	3 місяці	6 місяців	1 місяць	3 місяці	6 місяців
<b>Остеобласти (на мм<sup>2</sup>)</b>	9,9±0,15* p=0,001	8,0±0,33* p=0,008	7,8±0,42	28,4±0,43	15,8±0,2	12,6±0,25	17,5±0,45	12,6±0,29* p=0,044	13,0±0,6
<b>Остеоцити (на мм<sup>2</sup>)</b>	7,4±0,39	7,1±0,2* p=0,026	6,5±0,71	10,8±0,62* p=0,021	8,7±0,42	7,5±0,5	6,5±0,17* p=0,003	7,9±0,6	7,1±0,38
<b>Одиниці ремоделювання (на мм<sup>2</sup>)</b>	3,3±0,1* p=0,042	3,2±0,23	2,3±0,15	8,9±0,25* p=0,007	4,8±0,6	4,9±0,52	5,1±0,4	3,9±0,33	4,9±0,3
<b>Ширина одиниць ремоделювання (мкм)</b>	175,6±3,2* p=0,001	189,5±4,8* p=0,038	190,4±11,4	211,4±1,6* p=0,001	200,3±9,2	196,8±2,7	227,0±11,4* p=0,005	194,6±11,6	210,6±2,7* p=0,009
<b>Ширина остеонів (мкм)</b>	53,8±0,43	52,1±0,93	50,9±1,3	-	-	-	-	-	-
<b>Ширина каналу остеонів (мкм)</b>	22,1±0,29	20,7±0,38	19,9±0,42	-	-	-	-	-	-
<b>Товщина трабекул (мкм)</b>	-	-	-	131,5±2,7	180,6±4,2* p=0,022	186,3±2,7	178,5±1,7	186,4±4,4* p=0,03	188,5±3,2

\* - достовірність різниці у порівнянні з контролем ( $p \leq 0,05$ ).

Для показників, які мають достовірну відмінність наведено точне значення «р».



Таблиця 21

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів енергодисперсійного аналізу стегнових кісток тварин інтактної та контрольної серії в різні терміни після нанесення травми

		Ділянка кістки					
		Діафіз		Дистальний епіфіз		Проксимальний епіфіз	
Термін спостереження	Елемент	Інтактні	Контроль	Інтактні	Контроль	Інтактні	Контроль
1 місяць	Кальцій	37,6±2,5	32,1±0,45* p=0,033	37,9±2,1	29,8±1,4* p=0,001	38,5±3,8	34,6±1,3* p=0,031
	Фосфор	23,4±1,1	19,4±0,51 p=0,04	23,6±1,7	18,06±0,87* p=0,037	25,1±2,3	22,8±0,67
3 місяці	Кальцій	37,6±2,5	36,2±2,5	37,9±2,1	32,3±1,2* p=0,028	38,5±3,8	34,9±1,7
	Фосфор	23,4±1,1	23,9±2,7	23,6±1,7	20,1±0,8* p=0,04	25,1±2,3	21,3±0,8* p=0,026
6 місяців	Кальцій	37,6±2,5	38,4±3,1	37,9±2,1	35,8±1,8	38,5±3,8	37,3±0,9
	Фосфор	23,4±1,1	25,7±0,8	23,6±1,7	22,5±1,6	25,1±2,3	24,8±0,34

\* - достовірність різниці у порівнянні з інтактними тваринами ( $p \leq 0,05$ ).

Для показників, які мають достовірну відмінність наведене точне значення «р».

Таблиця 22

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів енергодисперсійного аналізу стегнових кісток тварин в різні терміни після імплантації сплаву TiVT6

	Діафіз			Дистальний епіфіз			Проксимальний епіфіз		
	1 місяць	3 місяці	6 місяців	1 місяць	3 місяці	6 місяців	1 місяць	3 місяці	6 місяців
<b>Кальцій</b>	33,5±0,56	31,8±0,47* p=0,02	32,2±0,35* p=0,036	24,3±0,8* p=0,001	27,6±0,4* p=0,024	29,6±0,54* p=0,007	32,8±0,86	31,1±0,18	30,0±0,15* p=0,0082
<b>Фосфор</b>	18,5±0,65	21,1±0,29	24,1±0,42	17,8±1,1* p=0,017	20,6±0,12	22,7±0,19	20,7±0,45	19,8±0,21	22,5±0,12
<b>Титан</b>	0,8±0,05* p=0,0001	2,3±0,11* p=0,0001	2,8±0,14* p=0,0001	1,9±0,05* p=0,0001	3,4±0,08* p=0,0001	4,2±0,11* p=0,0001	0	1,5±0,12* p=0,0001	2,7±0,21* p=0,0001
<b>Алюміній</b>	1,2±0,25 p=0,01	1,9±0,01* p=0,0028	2,3±0,09* p=0,004	1,8±0,08* p=0,006	2,6±0,1* p=0,0035	3,0±0,31* p=0,015	1,2±0,21* p=0,037	1,5±0,32* p=0,005	1,8±0,17* p=0,006
<b>Ванадій</b>	0,5±0,1 p=0,0001	1,0±0,05* p=0,0001	1,6±0,06* p=0,0001	1,1±0,12* p=0,0001	1,9±0,09* p=0,0001	2,4±0,05* p=0,0001	0,4±0,01* p=0,0001	0,7±0,09* p=0,0001	0,9±0,1* p=0,0001

\* - достовірність різниці у порівнянні з контролем ( $p \leq 0,05$ ).

Для показників, які мають достовірну відмінність наведено точне значення «р».

Таблиця 23

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів енергодисперсійного аналізу стегнових кісток тварин в різні терміни після імплантації сплаву КТЦ

	Діафіз			Дистальний епіфіз			Проксимальний епіфіз		
	1 місяць	3 місяці	6 місяців	1 місяць	3 місяці	6 місяців	1 місяць	3 місяці	6 місяців
<b>Кальцій</b>	32,9±1,4* p=0,02	33,2±1,6	36,5±1,6	23,8±0,6* p=0,0075	28,5±1,4* p=0,038	32,1±0,33	33,1±1,6	32,3±0,52	35,6±2,1
<b>Фосфор</b>	20,1±0,83	19,3±0,54	23,1±1,2	18,2±0,16* p=0,006	21,3±0,82	21,9±0,62	21,5±0,31	20,7±0,17	23,5±0,97
<b>Ніобій</b>	0	0,6±0,2* p=0,0001	0,9±0,12* p=0,0001	0,3±0,06* p=0,0001	0,9±0,1* p=0,0001	1,4±0,2* p=0,0001	0	0,7±0,19* p=0,0001	1,8±0,27* p=0,0001
<b>Алюміній</b>	0,4±0,1	0,8±0,1	1,2±0,22* p=0,04	0,8±0,11	1,2±0,18* p=0,039	2,8±0,18* p=0,001	0	0,8±0,1	1,0±0,25
<b>Цирконій</b>	1,2±0,15* p=0,0001	1,5±0,32* p=0,0001	1,7±0,34* p=0,0001	1,5±0,12* p=0,0001	2,1±0,23* p=0,0001	2,6±0,34* p=0,0001	0	1,7±0,2* p=0,0001	1,9±0,11* p=0,0001

\* - достовірність різниці у порівнянні з контролем ( $p \leq 0,05$ ).

Для показників, які мають достовірну відмінність наведене точне значення «р».

Таблиця 24

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів енергодисперсійного аналізу стегнових кісток тварин в різні терміни після імплантації сплаву КТЦ з гідроксиапатитним покриттям<sup>7</sup>

	Діафіз			Дистальний епіфіз			Проксимальний епіфіз		
	1 місяць	3 місяці	6 місяців	1 місяць	3 місяці	6 місяців	1 місяць	3 місяці	6 місяців
<b>Кальцій</b>	33,9±0,39	33,1±1,05	37,8±0,29	27,9±0,62* p=0,04	30,2±0,44	34,8±0,66	35,8±0,52	33,9±0,76	35,8±1,12
<b>Фосфор</b>	21,3±0,15	20,1±0,55	24,2±0,33	19,1±0,24	20,8±0,39	23,1±0,72	23,1±0,22	21,2±0,33	22,5±0,59
<b>Ніобій</b>	0	0	0,3±0,05* p=0,0001	0	0,4±0,11* p=0,0001	0,6±0,15* p=0,0001	0	0	0,9±0,29* p=0,0001
<b>Алюміній</b>	0,6±0,15	0,4±0,1	0,8±0,3	0,5±0,1	1,0±0,16	1,6±0,22* p=0,027	0,4±0,1	0,7±0,2	0,9±0,07
<b>Цирконій</b>	0	0	0,8±0,12* p=0,0001	0,5±0,12* p=0,0001	0,8±0,21* p=0,0001	0,7±0,09* p=0,0001	0	0	0,6±0,1* p=0,0001

\* - достовірність різниці у порівнянні з контролем ( $p \leq 0,05$ ).

Для показників, які мають достовірну відмінність наведене точне значення «р».

Таблиця 25

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів енергодисперсійного аналізу стегнових кісток тварин в різні терміни після імплантації сплаву  $\beta$  (Ti-Zr)

	Діафіз			Дистальний епіфіз			Проксимальний епіфіз		
	1 місяць	3 місяці	6 місяців	1 місяць	3 місяці	6 місяців	1 місяць	3 місяці	6 місяців
<b>Кальцій</b>	30,2±0,19	34,8±0,92	37,8±1,2	26,3±0,45* p=0,038	33,7±0,62	36,4±0,92	35,2±0,62	35,6±1,2	39,2±2,19
<b>Фосфор</b>	19,8±0,44	23,1±0,28	23,9±0,56	18,4±0,71	21,5±0,43	24,9±1,1	21,1±0,73	22,8±0,37	25,4±0,76
<b>Титан</b>	0	0,6±0,2* p=0,0001	1,2±0,2* p=0,0001	0,8±0,12* p=0,0001	1,1±0,11* p=0,0001	1,3±0,2* p=0,0001	0	0,4±0,1* p=0,0001	0,9±0,16* p=0,0001
<b>Алюміній</b>	0,3±0,1	0,4±0,13	0,3±0,04	0,8±0,2	1,0±0,1	0,5±0,1	0,6±0,2	0,7±0,2	0,3±0,1
<b>Цирконій</b>	0,6±0,2* p=0,0001	0,9±0,19* p=0,0001	1,0±0,1* p=0,0001	1±0,26* p=0,0001	1,4±0,32* p=0,0001	1,9±0,25* p=0,0001	0,4±0,14* p=0,0001	0,8±0,21* p=0,0001	1,1±0,14* p=0,0001

\* - достовірність різниці у порівнянні з контролем ( $p \leq 0,05$ ).

Для показників, які мають достовірну відмінність наведене точне значення «р».

Таблиця 26

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів енергодисперсійного аналізу стегнових кісток тварин в різні терміни після імплантації сплаву  $\beta$  (Ti-Zr) з гідроксиапатитним покриттям

	Діафіз			Дистальний епіфіз			Проксимальний епіфіз		
	1 місяць	3 місяці	6 місяців	1 місяць	3 місяці	6 місяців	1 місяць	3 місяці	6 місяців
<b>Кальцій</b>	35,8±0,82	36,5±1,33	38,91,5	27,7±0,57	34,7±0,62	37,2±1,4	34,9±0,29	37,2±0,56	38,5±0,76
<b>Фосфор</b>	22,6±0,92	23,8±0,49	24,11,2	20,4±0,17	22,1±0,37	23,8±0,46	20,4±0,31	21,8±0,99	24,2±0,71
<b>Титан</b>	0	0	0	0,2±0,05* p=0,0001	0,4±0,11* p=0,0001	0,6±0,12* p=0,0001	0	0	0
<b>Алюміній</b>	0,8±0,2	0,3±0,1	0,5±0,2	0,6±0,1	0,6	0,4	0,4±0,1	0,8±0,2	0,3±0,05
<b>Цирконій</b>	0	0	0	0	0,3±0,09* p=0,0001	0,2±0,06* p=0,0001	0	0	0

\* - достовірність різниці у порівнянні з контролем ( $p \leq 0,05$ ).

Для показників, які мають достовірну відмінність наведене точне значення «р».

