

УДК 616.018.4:612.753-053
УКПП
№ держреєстрації 0116U007551
Інв.№

Міністерство освіти і науки України
Сумський державний університет
(СумДУ)
40007, м.Суми, вул.Римського-Корсакова, 2; тел.330172

ЗАТВЕРДЖУЮ
Проректор СумДУ
д-р фіз.-мат. наук, професор
_____ А.М. Черноус

ЗВІТ
ПРО НАУКОВО–ДОСЛІДНУ РОБОТУ

**ФУНКЦІОНАЛІЗАЦІЯ ПОВЕРХНІ ТИТАН-ЦИРКОНІЄВИХ СПЛАВІВ
З МЕТОЮ СТИМУЛЯЦІЇ ПРОЦЕСІВ ОСТЕОІНТЕГРАЦІЇ
ДЕНТАЛЬНИХ ІМПЛАНТІВ. ВИЗНАЧЕННЯ ОСТЕОІНТЕГРАЦІЇ
ДЕНТАЛЬНИХ ІМПЛАНТАТІВ НА ТВАРИННІЙ МОДЕЛІ
(остаточний)**

Науковий керівник НДР
д-р мед.наук, доц.

М.В. Погорелов

2018

Рукопис закінчено 15 грудня 2018 р.

Результати роботи розглянуто науковою радою СумДУ протокол від _____ 20__ р.
№ _____

СПИСОК АВТОРІВ

Керівник теми,
проф., д.мед. _____ М. Погорєлов
15.12.2018 р. (заг. редакція, розділ 1, висновки)

к.мед.н. _____ О. Олешко
15.12.2018 р. (редакція, розділ 2)

аспірант _____ Н. Зайцева
15.12.2018 р. (розділ 1, 3)

н.с _____ В. Дейнека
15.12.2018 р. (розділ 3)

аспірант _____ Б. Дригваль
15.12.2018 р. (розділ 2)

РЕФЕРАТ

Звіт про НДР: 54 с., 6 рис., 1 табл., 191 джерело.

МЕТАЛЕВІ СПЛАВИ, МОДИФІКАЦІЯ ПОВЕРХНІ, ОСТЕОІНТЕГРАЦІЯ, РЕГЕНЕРАЦІЯ.

Об'єкт дослідження: процеси остеоінтеграції.

Мета роботи – встановлення особливостей будови, механічних властивостей та хімічного складу кісткової тканини стегнової кістки після імплантації металевих протезів різного складу..

Предмет дослідження – використання металевих імплантатів різного складу з метою визначення їх впливу на остеоінтеграції та будову кісткової тканини.

Методи дослідження: експеримент на тваринах, гістологія, скануюча електронна мікроскопія, біомеханічні дослідження.

В результаті виконання етапу встановлені залежності процесів остеоінтеграції імплантатів в залежності від типу поверхні та виду сплаву. Доведено, що бета-титанові сплави з гідроксиапатитним покриттям мають найбільший індекс остеоінтеграції, що дозволяє уникнути післяопераційних ускладнень.

ЗМІСТ

Вступ	5
1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	6
1.1 Будова кістки та процеси ремоделювання навколо імплантату	6
2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	16
3 РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	20
Висновки	34
Перелік джерел посилання	36

ВСТУП

Зважаючи на значну кількість ускладнень, які призводили до необхідності повторної операції із заміни протезу, 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 біосумсності

Іншим фактором, який впливає на інтерфейс «кістка-імплантат» є остеоінтегративні властивості протезу, які залежать в основному від виду матеріалу та структури його поверхні. Значною мірою вплив на даний процес має покриття імплантату, яке може значно підвищити остеоінтеграцію протезу.

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

На сьогодні недостатньо є вивченою проблема змін віддалених ділянок кістки у ранній післяопераційний та віддаленій періоди після імплантації металевих протезів та імплантатів з модифікованою поверхнею. 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 кальцій. Проте, досліджень впливу даних матеріалів на кісткову тканину навколо імплантату та на віддалених ділянках органу недостатньо.

Мета роботи – встановлення особливостей будови, механічних властивостей та хімічного складу кісткової тканини стегнової кістки після імплантації металевих протезів різного складу..

Предмет дослідження – використання металевих імплантатів різного складу з метою визначення їх впливу на остеоінтеграції та будову кісткової тканини.

Методи дослідження: експеримент на тваринах, гістологія, скануюча електронна мікроскопія, біомеханічні дослідження.

В результаті виконання етапу встановлені залежності процесів остеоінтеграції імплантатів в залежності від типу поверхні та виду сплаву. Доведено, що бета-титанові сплави з гідроксиапатитним покриттям мають найбільший індекс остеоінтеграції, що дозволяє уникнути післяопераційних ускладнень.

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. 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.

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. 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. 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.

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. 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 остеоцити. 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.

Кістка є динамічною системою, яка постійно оновлюється упродовж усього життя за допомогою процесів кісткового ремоделювання. Цей процес є необхідний для заміщення молодої 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 остеоцити, які відіграють механосенсорну функцію.

Остеокласти являють собою багатоядерні структури (симпласти) з розмірами від 150 до 180 мкм. Дані клітини мають гематогенне походження, основним попередниками остеобластів є мононуклеарні клітини, які під впливом стимулюючих факторів зливаються з утворенням остеокластів. Маркерами

остеокластів є синтез тартрат-резистентної кислій фосфатази, експресію кальцитонінових та вітронектинових рецепторів.

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

В процесі диференціації остеокластів з мієлоїдних клітин велике значення мають деякі фактори транскрипції. Так, експресія ETC 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. 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. Таким чином, можна стверджувати, що фактор транскрипції c-Fos є вторинним після ETC 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 кислій фосфатази, катепсіна K та кальцитонінових рецепторів.

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. Остеобласти синтезують більшість компонентів органічного матриксу – колаген I типу, лужну фосфатазу, остеокальцин, кістковий сіалопротейн, остеопонтин, кісткові морфогенетичні білки, трансформуючі фактори росту, тромбоспондин, остеонектин, колагеназу та ін. 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. 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. 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.

Утворення тромбу навколо імплантату відбувається за зовнішнім шляхом активації гемостазу. Такі кофактори, як тромбін, АДФ, тромбоксан А2 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. Механічні чинники, такі як тертя під час імплантації чи експлуатації протезу також можуть призводити до механічного ушкодження тромбоцитів і вивільнення їх гранул. 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, фібрoneктин, вітронектин тощо. Клітини також взаємодіють з іншими тромбоцитами, формуючи постійний, механічно стабільний тромб в фібриновій сітці.

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. Деякі з даних міогенів безпосередньо асоційовані з остеогенними клітинними функціями. Так, фактор TGF- β стимулює ранню проліферацію остеопрогеніторних клітин та їх міграцію за SMAD-опосередкованим сигнальним шляхом. PDGF є сильним міогеном для клітин сполучної тканини, VEGF – ініціює процеси ангіогенезу шляхом активації міграції і проліферації ендотеліоцитів.

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

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. Останні трансформуються в макрофаги упродовж 24 годин після міграції. Міграція даних клітин забезпечує місцевий неспецифічний захист від бактеріального ураження шляхом деструкції мікроорганізмів вільними радикалами. 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 остеointegraції.

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

Фактори росту є хемоаттрактантами по відношенню до фібробластів та індукують їх диференціацію та продукції протеїнів міжклітинного матриксу. 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. Гіпоксичне оточення в рані навколо імплантату є хемотаксичним по відношенню до ендотеліальних клітин, які утворюють групи та формують трубочки з подальшим ростом судинної стінки. Дані кровоносні судини є абсолютно необхідними для підтримки процесів остеогенезу та кісткових клітин. Остеобласти походять з клітин-періцитів та є мігрують з камбіального шару окістя. 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. Склад даної матриці на поверхні імплантату має вирішальне значення для модулювання хемоатракції та диференціювання остеопрогеніторних клітин в остеобласти.

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. Під час цього процесу частина остеобластів залишається всередині фібрил та трансформується в остецити. 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.

Процеси ремоделювання є завершальною стадією інтеграції імплантату, проте вони тривають упродовж усього життя відповідно до існуючого навантаження. 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.

Кісткове ремоделювання є базисним регуляторним процесом, який забезпечує відповідність структури кістки діючим навантаженням. Основним морфологічним субстратом процесу ремоделювання є кісткові клітини – остеобласти та остеоцити, які регулюються остеоцитами та серією сигнальних шляхів та молекул. Остеобласти є основними модуляторами остеокластогенезу, в першу чергу шляхом секреції молекул RANKL та його інгібітору – остеопротегерину. RANKL є лігандом і активатором RANK – поверхневого рецептору остеобласту, який активує ядерний фактор каппа-бета (NF κ B) та макрофагальний колоніє стимулюючий фактор (M-CSF). Останні призводять до активації диференціювання та підвищення активності остеобластів. Проте, ряд інших факторів здатні впливати на процеси резорбції та синтезу кісткової тканин в процесі ремоделювання. Естрогени мають здатність підвищувати експресію остеопротегерину та інгібувати сигнальні впливи RANKL. 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. Це є одним з основних механізмів зниження остеоінтеграції імплантатів в разі тривалого запального

процесу. Продукція паратгормону призводить до стимуляції синтезу RANKL та пригнічення експресії остеопротегерину, що призводить до підвищення резорбції кістки.

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. 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.

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 $\alpha 3$ -субодиниці вакуольної АТФази призводить до розвитку остеопетрозу у людей. Утворення протонів залежить від активності карбоангідази II, яка каталізує гідратацію CO_2 з утворенням H_2CO_3 , який дисоціюється до протонів (H^+) та бікарботан-іону. Останній реабсорбується в клітину на базо-латеральній поверхні через хлоридно-бікарботанті канали. Іони Cl^- , утворюють з протонами HCl, яка безпосередньо резорбує мінеральний матрикс кісткової тканини. Доведено, що порушення функціонування хлоридних каналів призводить до розвитку остеопетрозу у людей та експериментальних тварин. 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. Окрім колагену, який був першим кістковим протеїном, локалізованим на

поверхні імплантату, зустрічаються такі білки як остеопонтін, кістковий сіалопротейн, остеонектин та кальцій-зв'язаний фетуїн-А. Відомо, що данні протейни 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 остеоцити, які здатні контролювати процеси ремоделювання шляхом активації остеокластів.

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. 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. 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.

Не зважаючи на чисельні дослідження щодо змін периімплантаційної зони у ранній та віддалений період після імплантації, процеси ремоделювання у

віддалених ділянках кістки у відповідь на зміни механічного навантаження майже не вивчались.

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 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 дистальний відділ стегнової кістки з навантаженням на імплантат від 30 до 35 Н. 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.

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

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

4 серія - Цирконієвий сплав КТЦ-125;

- 5 серія - Цирконієвий сплав КТЦ-125 з гідроксиапатитним покриттям;
 6 серія - β (Ti-Zr) сплав;
 7 серія - β (Ti-Zr) сплав з гідроксиапатитним покриттям (β (Ti-Zr)-ГА)

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 β (Ti-Zr)	5	5	5
Експериментальна	Імплантація β (Ti-Zr) з ГАП	5	5	5
Всього тварин		35	30	30
				95

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 периімплантаційній зоні, середину діяфізу 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 Ітора Е Ајауї для використання у кролів з урахуванням наступних показників: найбільша довжина кістки, найбільша ширина проксимального та дистального епіфізів, ширина середини діафізу.

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 мм^2 , ширину остенів та їх каналів а також щільність клітин (остеобластів та остеоцитів на 1 мм^2). В препаратах епіфізів вимірювали товщину трабекул, щільність клітин (остеобластів та остеоцитів на 1 мм^2) та ширину одиниць ремоделювання і їх кількість на 1 мм^2 .

4. Растрова електронна мікроскопія з мікроаналізом.

Кістку фіксували в розчині глутаральдегіду 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.

5. Визначення мікротвердості кістки.

Вивчення мікротвердості проводили на приладі ПМТ-3. 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/мм²) навантаження P ділять на умовну площу бічної поверхні відбитка:

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

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 Стьюдента. Відмінності вважали значущими з рівнем ймовірності не менше 95% ($p \leq 0,05$).

3 РЕЗУЛЬТАТИ 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 Brånemark у 1950 році для визначення процесів взаємодії металевого імплантату з оточуючою кістковою тканиною. 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. 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%. Відсоток ускладнень при використанні титанових сплавів досягають 20% та зростає зі збільшенням терміну експлуатації імплантату.

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. Чисельні дослідження довели перевагу модифікованих імплантатів та зменшення ускладнень при їх використанні.

Окремою проблемою є розвиток ефекту стресового зміщення в наслідок невідповідності модуля пружності кісткової тканини (до 30 ГПа) та традиційних імплантатів (від 100 ГПа). 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. Для вирішення цього питання створений низько модульний сплав β -(Ti-Zr) з модулем пружності до 47 ГПа, що потенційно може зменшити розвиток ефекту стресового зміщення.

Іншою проблемою тривалого використання імплантів є їх корозія з вивільненням металів та їх інтеграцією у метаболізм кісткової тканини. Корозія

імплантатів виникає в результаті взаємодії продуктів кісткових клітин з поверхнею простезу, зокрема кислотна ерозія при вивільненні кислої фосфатази остеокластами.

Не зважаючи на чисельні експериментальні та клінічні дослідження змін кісткової тканини в періімплантаційній зоні при використанні імплантатів різного складу, зміни віддалених ділянок кістки майже не вивчалися.

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 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 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 ВТ-6 (TiVT6); Цирконієвий сплав КТЦ-125; Цирконієвий сплав КТЦ-125 з гідроксиапатитним покриттям; β (Ti-Zr) сплав; β (Ti-Zr) сплав з гідроксиапатитним покриттям (β (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. Останні активізують процеси ремоделювання кістки з утворенням надлишкової кількості міжклітинного матриксу.

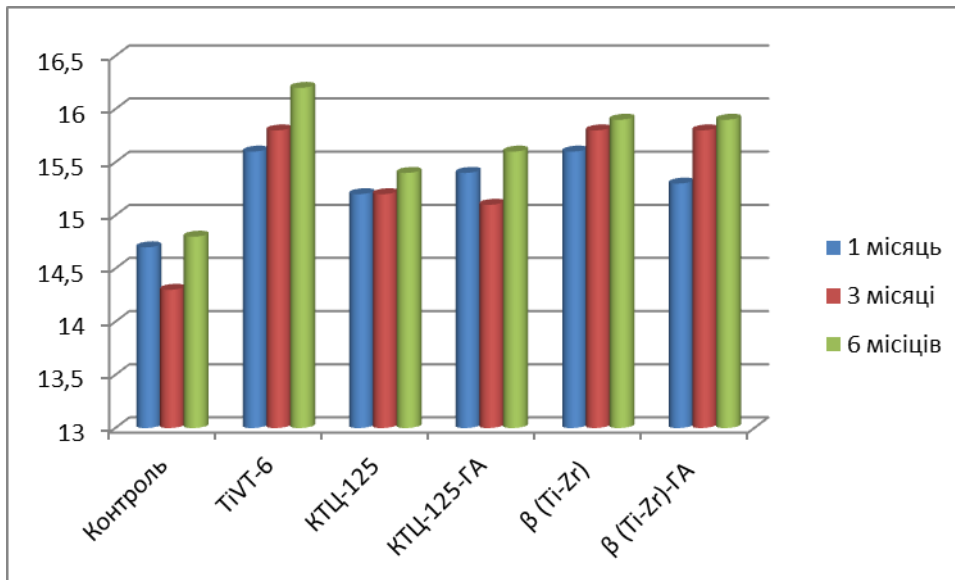


Рисунок 3.1 - Динаміка змін ширини дистального епіфізу стегнових кісток тварин контрольної та експериментальної серії в різні терміни спостереження

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. 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 простезів без гідроксиапатитного покриття відбувається їх сполучнотканинна інкапсуляція, що забезпечує розмежування в системі імплантат-кістка. Навколо імплантатів складу TiVT6 та KTЦ-125 спостерігається наявність повноцінної капсули, тоді як навколо β (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 β (Ti-Zr) сплаву.

Одночасно з перебудовою періімплантаційної зони відбуваються зміни гістологічної будови діафізу 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 лакуарну систему остеоцитів.

Навіть через 6 місяців після операції при імплантації сплавів TiVT6 та КТЦ-125 спостерігаються структурні зміни кісткової тканини діафізу 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 гідроксиапатитним покриттям створює сприятливі умови для адгезії та проліферації остеобластів, що доведено чисельними *in-vitro* та *in-vivo* дослідженнями. 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 β (Ti-Zr) сплаву змін будови діафізу та проксимального епіфізу не спостерігається вже через 3 місяці після операції.

Зважаючи на значну роль в процесах перебудови кістки саме ремоделювання, для кількісної оцінки процесу ми використовували показник кількості одиниць ремоделювання на 1 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 β (Ti-Zr) з гідроксиапатитом відбувається суттєве та достовірне зменшення кількості багатоклітинних кісткових одиниць вже через 3 місяці спостереження.

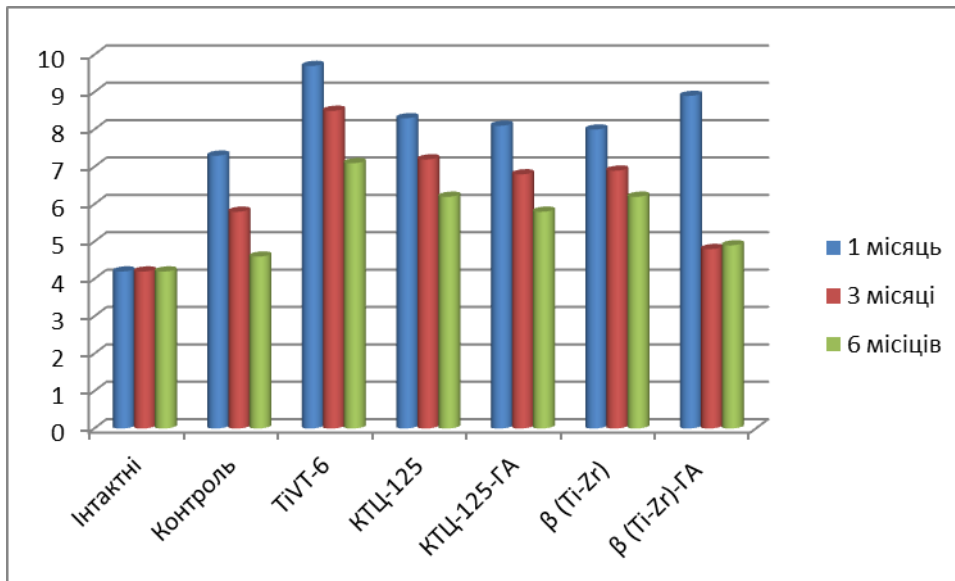


Рисунок 3.2 - Динаміка змін кількості одиниць ремоделювання в дистальному епіфізі стегнових кісток тварин інтактної, контрольної та експериментальної серії в різні терміни спостереження

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 достовірна 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 β (Ti-Zr) та β (Ti-Zr)-ГА відсутня різниця з контролем вже через 3 місяці (рис. 5.3).

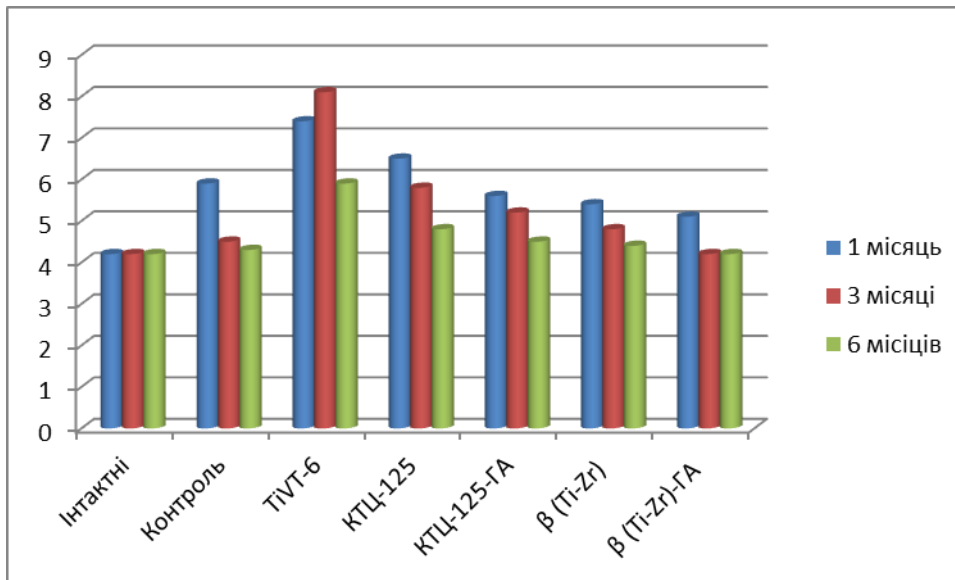


Рисунок 3.3 - Динаміка змін кількості одиниць ремоделювання в проксимальному епіфізі стегнових кісток тварин інтактної, контрольної та експериментальної серії в різні терміни спостереження

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. 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 β (Ti-Zr) та β (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 остеоінтеграції забезпечують мінімальний вплив сплаву на будову і функцію кісткової тканини травмованого органу.

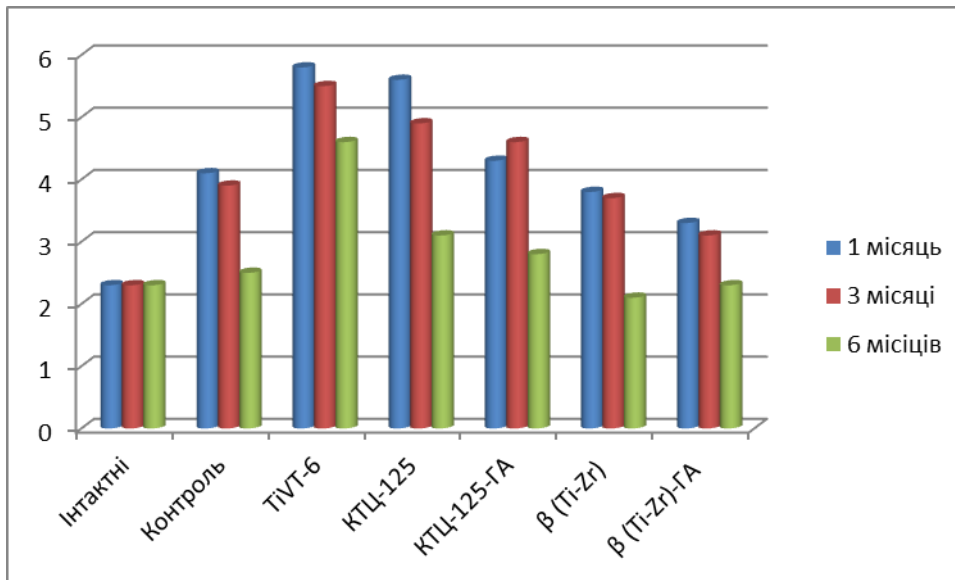


Рисунок 3.4 - Динаміка змін кількості одиниць ремоделювання в діяфізі стегнових кісток тварин інтактної, контрольної та експериментальної серії в різні терміни спостереження

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 бути 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. 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.

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 периімплантаційної 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. Критична кількість мікроструктурних дефектів кістки може призвести до повноцінного перелому навіть при допороговому навантаженні. Імплантація високомодульних сплавів утворює градієнт міцності в системі імплантат-кістка, що призводить до утворення значної кількості мікротріщин та подальших руйнування кісткової тканини. Нестабільність імплантату підсилює даний ефект.

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.

β (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 простезів 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 простезів з гідроксиапатитним покриттям частка втраченого кальцію є меншою у порівнянні з непокритими імплантатами.

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. Перший процес відбувається за рахунок контакту поверхні сплаву з іонами водню та ферментами, які вивільняються кістковими клітинами. Знос імплантату можливий за умов його недостатньої фіксації та розвитку

гіпермобільності. 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.

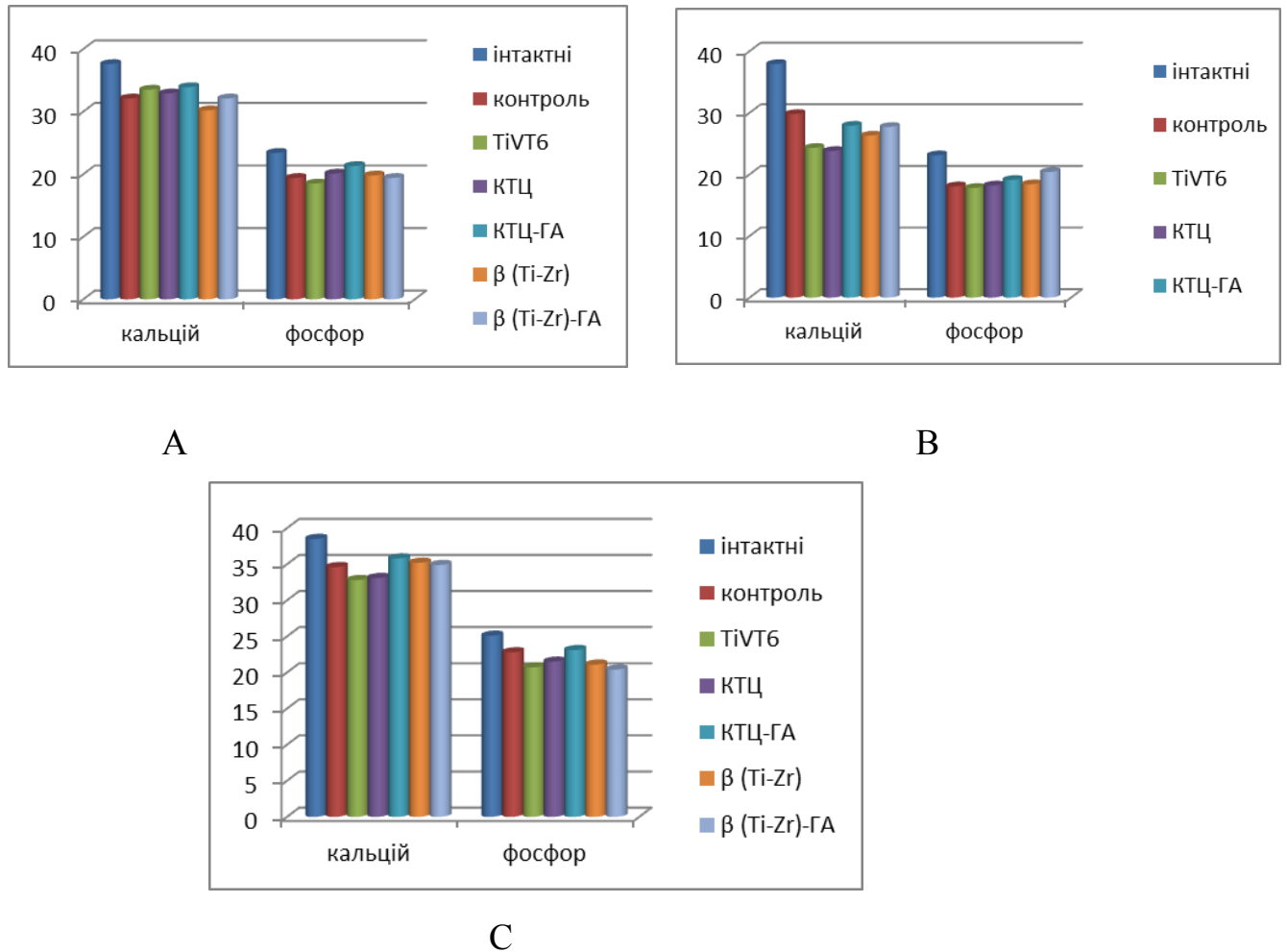


Рисунок 3.5 - Вміст кальцію та фосфору в діафізі (А), дистальному (В) та проксимальному (С) епіфізах стегнових кісток тварин інтактної, контрольної та експериментальної серії через місяць спостереження

Покриття сплаву КТЦ-125 гідроксиапатитом призводить до зменшення його корозії та вивільнення іонів цирконію та ніобію в оточуючі тканини. β (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).

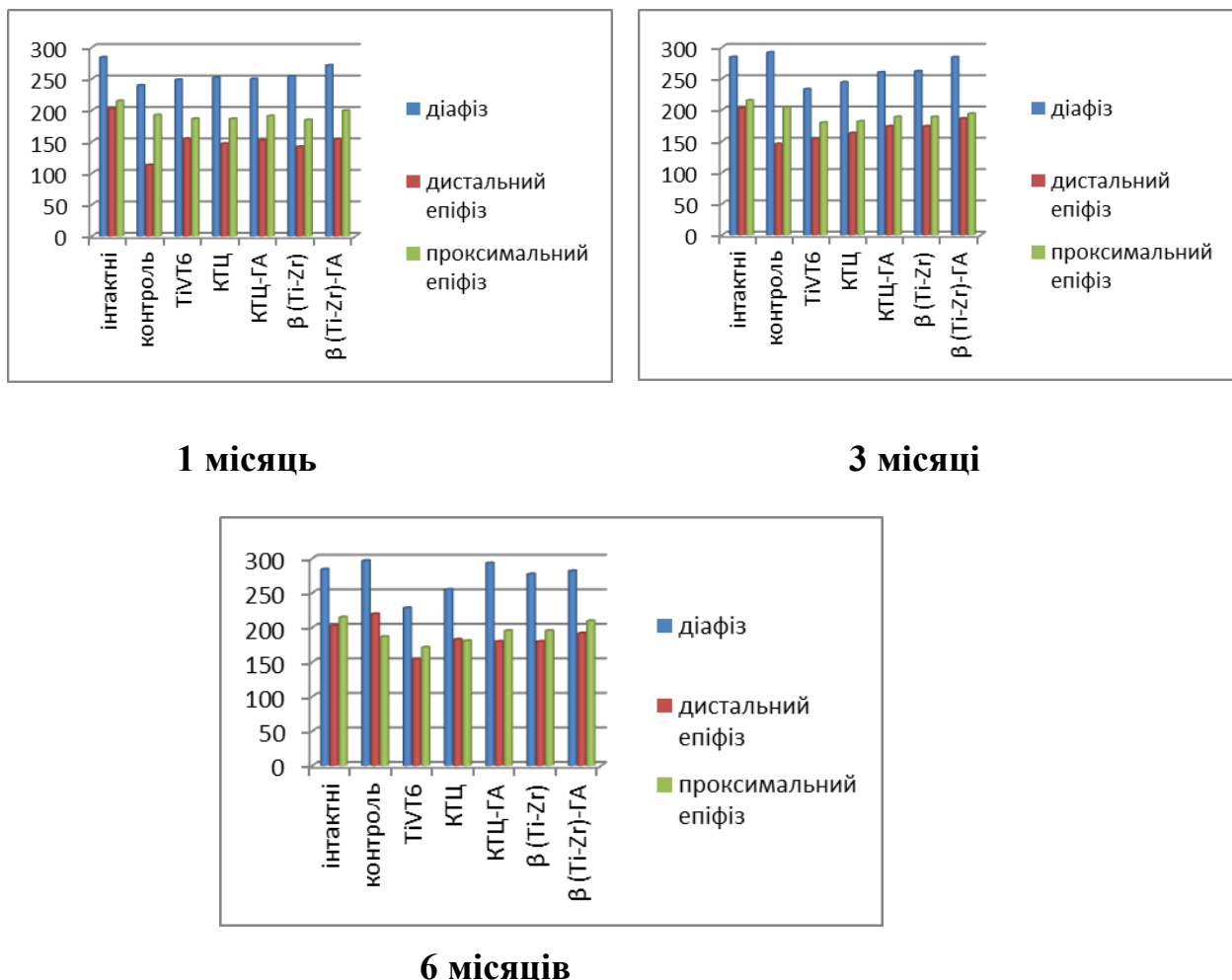


Рисунок 3.6 - Число твердості кісткової тканини тварин інтактної, контрольної та експериментальної серії через в різні терміни спостереження

Через місяць після імплантації металевих протезів спостерігається зменшення числа твердості кісткової тканини, особливо в періімплантаційній зоні. За рахунок зменшення ефекту стресового зміщення при використанні гідроксиапатитного покриття та використання низькомодульного сплаву число твердості кістки в діяфізі 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 β (Ti-Zr) та β (Ti-Zr) з гідроксиапатитним покриттям.

Таким чином, імплантація металевих протезів в дистальний відділ стегнової кістки призводить до розвитку періостальної 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 β (Ti-Zr) та його модифікація гідроксиапатитом запобігає утворенню мікротріщин та втраті якості кісткової тканини.

ВИСНОВКИ

1. Імплантація в дистальний епіфіз сплаву TiVT6 призводить до утворення грубоволокнистої кісткової тканини навколо простезу, утворення поодиноких ділянок розвитку сполучної тканини та активації процесів ремоделювання як в періімплантаційній зоні, так і на віддалених ділянках. Активність перебудови кістки зберігається в усі терміни спостереження та призводить до зменшення кількості кальцію до 35,89% ($p \leq 0,05$) та фосфору до 24,58% ($p \leq 0,05$) на поверхні кістки а також та зниженню числа твердості до 23,7 % ($p \leq 0,05$) 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.

2. 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 тканини через 3 місяці після операції, в стегновій кістці спостерігається наявність мікротріщин та мікропереломів і зменшення числа твердості навіть через 6 місяців спостереження від 14,06% ($p \leq 0,05$) до 16,81% ($p \leq 0,05$) в залежності від ділянки кістки.

3. Імплантація в дистальний епіфіз сплаву β -(Ti-Zr), який має низький модуль пружності та стійкий оксидний шар, призводить до формування щільного шару кісткової тканини навколо простезу, що підвищує його інтеграцію. Зменшення градієнту міцності в системі «імплантат-кісткова» тканина призводить до розвитку мінімальних змін структури, хімічного складу та біомеханічних параметрів кістки в усі терміни спостереження.

4. 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 остеointegraції призводить до зниження активності процесів ремоделювання, зокрема зменшення кількості одиниць ремоделювання у

порівнянні зі сплавами без покриття до показників контролю, попереджує втрату кальцію та зниження мікротвердості. Гідроксиапатитне покриття β -(Ti-Zr) сплаву забезпечує відсутність ефекту стресового зміщення та розвиток мікроушкоджень кісткової тканини.

5. Елементний склад кістки при імплантації металевих простезів характеризується втратою кальцію та фосфору в усіх відділах кістки. Найбільша різниця з контролем спостерігається при імплантації сплаву TiVT6 – до 35,89% ($p \leq 0,05$) та 24,58% ($p \leq 0,05$) 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% ($p \leq 0,05$) та знижує вивільнення складових елементів імплантату у навколишні тканини і їх міграцію у віддалені ділянки органу.

ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ

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 proliferation 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. Hovhannisyanyan 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 Ostml 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 rodent embryos / 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) and vascular 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- α signaling / L. Gerstenfeld, T. Cho, T. Kon // *Cells Tissues Organs.* – 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- κ 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. Gravallese // *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 κ 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, CO₃²⁻-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. Niinimäki T. A proximal fixed anatomic femoral stem reduces stress shielding / T. Niinimäki, J. Junila, P. Jalovaara // *Intl. Orthopaedics.* – 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-kB 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. - 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 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 67th 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 15th ASCE Engineering Mechanics Conference, Columbia University, New York*. - 2002
121. RANKL maintains bone homeostasis through c-Fos dependent induction of interferon- β / 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, Teng-vall 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 H₂SO₄/H₂O₂ 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 all. // *Biomaterials.* – 2003. – V. 24. – P. 2631–2641.
156. Tumor necrosis factor- α 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 інтактної та травмованої кістки/ В.З. Сікора, В.І. Бумейстер, М.В. Погорєлов [та ін.] // *Світ медицини та біології.*- 2009. - №3.- С. 149-153.
165. Використання пористих нанокompозитних 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 культуры пластинчатой костной ткани *in vitro*/ 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 Пирогівські 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 раннього 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. Погорєлов, 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 інтактної та травмованої 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.