

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, проф.
_____ А.М. Черноус

ЗВІТ
ПРО НАУКОВО–ДОСЛІДНУ РОБОТУ

**ФУНКЦІОНАЛІЗАЦІЯ ПОВЕРХНІ ТИТАН-ЦИРКОНІЄВИХ СПЛАВІВ
З МЕТОЮ СТИМУЛЯЦІЇ ПРОЦЕСІВ ОСТЕОІНТЕГРАЦІЇ
ДЕНТАЛЬНИХ ІМПЛАНТІВ. ВИЗНАЧИТИ ОПТИМАЛЬНУ
ФОРМУ ПОВЕРХНІ ТИТАН-ЦИРКОНІЄВИХ СПЛАВІВ ТА
СПОСІБ ЇЇ СТВОРЕННЯ
(проміжний)**

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

М.В. Погорелов

2017

Рукопис закінчено __ вересня 2017 р.

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

СПИСОК АВТОРІВ

Керівник теми, проф., д.мед.н.	_____ __._.2017 р.	М. Погорелов (заг. редакція, розділ 1, висновки)
к.мед.н.	_____ __.09.2017 р.	О. Олешко (редакція, розділ 2)
аспірант	_____ __.09.2017 р.	Н. Зайцева (розділ 1, 3)
н.с	_____ __.09.2017 р.	В. Дейнека (розділ 3)
студент	_____ __.09.2017 р.	І. Любчак (розділ 2)

РЕФЕРАТ

Звіт про НДР: 40 с., 13 рис., 70 джерел.

ІМПЛАНТАТИ, ОСТЕОІНТЕГРАЦІЯ, ПОВЕРХНЯ, ПРОФІЛОМЕТРІЯ.

Об'єкт дослідження: кісткова тканина.

Мета роботи – встановити особливості регенерації кісткової тканини за умов нанесення дірчастого дефекту.

Предмет дослідження – будова кісткової тканини в умовах післятравматичної регенерації.

Методи дослідження: гістологія, растрова електронна мікроскопія, біомеханічні методи, морфометрія.

В роботі встановлені особливості будови кісткової тканини в нормі та за умов нанесення дірчастого дефекту. Отримані дані будуть використані при аналізі впливу різних типів імплантатів на процеси регенерації.

ЗМІСТ

Вступ	4
1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	7
1.1 Регуляція процесів остеоінтеграції навколо імплантатів різного складу.....	7
2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	17
3 ОСОБЛИВОСТІ РОСТУ, БУДОВИ, ХІМІЧНОГО СКЛАДУ ТА МІКРОТВЕРДОСТІ КІСТОК ТВАРИН ІНТАКТНОЇ ТА КОНТРОЛЬНОЇ СЕРІЙ	18
3.1 Ріст, будова, хімічний склад та мікротвердість кісткової тканини інтактних тварин	18
3.2 Ріст, будова, хімічний склад та мікротвердість кісткової тканини різних відділів стегнової кістки після нанесення дірчастого дефекту	22
Висновки	34
Перелік джерел посилання	35

ВСТУП

Використання металевих імплантатів бере свій початок з середини 20 сторіччя, коли почали широко використовувати простези з нержавіючої сталі для пластики кульшового суглоба. 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 біосумсності.

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%. На відсоток ускладнень 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 тканини внаслідок явища стресового зміщення з подальшим розвитком гіпермобільності імплантату та його недостатності. Стресове зміщення виникає внаслідок невідповідності щільності імплантату щільності кісткової тканини, яка його оточує. В нормі, навантаження, яке діє на орган рівномірно розповсюджується по кістковій тканині, що визначає активність процесів ремоделювання і формоутворення органу. За умов імплантації більш щільного матеріалу більша частина навантаження сприймається безпосередньо штучним протезом і навколо нього формується зона низької щільності, що призводить до втрати кісткової тканини навколо матеріалу.

Мета роботи – встановити особливості регенерації кісткової тканини за умов нанесення дірчастого дефекту.

Об'єкт дослідження: кісткова тканина.

Предмет дослідження – будова кісткової тканини в умовах післятравматичної регенерації.

Методи дослідження: гістологія, растрова електронна мікроскопія, біомеханічні методи, морфометрія.

1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 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 а «старіння» населення планети буде призводити до росту кількості хвороб, які пов'язані з кістковою системою. 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. 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.

Основними первинними властивостями матеріалів, які використовуються для заміщення кісткових дефектів чи імплантації є механічні властивості та біосумісність. 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. 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. 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. На початку 60-х років минулого століття для пластики стегна почали використовувати імплантати з нержавіючої сталі з покриттям ділянки головки стегна політетрафтороетиленом. Проте, через низьку зносостійкість, нержавіючу сталь замінили на кобальт-хром-молібденовий сплав, а політетрафтороетилен – на високомолекулярний поліуретан. Обидва матеріали показали високу стійкість до зношування. На сьогодні також застосовуються інші сплави на основі алюмінію, цирконію, танталу тощо.

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. 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.

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. 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. Дана проблема виникає коли імплантат забирає частину фізіологічного навантаження на орган, що призводить до розвантаження кістки навколо штучного матеріалу. В нормі навантаження з верхньої частини тіла передається на головку стегнової кістки і далі через шийку – на проксимальну і дистальну частину діяфізу. За умов імплантації протезу відбувається розвантаження проксимального відділу діяфізу 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. Наявність значного навантаження спостерігається не лише в ділянці протезу стегнової кістки. Так, значне навантаження спостерігається також на зубні імплантати – жувальний цикл повторюється близько 1×10^5 разів на рік з середнім навантаженням на щелепу біля 700 Н.

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. Утворення повноцінної кісткової тканини 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.

Основною остеоінтеграції 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. Текстура імплантату, його хімічний склад та топографія мають ключове значення в процесі остеоінтеграції. Так, доведеним є факт, що адгезія остеобластів та їх проліферація є більш активними на нерівній поверхні. За даних умов спостерігається більш виражена експресія матриксних кісткових протеїнів, лужної фосфатази та остеокальцину. Rosa A.L. та співавтори довели, що проліферація остеобластів на рівній поверхні титанових імплантатів відбувається удвічі повільніше у порівнянні з модифікованою нерівною поверхнею. Також в культурі остеобластів MG63 доведено більшу вираженість експресії ростових факторів при культивуванні на нерівній поверхні. 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 остеоінтеграції. Доведено, що наявність нанорозмірних нерівностей на поверхні імплантату підвищує адгезію сигнальних молекул, зокрема білків кісткового матриксу, які здатні стимулювати процеси проліферації остеобластів. На культурі клітин доведено, що наявність кальцій фосфату та ростових факторів на поверхні імплантату також має значний стимулюючий вплив на процеси остеоінтеграції.

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.

Проте, за свідченням більшості авторів, головною проблемою взаємодії в системі «кістка – імплантат» є адекватні механічні та біосумісні властивості останнього. 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. 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 змінам в оточуючих матеріал тканинах.

Металеві конструкції, використовуються у відновній медицині завдяки їх високим механічним властивостям. Проте, модуль еластичності кісткової тканини, який коливається від 10 до 20 ГПа, значно менший за аналогічний показник титану та нержавіючої сталі, модуль еластичності яких становить 118 ГПа та 206 ГПа відповідно. 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.

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.

З початку 90-х років минулого століття були проведені дослідження з імплантатами на основі пористих кобальт-хромових сплавів, які мають зменшену жорсткість. 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. 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. 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. 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. Останнім часом обидва методи застосовуються для формування нонорозмірних ділянок на поверхні імплантату, що дозволяє абсорбувати на собі біомолекули та іони, здатні збільшувати біосумісність імплантату. 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.

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. Останніми роками дослідження сфокусовані на модифікацію кальцій фосфатних покриттів для збільшення ефективності матеріалів. Основними модифікаціями можна вважати кремній та стронцій вмістний ГА, магній заміщений ГА, карбонатований та флюорований ГА а також срібровмістний ГА.

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. 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. Альтернативою білкам міжклітинного кісткового матриксу є такі біомолекули, як кісткові морфо генетичні білки, трансформуючий ростовий фактор-бета, фактор росту фібробластів та інсуліноподібний фактор росту. 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.

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. Застосування зазначених композитів створює більш сприятливі умови для процесів утворення кристалів гідроксиапатиту у порівнянні з імплантатами, які мають лише органічне чи неорганічне покриття. 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. Окрім факторів, які підвищують остеогенні властивості базового покриття, використовують срібло та антибактеріальні препарати для надання

антибактеріального ефекту а також бісфосфонанти для використання у пацієнтів з остеопорозом.

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. В процесі взаємодії в системі «імплантат-кісткова тканина» відбувається поступова дуже повільна деградація штучного матеріалу в незалежності від його складу. 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.

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. 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. Дослідження на культурі клітин довели, що дані продукти деградації сплавів активують макрофаги та моноцити і здатні викликати резорбцію кістки.

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. 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.

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 металів в токсичній концентрації, проте навіть невеликі дози іонів здатні викликати специфічну та неспецифічну імунну реакцію та бути канцерогенами.

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.

2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

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 мм², ширину остенів та їх каналів а також щільність клітин (остеобластів та остеоцитів на 1 мм²). В препаратах епіфізів вимірювали товщину трабекул, щільність клітин (остеобластів та остеоцитів на 1 мм²) та ширину одиниць ремоделювання і їх кількість на 1 мм².

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 епіфізи вкриті 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 базofilьну 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.

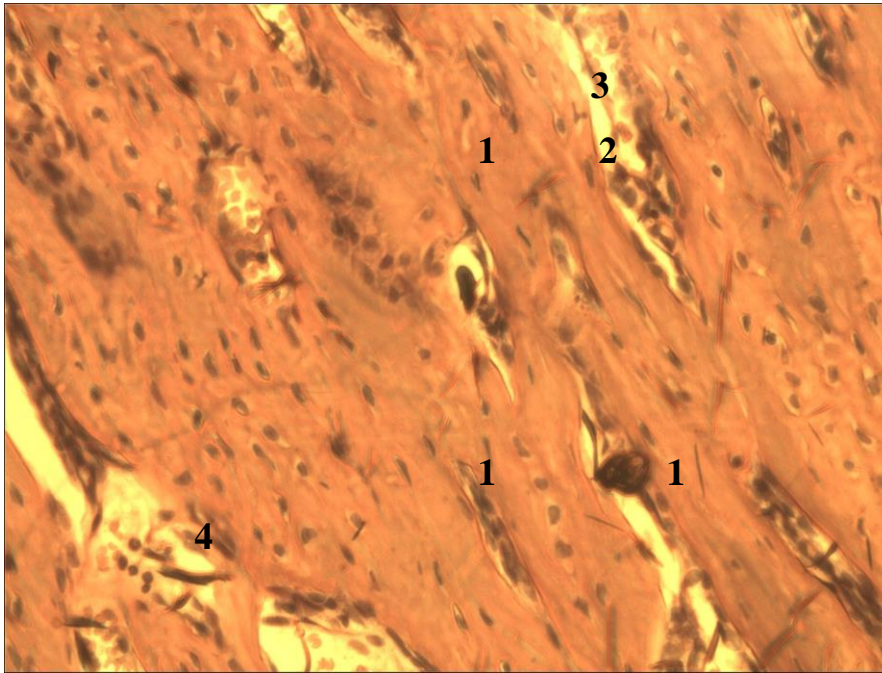


Рисунок 3.1 – Ділянка проксимального епіфізу стегнової кістки кроля тварин інтактної серії. Забарвлення Гематоксилін-Еозин, зб. X 400:

1. Кісткова трабекула,
2. Міжтрабекулярний простір,
3. Червоний кістковий мозок,
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 остеоцити, які мають чисельні відростки, які 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 остеоїд.

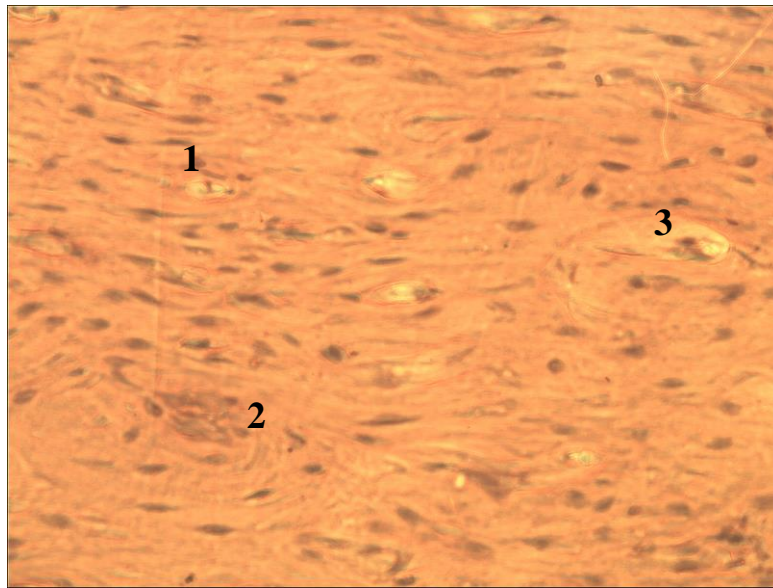


Рисунок 3.2 - Ділянка діяфізу стегнової кістки кроля тварин інтактної серії.

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 мм² в проксимальному та дистальному епіфізі становила 13,6±1,5 клітин на противагу 6,9±0,5 – у діяфізі. Кількість остеоцитів достовірно не відрізнялась в різних ділянках кістки та становила відповідно 6,3±0,4 клітин на 1 мм² в діяфізі та 7,2±1,1 і 6,9±0,8 – в проксимальному та дистальному епіфізах. Кількість одиниць ремоделювання в епіфізах також достовірно перевищувала кількість конусів ремоделювання в діяфізі – 4,2±1,1 од/мм² та 2,3±0,5 од/мм² відповідно. Ширина

конусів ремоделювання в діяфізі становила в середньому $205,5 \pm 14,3$ мкм, одиниць ремоделювання в кістковій речовині епіфізів – $186,7 \pm 11,8$ мкм. Ширина остенів в діяфізі складала в середньому $53,6 \pm 3,5$ мкм, розмір каналу остеона – $19,5 \pm 1,5$ мкм. Товщина трабекул губчастої речовини епіфізів становила $165,8 \pm 16,1$ 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 $37,6 \pm 2,5$ ваг% і $23,4 \pm 1,1$ ваг%, в дистальному епіфізі - $37,9 \pm 2,1$ ваг% і $23,6 \pm 1,7$ ваг% та в проксимальному епіфізі - $38,5 \pm 3,8$ ваг% і $25,1 \pm 2,3$ 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 $0,5 \pm 0,3$ ваг% на поверхні діяфізу та до $0,9 \pm 0,3$ ваг% - в тканині проксимального епіфізу стегнової кістки.

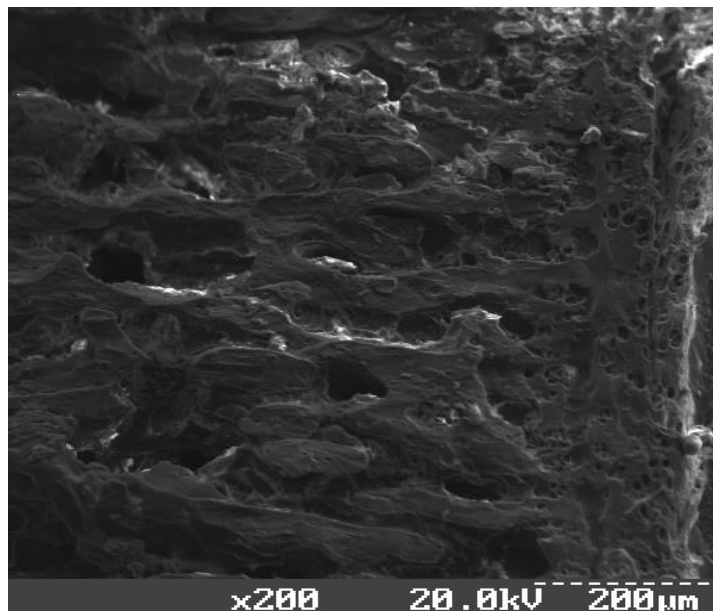


Рисунок 3.3 - Растрова електронна мікроскопія губчастої речовини проксимального епіфізу стегнової кістки тварин інтактної серії

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 $284,1 \pm 8,2$ кгс/мм². Даний параметр губчастої речовини проксимального та дистального епіфіза є дещо менший та складає відповідно $214,8 \pm 4,5$ кгс/мм² та $202,6 \pm 8,6$ кгс/мм².

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 діяфізом.

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. 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 діяфізу 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 ($p=0.01$). Збільшення ширини діяфізу 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). У зрілому віці повздовжній ріст уповільнюється у порівнянні з особинами молодого віку. 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 $14,3 \pm 0,3$ мм і через 6 місяців – $16,1 \pm 0,4$ мм та $14,8 \pm 0,6$ мм. Таким чином, помітне зменшення ширини дистального епіфізу через 3 місяці після травми у порівнянні з першим терміном спостереження, що свідчить про зменшення периостального кісткового мозолу 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. Враховуючи збереження васкуляризації та окістя навколо дірчастого дефекту, можна припустити, що процеси ремоделювання в нашому експерименті завершуються до 3-го місяця спостереження.

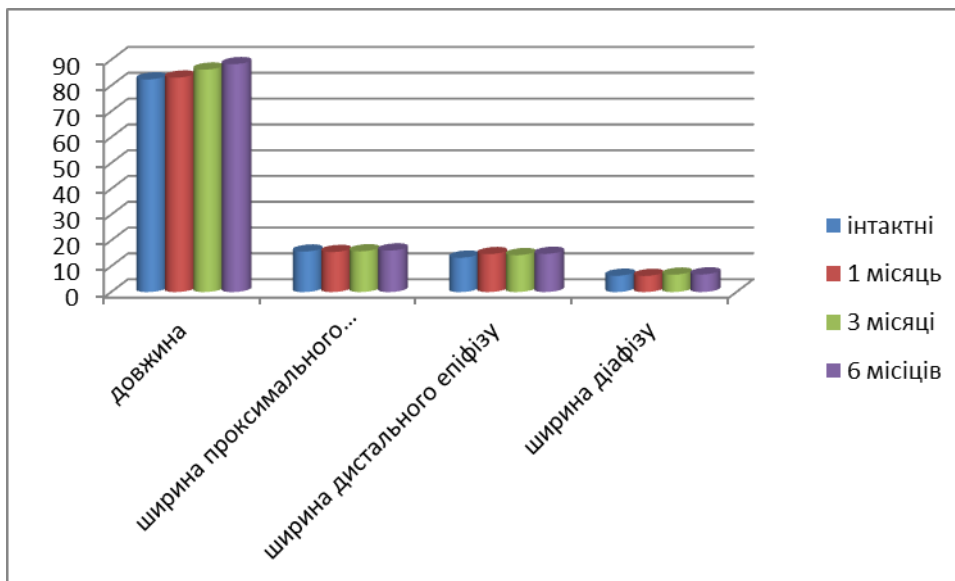


Рисунок 3.4. - Динаміка зміни остеометричних показників стегнової кістки кроля в різні терміни після нанесення дірчастого дефекту в дистальному відділі кістки

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 остоніх знаходиться значна кількість активних остеообластів, які секретують міжклітинний матрикс. Міжтрабекулярний простір заповнений здебільшого гемопоетичними клітинами.

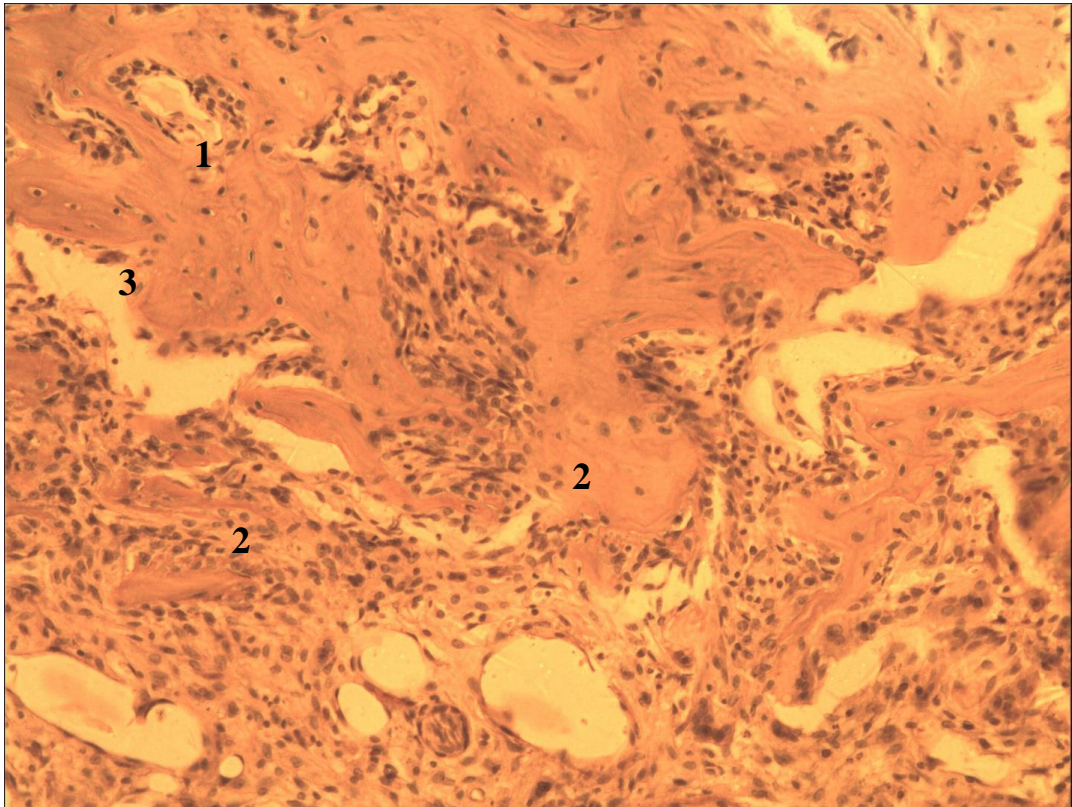


Рисунок 3.5 - Ділянка дистального епіфізу стегнової кістки кроля тварин контрольної серії через місяць після нанесення дірчастого дефекта. Забарвлення

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.

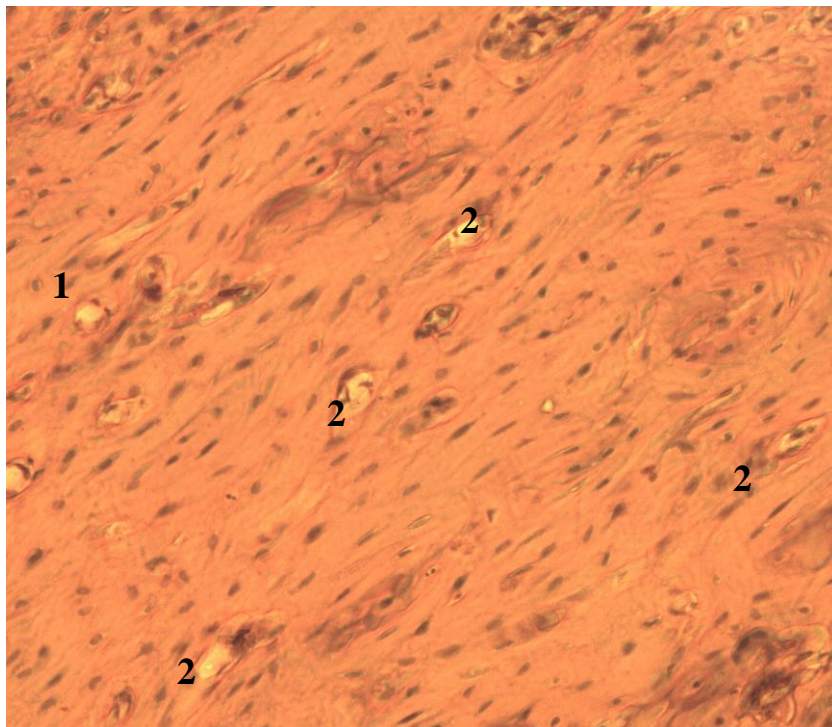


Рисунок 3.6 - Ділянка середини діяфізу стегнової кістки кроля тварин контрольної серії через місяць після нанесення дірчастого дефекта. Забарвлення Гематоксилін-Еозин, зб. X 140:

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 $26,3 \pm 2,1$ клітин на мм^2 , в

проксимальному – $18,6 \pm 0,9$ клітин на мм^2 , в діяфізі – $13,5 \pm 1,2$ клітин на 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 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^2 , в проксимальному епіфізі – $5,9 \pm 0,9$ од/ мм^2 та в діяфізі – $4,1 \pm 1,2$ од/ мм^2 . Розміри конусів ремоделювання в діяфізі зросла до $264,6 \pm 21,8$ 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 та зростання діаметру їх каналів до $24,1 \pm 2,5$ мкм. 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. Значне зменшення товщини трабекул обумовлене формуванням нових незрілих структур на місці втраченої кістки.

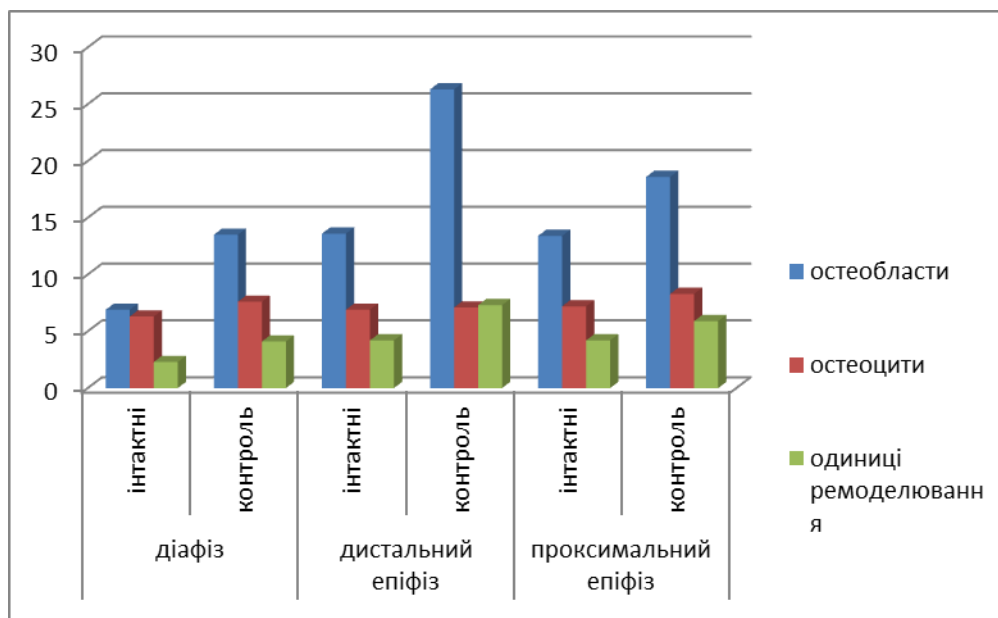


Рисунок 3.7 - Показники морфометрії різних ділянок стегнової кістки кролів через 3 місяці після нанесення травми в дистальному епіфізі.

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%, фосфору – $18,06 \pm 0,87$ ваг%, 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%, фосфору – $19,4 \pm 0,51$ ваг%.

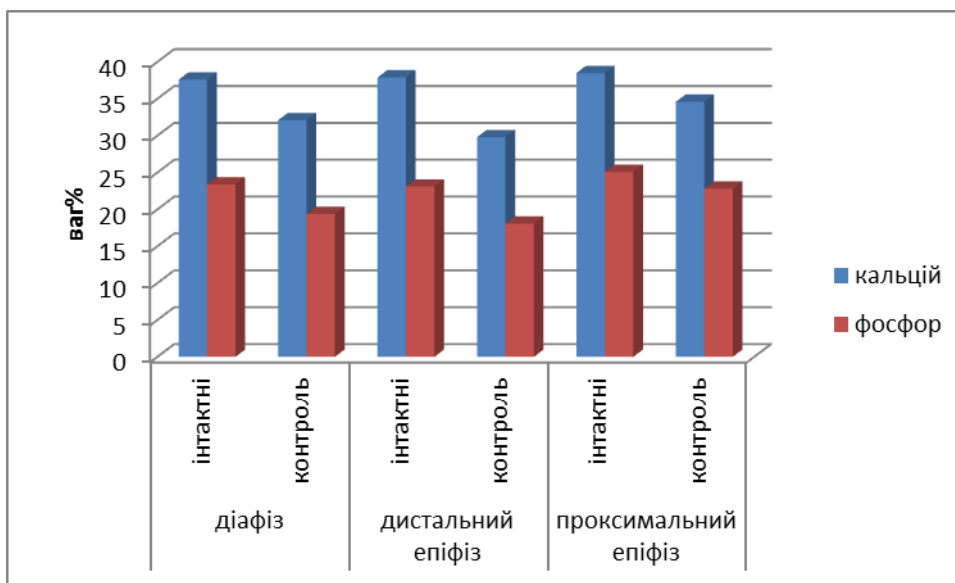


Рисунок 3.8 - Вміст кальцію та фосфору в різних ділянках стегнової кістки кроля через місяць після нанесення травми в дистальному епіфізі

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% 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/мм², 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/мм² та $192,5 \pm 7,9$ кгс/мм².

Через 3 місяці після травми відмічається формування повноцінної кісткової тканини на місці дефекту в дистальному епіфізі (рис. 3.9). Кісткові трабекули мають звичну будови та формують сітку з міжтрабекулярними просторами, вповненими 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 мм², 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. Кількість клітин становить $9,2 \pm 0,5$ клітин на мм². 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 мм² відповідно. В діяфізі відбувається зменшення кількості остеобластів у порівнянні з попереднім терміном

спостереження до $10,2 \pm 0,7$ клітин на 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 мм^2 .

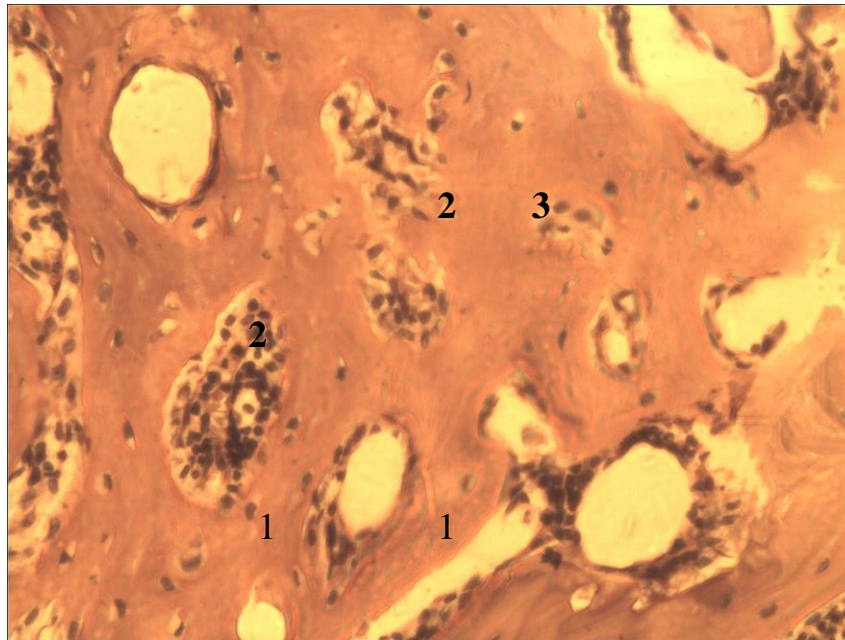


Рисунок 3.9 - Ділянка дистального епіфізу стегнової кістки кроля тварин контрольної серії через 3 місяці після нанесення дірчастого дефекту. Забарвлення Гематоксилін-Еозин, зб. X 400:

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

Кількість одиниць ремоделювання в проксимальному епіфізі становить $4,5 \pm 0,2$ од/ 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^2 , 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 рави 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, в проксимальному епіфізі залишається без змін – $169,6 \pm 2,8$ мкм.

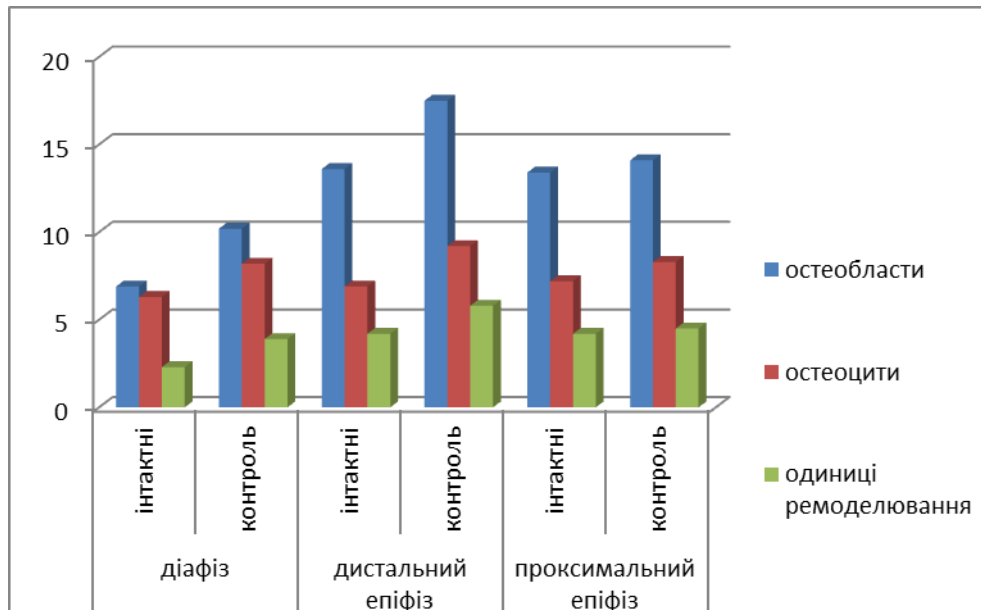


Рисунок 3.10 - Показники морфометрії різних ділянок стегнової кістки кролів через 3 місяці після нанесення травми в дистальному епіфізі

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% та $20,1 \pm 0,8$ ваг%.

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/мм², 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/мм² і $203,4 \pm 8,1$ кгс/мм².

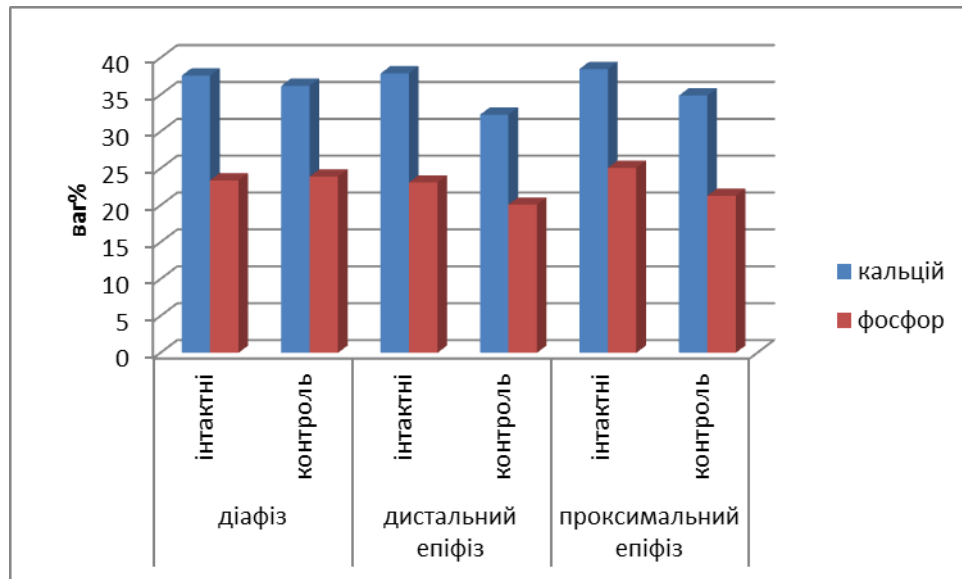


Рисунок 3.11 - Вміст кальцію та фосфору в різних ділянках стегнової кістки кроля через 3 місяці після нанесення травми в дистальному епіфізі

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 мм², в компактній речовині діафізу – $7,2 \pm 0,7$ клітин на мм². 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 мм². 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/мм², $4,3 \pm 0,6$ од/мм² та $2,5 \pm 0,4$ од/мм². Ширина багатоклітинних кісткових одиниць становила від $193,6 \pm 13,6$ мкм в дистальному епіфізі до $209,8 \pm 18,5$ мкм – в діяфізі. Діаметр структурних одиниць діяфізу – остенів склав $56,3 \pm 8,6$ мкм, їх каналів – $18,3 \pm 2,8$ мкм, що не відрізняється від даних інтактною серії тварин (рис. 3.12).

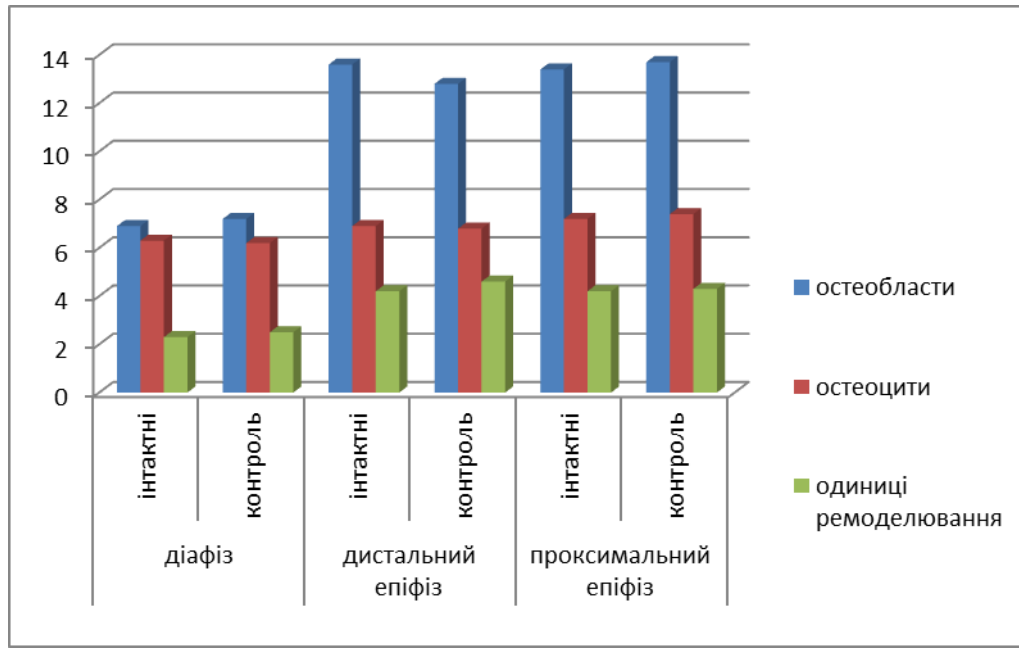


Рисунок 3.12 - Показники морфометрії різних ділянок стегнової кістки кролів через 6 місяців після нанесення травми в дистальному епіфізі

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/мм², в дистальному та проксимальному епіфізах – відповідно $219,6 \pm 16,3$ кгс/мм² та $208 \pm 11,5$ кгс/мм².

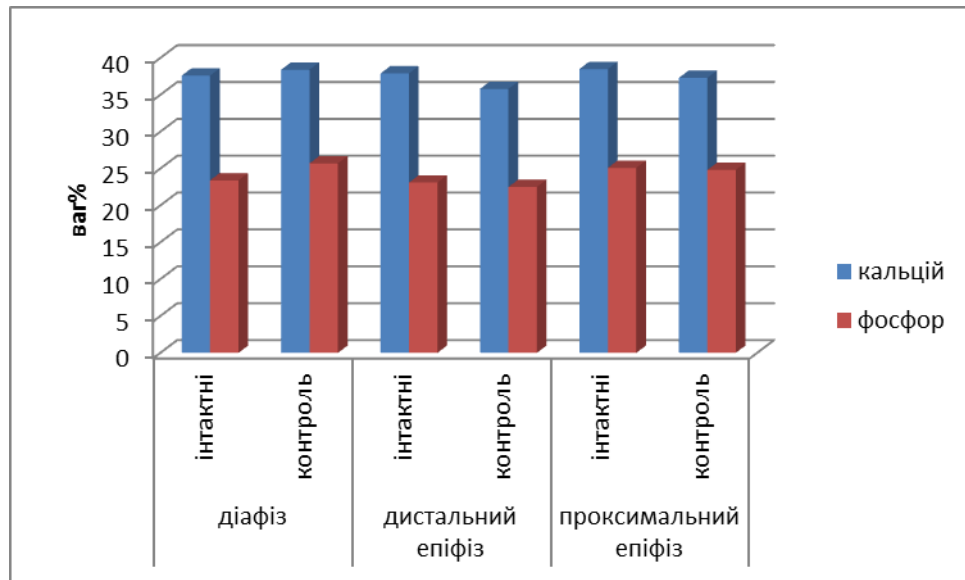


Рисунок 3.13 - Вміст кальцію та фосфору в різних ділянках стегнової кістки кроля через 6 місяців після нанесення травми в дистальному епіфізі

Таким чином, травма кістки є чинником, який стимулює активність процесів ремоделювання у всьому ушкодженному органі. Відновлення втраченої тканини завершується через 1 місяць після травми та супроводжується втратою кальцію і фосфору як в діафізі, 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.

ВИСНОВКИ

1. Травма кістки спричиняє активацію механізмів, направлених 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 витонщенні трабекул губчастої речовини до 28,98% ($p \leq 0,05$) зменшенні кількості кальцію до 21,38% ($p \leq 0,05$) та фосфору до 23,48% ($p \leq 0,05$) і зниженні мікротвердості на 44,28% ($p \leq 0,05$).

2. 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.

3. Відновлення будови, хімічного складу кістки та числа твердості відбувається лише через 6 місяців після нанесення травми.

ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАНЬ

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. 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. 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.
50. 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.
51. Hall B.K. Craniofacial development of avian and rodent embryos / B.K. Hall, T. Miyake // *Methods Mol Biol.* – 2000. – V. 135. – P. 127–137.
52. 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.
53. 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.
54. Hong M. Laser assisted surface nanopatterning // M. Hong // *Sens Actuators A: Phys.* – 2003. – V. 108. – P. 69–74.

55. Paul G.P. Strength requirement for internal and external prostheses / G.P. Paul // *J. Biomechanics*. – 1999. – V. 32. – P. 381-393
56. Periimplant osteogenesis in health and osteoporosis / F. Marco, O. Milena, G. Gianluca, O. Vittoria // *Micron*. – 2005. – V. 36. – P. 630–644.
57. Perivascular ancestors of adult multipotent stem cells // M. Corselli, C.W. Chen, M. Crisan // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. – 2010. – V. 30. - 1104–1109.
58. 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.
59. 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.
60. 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.
61. 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.
62. 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.
63. Sato K. Osteoclast, rheumatoid arthritis and osteoimmunology / K. Sato, H. Takayanagi // *Curr Opin Rheumatol*. – 2006. – V. 18. – P. 419-426.
64. Schliephake H. Chemical and biological functionalization of titanium for dental implants / H. Schliephake, D. Scharnweber // *J. Mater. Chem*. – 2008. V. 18. – P. 2404–2414.
65. 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.

66. 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.
67. Silver-doped calcium phosphate cements with antimicrobial activity / A. Ewald, D. Hösel, S. Patel et al.// *Acta Biomater.* – 2011. – V. 7. – P. 4064–4070.
68. 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.
69. 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.
70. Solheim E. Growth factors in bone / E. Solheim // *Int. Orthop.* – 1998. – V. 22. – P. 410–416.