

Kryvets'kyi V.V., Protsak T.V., Haina N.I., Kozar O.M.
Bukovinian State Medical University

MORPHOGENESIS OF THE MAXILLARY SINUS STRUCTURE DURING HUMAN ONTOGENESIS

Summary

Due to the large number of surgical interventions on the paranasal sinuses and because of congenital and developmental abnormalities in fetuses, infants and young children significantly increased interest surgeons and researchers to more detailed study morphogenesis and morphology of maxillary sinuses.

Keywords: maxillary sinus, development, ontogenesis, human.

УДК 617.3:577.1-534.8-57.089.67

ДИНАМІКА БІОХІМІЧНИХ МАРКЕРІВ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗУ У ЩУРІВ З ТИТАНОВИМ ІМПЛАНТАТОМ ПІД ВПЛИВОМ УЛЬТРАЗВУКУ

Морозенко Д.В., Маколінець В.І., Шевцов Б.М., Гуліда Т.І.
Інститут патології хребта та суглобів імені професора М.І. Ситенка
Національної академії медичних наук

У статті наведені та проаналізовані результати біохімічних досліджень показників репаративного остеогенезу. Було досліджено в сироватці крові наступні біохімічні показники: загальний білок, кальцій, глікопротеїни, хондроїтинсульфати і активність лужної фосфатази. Дані маркери відображають перебіг репаративного остеогенезу у щурів з імплантованим в стегову кістку титановим імплантатом. У досліді було використано 89 щурів. Дослідження проведені в умовах впливу на післяопераційну зону низькоінтенсивного імпульсного ультразвуку різної інтенсивності.

Ключові слова: репаративний остеогенез, щури, титановий імплантат, біохімічні маркери, глікопротеїни, хондроїтинсульфати, ультразвук.

Постановка проблеми. Як свідчать численні приклади з ортопедичної практики при оперативних втручаннях реконструктивно-відновного характеру широко використовуються різні біоматеріали, якими заміщують дефекти кісток, або які застосовуються у якості фіксаторів та ендопротезів суглобів [6]. За даними літератури термін їх повноцінного справного функціонування переважно нетривалий, причиною чого є, здебільшого, ослаблення фіксації та розхитування ендопротезу або нестабільність металоконострукції.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. З метою оптимізації взаємодії у системі «кістка – імплантат» і процесу репаративного остеогенезу у ділянці кістки, суміжній з імплантатом, поряд з іншими терапевтичними методами використовують також і фізичні засоби. Найчастіше при лікуванні uszkodжень кісток у клінічній практиці застосовують ультразвук (УЗ) [4]. Терапевтична ефективність ультразвуку обумовлена підвищенням об'єму судинної мікроциркуляції, активацією тканинних ферментів, підвищенням проникливості клітинних мембран. При дії УЗ з інтенсивністю у діапазоні 0,3-0,6 Вт/см² відбувається активація лізосом, підвищення активності гідролаз, зокрема лужної фосфатази [3]. Такі ж дані наводять і В.С. Улащик та співавтор [4]. В літературі також мають місце дані про стимулюючу дію імпульсного УЗ на окремі ланки

репаративного остеогенезу на різні терміни після травми [8-11]. Проте існує низка невивчених питань стосовно прояву дії імпульсного УЗ і, зокрема, при введенні у кісткову тканину металевих імплантатів із титану та його сплавів [2], можливого стимулювання чи пригнічення імпульсним ультразвуком можливостей репаративного остеогенезу, позитивної чи негативної дії УЗ на перебудову структури кістки в ділянці контакту із металевим імплантатом.

Метою даної роботи було дослідити в експерименті на тваринах та оцінити характер динаміки показників азотистого і білково-вуглеводного обміну та метаболізму кісткової тканини у ділянці стегової кістки щурів, суміжній з імплантованим в неї титановим зразком в умовах впливу імпульсного УЗ різної інтенсивності.

Матеріали та методи. Експеримент проведено на 89 білих щурах популяції експериментально-біологічної клініки ДУ «ІПХС ім. проф. М.І. Ситенка НАМН України» (вік – 6 місяців, маса тіла – від 330 до 380 г). Під час роботи зі щурами дотримувались міжнародних вимог гуманного ставлення до піддослідних тварин та положень «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються у експериментальних і інших наукових цілях» (директива 86/609/ЕЕС) [5]. План експерименту та відповідність його виконання сучасним вимогам біоетики затверджені Комітетом із біоетики ДУ «ІПХС ім. М.І. Ситен-

ка НАМНУ» (протокол № 44 від 22.10.2010 р.). У щурів моделювали у дистальній ділянці стегнової кістки стандартний дірчастий дефект та вводили в нього титановий імплантат. Тварини були розподілені на дві великі групи – серії (відповідно до серії експериментів) за принципом початку сеансів дії УЗ коливань: через 3 та через 7 дб після імплантації титанового зразка. У серії щурів з початком дії УЗ через 3 доби після операції з імплантації було виділено 2 групи згідно з термінами виведення з експерименту: через 14 та 45 дб після імплантації. Серія тварин, на яких починали впливати імпульсним УЗ через 7 дб після операції з імплантації, була розподілена на 3 групи у відповідності з термінами евтаназії: через 14, 28 та 45 дб після встановлення титанової металокоплекції. У кожній з перерахованих 5 груп щурів було виділено по 2 підгрупи відповідно до величин діючого імпульсного УЗ: 0,4 Вт/см² і 0,7 Вт/см², а також контрольну підгрупу.

Оцінку кінетики біохімічних показників метаболізму кісткової тканини з імплантованими у стегнову кістку зразками титанових металокоплекцій під впливом імпульсного ультразвуку проводили за наступними показниками сироватки крові щурів: вміст глікопротеїнів та загального білку, концентрація кальцію, рівень вмісту хондроїтинсульфатів, активність лужної фосфатази. Дані показники відображають стан азотистого та білково-вуглеводного обміну, зокрема у системі «протеоглікани – колаген», та стан окремих ланок репаративного остеогенезу [1].

Результати та їх обговорення. Результати біохімічного обстеження сироватки крові щурів з титановими імплантатами, яким починали сеанси дії УЗ з 3-ї доби після трансплантації, наведені у таблиці 1. По відношенню до контролю вірогідних відмінностей у результатах визначення концентрації глікопротеїнів у сироватці крові щурів обох дослідних груп не встановлено. При порівнянні з інтактними тваринами зафіксовані вірогідно вищі показники у всіх дослідних та контрольних тварин на терміни спостереження. Спостерігалась тенденція до зближення показників глікопротеїнів у прооперованих щурів з їх величинами у інтактних тварин по мірі подовження терміну дослідження при застосуванні обох режимів впливу УЗ. Встановлені дані свідчать про сприятливу дію даного чинника на нормалізацію обміну олігосахаридів, що відіграють важливе значення при остеогенезі. При аналізі вмісту загального білка відмічається вірогідна різниця між його показниками у контролі на 14 добу та значеннями його вмісту у сироватці крові щурів при дії УЗ з інтенсивністю 0,7 Вт/см², а через 45 дб аналогічна залежність спостерігалась при застосуванні іншого режиму УЗ (0,4 Вт/см²). Показники вмісту білка вірогідно підвищились (на 9,0%) упродовж терміну дослідження при застосуванні УЗ інтенсивністю 0,4 Вт/см² і на 45 добу були навіть вищими за їх величини у інтактних тварин. При використанні УЗ з більшою інтенсивністю відмічена тенденція до зменшення показників загального білка при продовженні тер-

Таблиця 1

Динаміка біохімічних показників сироватки крові щурів з імплантованими титановими зразками у стegovих кістках під впливом ультразвуку різної інтенсивності

Групи тварин		Біохімічні показники			
		Глікопротеїни, од.	Загальний білок, г/л	Кальцій, ммоль/л	Хондроїтинсульфати, г/л
Інтактні щури (n = 6)		0,88 ± 0,04	70,54 ± 2,03	2,34 ± 0,02	0,360 ± 0,04
14 дб після операції	УЗ інтенсивністю 0,4 Вт/см ² (n = 6)	1,48 ± 0,06 ²⁾	73,30 ± 1,61	2,37 ± 0,02	0,472 ± 0,04 ^{1),2)}
	УЗ інтенсивністю 0,7 Вт/см ² (n = 6)	1,26 ± 0,03 ²⁾	75,88 ± 1,42 ^{1),2)}	2,40 ± 0,03	0,537 ± 0,04 ²⁾
	Контроль (n = 6)	1,29 ± 0,10 ²⁾	69,40 ± 1,59	2,30 ± 0,0	0,63 ± 0,06 ²⁾
45 дб після операції	УЗ інтенсивністю 0,4 Вт/см ² (n = 6)	1,28 ± 0,06 ²⁾	80,55 ± 1,77 ^{1),2)}	2,48 ± 0,04	0,478 ± 0,03 ^{1),2)}
	Контроль (n = 9)	1,22 ± 0,05 ²⁾	71,04 ± 2,01	2,36 ± 0,02	0,629 ± 0,05 ²⁾
	УЗ інтенсивністю 0,7 Вт/см ² (n = 6)	1,07 ± 0,07 ²⁾	71,58 ± 1,60	2,34 ± 0,02	0,557 ± 0,04 ²⁾

Примітки: 1) – P < 0,05 по відношенню до контролю; 2) – P < 0,05 по відношенню до інтактних щурів

Таблиця 2

Динаміка біохімічних показників сироватки крові білих щурів з титановими імплантатами стегнової кістки у залежності від інтенсивності коливань УЗ та терміну експерименту

Групи тварин		n	Глікопротеїни, од.	Загальний білок, г/л	Кальцій, ммоль/л	Хондроїтинсульфати, г/л	ЛФ, Од/л
14 дб після операції	0,4 Вт/см ²	8	1,02 ± 0,034 ²⁾	73,68 ± 2,64	2,40 ± 0,03	0,588 ± 0,052)	355,87 ± 19,9 ^{1),3)}
	0,7 Вт/см ²	10	0,92 ± 0,03	69,20 ± 1,45	2,33 ± 0,22	0,497 ± 0,03 ^{1),2)}	397,68 ± 15,3 ^{1),3)}
	Контроль	8	0,96 ± 0,05	75,40 ± 2,3	2,40 ± 0,03	0,746 ± 0,06 ³⁾	551,0 ± 37,15 ³⁾
28 дб після операції	0,4 Вт/см ²	5	1,22 ± 0,06 ²⁾	73,30 ± 2,11	2,37 ± 0,03	0,570 ± 0,05 ²⁾	394,2 ± 39,12 ³⁾
	0,7 Вт/см ²	5	1,13 ± 0,05 ²⁾	73,08 ± 1,73	2,36 ± 0,03	0,610 ± 0,06 ²⁾	469,5 ± 41,22 ³⁾
	Контроль	10	1,21 ± 0,06	73,74 ± 0,91	2,35 ± 0,02	0,438 ± 0,06 ²⁾	489,50 ± 42,13 ³⁾
45 дб після операції	0,4 Вт/см ²	10	1,14 ± 0,04 ²⁾	79,14 ± 1,25	2,48 ± 0,03	0,587 ± 0,08 ²⁾	261,25 ± 22,67
	0,7 Вт/см ²	10	1,07 ± 0,08	72,48 ± 1,47	2,35 ± 0,02	0,561 ± 0,06 ²⁾	275,06 ± 12,67 ³⁾
	Контроль	10	1,09 ± 0,04	74,96 ± 1,22	2,37 ± 0,05	0,65 ± 0,09 ²⁾	330,71 ± 16,74 ³⁾
Інтактні щури		7	0,88 ± 0,04	70,54 ± 2,0	2,34 ± 0,02	0,360 ± 0,04	210,44 ± 17,1

Примітки: 1) – P < 0,05 по відношенню до контролю; 2) – P < 0,05 по відношенню до інтактних тварин; 3) – P < 0,01 по відношенню до інтактних тварин

міну дослідження. Одержані дані щодо динаміки змін вмісту загального білка у сироватці крові щурів після дії УЗ різної інтенсивності можуть свідчити про позитивний вплив УЗ меншої інтенсивності (0,4 Вт/см²) на білковий обмін і, зокрема, на білковий обмін у кістковій тканині.

При аналізі змін рівня хондроїтинсульфатів було встановлено, що їх значення у контрольних щурів та у щурів двох дослідних груп були вірогідно значно вищими (більш ніж на 20 та 30%) за їх вміст у сироватці крові інтактних щурів на всіх термінах спостереження. Це вірогідно відображало руйнівний вплив чинника оперативного втручання на обмін гетерополісахаридів, що виграють суттєву роль у дозріванні клітинного матриксу кісткової тканини. При порівнянні значень вмісту хондроїтинсульфатів у дослідних тварин з контрольними встановлена вірогідна різниця у бік зменшення у тварин з «озвученням» УЗ. При цьому більш виражене зменшення спостерігалось при використанні УЗ інтенсивністю 0,4 Вт/см². За терміном дослідження не було встановлено вірогідних змін у концентрації хондроїтинсульфатів як у контрольних тварин, так і в досліді. Це вказує на присутність більш стимулюючого впливу УЗ щільністю 0,4 Вт/см², ніж 0,7 Вт/см², на білково-вуглеводний метаболічний потенціал, який є вагомим складовою остеогенезу.

Аналіз величин біохімічних показників щурів серії з УЗ впливом після 7 діб з часу операції (табл. 2) показав, що подібно до тварин попередньої серії (УЗ вплив після 3 діб з часу імплантації), найбільші коливання мали місце у таких показниках як: вміст у сироватці крові глікопротеїнів та хондроїтинсульфатів, а також у значеннях активності такого ферменту як лужна фосфатаза. Рівні вмісту у сироватці крові щурів загального білка та кальцію в умовах дії імпульсного УЗ не зазнали вірогідних змін як на протязі різних термінів після імплантації у кістку зразків титанових конструкцій, так і по відношенню до їх величин у контрольних, а також у інтактних щурів. Концентрація у сироватці крові глікопротеїнів у тварин цієї серії не мали вірогідних відмінностей від їх значень у контрольних щурів, а значення цього показника у підгруп імплантованих щурів, як контрольних, так і тих, які зазнали дії імпульсного УЗ, були вірогідно вищими ніж його величини у інтактних тварин. Така динаміка даного показника свідчила про запалення, що розвинулось в післяопераційній рані

щурів. Вміст хондроїтинсульфатів у сироватці крові теж мав вірогідні відмінності від його величин у групі контролю на 14 добу після операції тільки у підгрупі щурів, на яких впливали УЗ з інтенсивністю коливань 0,7 Вт/см². Значення вмісту хондроїтинсульфатів у дослідних тварин істотно підвищились у порівнянні зі значеннями даного показника у інтактних щурів на усіх термінах після імплантації і при використанні УЗ з інтенсивністю коливань 0,4 Вт/см² (від 58,3 до 63,3%), так і при використанні УЗ з інтенсивністю 0,7 Вт/см² – від 38,05 до 69,44%.

Активність лужної фосфатази (ЛФ) була вірогідно нижчою, ніж у контролі, у групи щурів з терміном евтаназії 14 діб з часу імплантації (як у підгрупі, що отримувала 0,4 Вт/см², так і у тих тварин, на яких впливали УЗ з інтенсивністю коливань 0,7 Вт/см² – відповідно на 35,4 і на 27,8%). Величини активності даного ферменту у тварин дослідних груп були достовірно ($P < 0,01$) вищими, ніж у інтактних щурів на протязі до 1 місяця з часу імплантації, після чого його активність знижувалась і на термін 45 діб після операції була вірогідно ($P < 0,05$) вищою лише у підгрупі щурів, на яких впливали УЗ з інтенсивністю коливань 0,7 Вт/см². У тварин з титановими імплантатами, але які не зазнали дії УЗ (контроль), активність ЛФ на всі терміни спостереження залишалась вірогідно вищою, ніж у інтактних, але за абсолютною величиною по мірі збільшення терміну мала тенденцію до зниження, тобто нормалізації.

Висновки і пропозиції. Визначена динаміка активності ЛФ вказувала на компенсаторне зростання остеобластичної активності у відповідь на оперативне втручання на кістковій тканині, про що свідчила гіперфосфатаземія не тільки у тварин, на яких впливали УЗ різної інтенсивності, але й у щурів контрольних підгруп. Той факт, що у дослідних тварин на 14-добовому терміні по операції гіперфосфатаземія була менш значущою, ніж у контролі, ймовірно, вказував на гальмуючу дію УЗ на гіперактивацію метаболізму остеобластів, що можна розцінювати як сприятливий вплив даного фізичного чинника на процес остеогенезу. Це дає підставу рекомендувати УЗ-терапію для подальшого клінічного використання під час медичної реабілітації хворих осіб, яким було проведено оперативне втручання зі встановлення ендопротезу кульшового або колінного суглобу, або після остеосинтезу з використанням титанових конструкцій.

Список літератури:

1. Ветеринарна клінічна біохімія / М. І. Карташов, О. П. Тимошенко, Д. В. Кібкало та ін. Довідник. – Харків, Еспада, 2010. – 400 с.
2. Дедух Н. В. Остеоінтеграція кісткової тканини з титановими імплантатами / Н. В. Дедух, С. В. Малишкіна // Ортопед., травматол. – 2010. – № 1. – С. 45–49.
3. Золотарєва Т. А. Физические лечебные факторы: основы механизма действия на процессы биотрансформации в печени / Т. А. Золотарєва. – К.: Тамед, 2000. – 192 с.
4. Улащик В. С. Ультразвуковая терапия / В. С. Улащик, А. А. Чиркин. – Минск: Беларусь, 1983. – 252 с.
5. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe. Strasbourg, 1986. – № 123. – 52 p.
6. Имплантационные материалы и остеогенез. Роль индукции и кондукции в остеогенезе / Н. А. Корж, В. А. Радченко, Л. А. Кладченко, С. В. Мальшкіна // Ортопед., травматол. – 2003. – № 2. – С. 150–157.
7. Камышников В. С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика. Справочник: В 2 т. Т. 2. – 2-е изд. – Мн.: Интерпрессервис, 2003. – 463 с.
8. Effects of low-intensity pulsed ultrasound on dental implant osseointegration: a preliminary report / Y. Ustun, O. Erdogan, M. Kurkcuca [et al.] // Eur. J. Dentistry. – 2008. – Vol. 2. – P. 254–262.

9. Effects of low-intensity pulsed ultrasound on healing of mandibular fractures: an experimental study in rabbits / O. Erdogan, E. Esen, Y. Ustün [et al.] // J. Oral Maxillofac. Surg. – 2006. – Vol. 64, № 2. – P. 180–188.
10. John P. S. Therapeutic ultrasound in fracture healing: The mechanism of osteoinduction / P. S. John, C. S. Poulouse, B. George // Indian J. Orthop. – 2008. – Vol. 42, № 4. – P. 444–447.
11. Low intensity pulsed ultrasound stimulates osteogenic activity of human periosteal cells / K. S. Leung, W. H. Cheung, C. Zhang [et al.] // Clin. Orthop. Relat. Res. – 2004. – Vol. 418. – P. 253–259.

Морозенко Д.В., Маколинец В.И., Шевцов Б.Н., Гулида Т.И.

Институт патологии позвоночника и суставов имени профессора М.И. Ситенко
Национальной академии медицинских наук

ДИНАМИКА БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА У КРЫС С ТИТАНОВЫМ ИМПЛАНТАТОМ ПОД ВЛИЯНИЕМ УЛЬТРАЗВУКА

Аннотация

В статье приведены и проанализированы результаты биохимических исследований показателей репаративного остеогенеза. Было исследовано в сыворотке крови следующие биохимические показатели: общий белок, кальций, гликопротеины, хондроитинсульфаты и активность щелочной фосфатазы. Данные маркеры отражают течение репаративного остеогенеза у крыс с имплантированным в бедренную кость титановым имплантатом. В опыте было использовано 89 крыс. Исследования проведены в условиях воздействия на послеоперационную зону низкоинтенсивного импульсного ультразвука различной интенсивности.

Ключевые слова: репаративный остеогенез, крысы, титановый имплантат, биохимические маркеры, гликопротеины, хондроитинсульфаты, ультразвук.

Morozenko D.V., Makolinet V.I., Shevtsov B.N., Gulida T.I.

Sytenko Institute of Spine and Joint Pathology
National Academy of Medical Science

DYNAMICS OF BIOCHEMICAL MARKERS OF REPARATIVE OSTEOGENESIS IN RATS WITH TITANIUM IMPLANTS UNDER THE INFLUENCE OF ULTRASOUND

Summary

The paper presents and analyzes the results of biochemical studies of indicators of reparative osteogenesis. It was studied in blood serum following biochemical parameters: total protein, calcium, glycoproteins, chondroitinsulfates and alkaline phosphatase activity. These markers reflect for reparative osteogenesis in rats implanted in the femur titanium implants. In experiment 89 rats were used. Research conducted under the conditions of exposure to low-intensity pulsed zone postoperative ultrasound of varying intensity.

Keywords: reparative osteogenesis, rats, titanium implant, biochemical markers, glycoproteins, chondroitinsulfates, and ultrasound.