

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ
імені П.Л. Шупика

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ ТРАВМАТОЛОГІЇ ТА ОРТОПЕДІЇ
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ»

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

СЕ-ФЕЙ

УДК 616.71-018.4-00393-08:615.8

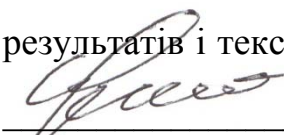
ДИСЕРТАЦІЯ

ВПЛИВ РАДІАЛЬНОЇ УДАРНО-ХВИЛЬОВОЇ ТЕРАПІЇ НА
РЕПАРАТИВНУ РЕГЕНЕРАЦІЮ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ
(експериментальне дослідження)

14.01.21 – травматологія та ортопедія

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії)

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело


Се-Фей

(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник
Герцен Генріх Іванович,
заслужений діяч науки і техніки України,
доктор медичних наук, професор

Київ-2017

АНОТАЦІЯ

Се-Фей. Вплив радіальної ударно-хвильової терапії на репаративну регенерацію кісткової тканини (експериментальне дослідження). - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.01.21 «Травматологія та ортопедія» (222-Медицина). – Міністерство охорони здоров'я України, Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика. – Державна Установа «Інститут травматології та ортопедії НАМН України». Київ, 2017.

Дисертація містить нові дані щодо патогенезу впливу екстракорпоральної радіальної ударно-хвильової терапії на процеси репаративної регенерації кісткової тканини. Необхідність цього дослідження була обумовлена неоднозначною оцінкою дії цього фізичного фактора на процеси кісткоутворення за даними літератури, наявністю різних гіпотез, що недостатньо розкривають механізм дії ударних хвиль на репаративний остеогенез.

Було проведено аналіз результатів експериментальних досліджень 95 статевозрілих кроликів. Тварини були розділені на 3 групи: 1 (інтактна) – хірургічні втручання не проводилися, 2 (контрольна) і 3 (основна) – використана традиційна модель експериментального дірчастого дефекту проксимального метадіафізу великогомілкової кістки. Кролики основної групи, на відміну від контрольної, на ділянку травми кістки отримували 4 сеанси радіальної екстракорпоральної ударно-хвильової терапії (РЕУХТ). Остання проводилася за допомогою апарата фірми Storz Medical (Suisse), модель MP200, при частоті ударів 1-21 Гц, кількості ударів 2 тис., робочому тиску 1-5 бар, енергії 0,38 мДж/мм², з інтервалами між сеансами 3 доби.

У тварин до травми великогомілкової кістки, а також в динаміці дослідження після неї на 2, 5, 15, 30 та 45 доби здійснювалися біохімічні дослідження стосовно вивчення в сироватці крові та кісткових регенератах важливих речовин основної речовини кісткової тканини (колагену та глікозаміногліканів), імунологічні дослідження – визначення активності імунних клітин сироватки крові, рентген-морфологічні дослідження – встановлення характеру загоєння дірчатого дефекту метадіафізу великогомілкової кістки під впливом РЕУХТ, результати досліджень були оброблені статистично.

Біохімічні дослідження показали, що після травмування у тварин на тлі катаболічної фази загальної обмінної реакції організму на травму (2 доба) в сироватці крові та кісткових регенератах відмічалось виражене зниження рівня вмісту основних метаболічних маркерів кісткової тканини (колагену та глікозаміногліканів) на 13,1-41,9 % ($p < 0,001$) нижче нормативу. Надалі в динаміці спостереження (15-45 доби) в кроликів на тлі анаболічної фази загальної обмінної реакції організму на травму відбувалось зростання біосинтезу цих біохімічних маркерів, при цьому у тварин основної групи після 4 сеансів РЕУХТ було встановлене більш виразне їхнє зростання порівняно з контрольною групою. Так, у кролів основної групи на 45 добу показники колагену та глікозаміногліканів у сироватці крові та кісткових регенератах на 3,4-15,0 % ($p < 0,05$) перевищували норматив.

Вперше на основі імунологічних досліджень встановлено, що в кроликів у ранні терміни після травми (2 доба) відмічається частковий “параліч” функціональної активності імунних клітин сироватки крові (фаза виснаження) з падінням рівня цитотоксичної й антитілозалежної цитотоксичної активності лімфоцитів і макрофагів на 6,1-45,5 % ($p < 0,05$), підвищенням рівня індексу модуляції лімфоцитів і макрофагів, цитотоксичної активності сироватки крові, циркулюючих імунних комплексів на 6,1-225,6 % ($p < 0,01$). У подальшому (15-45 доби) у тварин

здійснюється поступове відновлення активності імунних клітин сироватки крові (фаза виснаження), проте наприкінці дослідження (45 доба) імунологічні маркери ще залишалися нижче нормативних показників у контрольних тварин на 3,2-15,4 % ($p < 0,05$). Водночас у кроликів основної групи після 4 сеансів РЕУХТ спостерігалось не тільки відновлення, а й підвищення активності імунних клітин сироватки крові, а їхній рівень наприкінці дослідження (45 доба) перевищував норматив на 15,2-41,3 % ($p < 0,001$).

Вперше при рентген-морфологічних дослідженнях встановлено, що в кроликів з дефектом метадіафізу великогомілкової кістки після 4 сеансів РЕУХТ не відбувається додаткових ушкоджень тканин, спостерігаються розлади мікроциркуляції кісткової тканини: вазодилатація, збільшується проникність стінок судин, відмічається вихід кров'яних клітин з капілярів і синусоїдів кісткового мозку в оточуюче середовище у вигляді "дифузної інфільтрації" тканин ділянки травми. Остання призводить до утворення масивних ділянок кісткового ендостального регенерату, поєднання та перебудова якого забезпечують відновлення цілісності дефекту кістки.

Таким чином, результати експериментальних біохімічних, імунологічних, рентген-морфологічних досліджень показали, що механізм впливу РЕУХТ на загоєння травматичного дефекту епіметафізу великогомілкової кістки характеризується виникненням відмічених порушень мікроциркуляції, на базі яких активується ендостальне кісткоутворення, що забезпечує зрощення кістки до кінця спостереження (45 доба) в більшості тварин основної групи (3 з 5) порівняно з кроликами контрольної групи (1 з 5). Крім цього, ударні хвилі підвищують активність імунокомпетентних клітин сироватки крові, нормалізують метаболізм компонентів основної речовини кісткової тканини (колагену та глікозаміногліканів), що важливо для процесів репаративного остеогенезу.

Ключові слова: репаративна регенерація кісткової тканини, імунні клітини сироватки крові, колаген і глікозаміноглікани, радіальна екстракорпоральна ударно-хвильова терапія.

Публікації здобувача.

1. Се-Фей. Дослідження впливу ударно-хвильової терапії на імунні маркери сироватки крові в експерименті після травми кісток / Се-Фей // Харківська хірургічна школа. – 2015. - №6 (75). – с. 64-71.
2. Герцен Г.І. Визначення рівня антитілозалежної цитотоксичності лімфоцитів, цитотоксичної активності лімфоцитів і макрофагів сироватки крові кроликів з травмою кістки під впливом ударно-хвильової терапії / Г.І.Герцен, Се-Фей, М.В.Сікорська, Р.М.Остапчук, А.В.Лісовий // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л.Шупика. – Київ. – 2015. - Вип. 24, кн. 1. - С. 343-351.
3. Се-Фей. Експериментальне дослідження впливу екстракорпоральної радіальної ударно-хвильової терапії на імунні маркери сироватки крові у кроликів з травмою кістки / Се-Фей // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л.Шупика. – Київ. – 2015. - Вип. 24, кн. 2. - С. 329-335.
4. Се-Фей. Експериментальні морфологічні дослідження впливу екстракорпоральної радіальної ударно-хвильової терапії на репаративну регенерацію кісткової тканини / Се-Фей // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л.Шупика. – Київ. – 2015. - Вип. 24, кн. 3. - С. 63-70.
5. Герцен Г.І. Влияние радиальной экстракорпоральной ударно-волновой терапии (ЕУВТ) на течение экспериментальной травмы кости / Г.І.Герцен, Се-Фей, Р.М.Остапчук, А.В.Лесовой, А.В.Костенко // Літопис травматології та ортопедії. – 2016. - №1-2. – с. 25-28.
6. Герцен Г.И. Динамика активности иммунных клеток сыворотки крови под влиянием экстракорпоральной ударно-волновой терапии при

експериментальному дефекту кістки / Г.І.Герцен, Се-Фей, Р.Н.Остапчук, А.В.Лесовий, А.Н.Гапон, А.В.Костенко, В.В.Жеребчук // Травма. – 2016. – Том 17., №2. – с. 43-49.

7. Герцен Г.І. Сращення дефекту кістки під впливом радіальної екстракорпоральної ударно-хвильової терапії в експерименті / Герцен Г.І., Се-Фей, Р.Н.Остапчук, А.В.Лесовий, В.В.Жеребчук // Клінічна хірургія. – 2016. - №3 (884). – с. 54-57.
8. Се-Фей. Імунні клітини крові під впливом екстракорпоральної ударно-хвильової терапії при травмі кістки / Се-Фей, Р.Н.Остапчук // Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2016. – Том 16, Вип. 4 (56). Частина 1. – с. 276-280.
9. Магомедов А.М. Вплив радіальної ударно-хвильової терапії низької частоти на метаболічні процеси в кістковій тканині при травматичних дефектах большеберцової кістки в експерименті / А.М.Магомедов, Г.І.Герцен, Се-Фей, Т.А.Кузуб, О.Ф.Криничка // Клінічна хірургія. – 2016. - №4 (885). – с. 64-68.
10. Герцен Г.І. Вплив радіальної екстракорпоральної ударно-хвильової терапії на заживлення експериментального дефекту кістки / Г.І.Герцен, Се-Фей, Р.Н.Остапчук, С.І.Малохатько, А.В.Костенко, В.В.Жеребчук // Ортопедія, травматологія і протезування. – 2016. - №4(605). С. 11-16.
11. Герцен Г.І. Вплив екстракорпоральної ударно-хвильової терапії на зрощення переломів кісток (Огляд літератури) / Герцен Г.І., Се-Фей, Остапчук Р.М., Лісовий О.В., Слабоспицький А.В. // Вісник ортопедії, травматології та протезування, 2017, №1 : 61 – 65.
12. Се-Фей. Визначення рівня цитотоксичної, антитілозалежної цитотоксичності лімфоцитів, макрофагів, цитотоксичної активності макрофагів сироватки крові кролів з травмою кістки під впливом ударно-хвильової терапії / Се-Фей /. Матеріали всеукраїнської науково-

практичної конференції молодих вчених НМАПО імені П.Л.Шупика, присвячений дню науки. – Київ. – 2016. – с. 121-123.

13. Се-Фей. Влияние экстракорпоральной ударно-волновой терапии (ЭУВТ) на активность иммунных клеток кролей с травмой кости / Се-Фей /. Сборник тезисов докладов 69-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием. – Минск. – 2015. – с. 757 (Закордонна публікація – Білорусь).
14. Се-Фей. Дослідження впливу радіальної екстракорпоральної ударно-хвильової терапії (ЕУХТ) на мікроциркуляцію капілярів і синусоїдів тканин дефекту великогомілкової кістки, що зростається в експерименті / Се-Фей // ХИСТ Всеукраїнський медичний журнал молодих вчених. – Чернівці. – 2016. – Вип. 18. – с. 551.
15. Се-Фей. Влияние экстракорпоральной ударно-волновой терапии (ЭУВТ) на регенерацию костной ткани в эксперименте / Се-Фей /. Тези за матеріалами: ІХ всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених “Актуальні питання клінічної медицини”. – 2015. – Запоріжжя. с. 95.
16. Герцен Г.І. Експериментальне дослідження результату впливу екстракорпоральної радіальної ударно-хвильової терапії (РУХТ) на процеси кісткоутворення / Г.І.Герцен, Се-Фей, Р.М.Остапчук, А.В.Слабоспицький, А.В.Лісовий, С.І.Малохатько, А.В.Костенко // XVII з'їзд ортопедів-травматологів України: збірник наукових праць. – Київ, 2016. – с. 214-215.
17. Се-Фей. Ефект впливу радіальної екстракорпоральної ударно-хвильової терапії (ЕУХТ) на метаболізм основних органічних компонентів кісткової мозолі травматичного дефекту великогомілкової кістки// ХИСТ Всеукраїнський медичний журнал молодих вчених. – Чернівці. – 2016. – Вип. 18. – с. 551.
18. Се-Фей. Репаративный остеогенез дефекта кости под влиянием ударно-волновой терапии в эксперименте / Се-Фей, Р.Н.Остапчук, А.Н.Гапон,

А.В.Слабоспицкий// В матер. науково-практ. конф. «Актуальні питання травматології та остеосинтезу». Київ – Чернівці, 2017, с 103-104.

SUMMARY

Se Fei. Effect of Radial Shock Wave Therapy on Reparative Regeneration of Bone Tissue (experimental study). – Qualifying scientific work with the rights of the manuscript.

Dissertation for a Candidate's Degree in Medical Sciences (Doctor of Philosophy) specialized in Traumatology and Orthopaedics (14.01.21.). – The Ministry of Health of Ukraine, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education. – State Institution “Institute of Traumatology and Orthopaedics of National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kyiv, 2017.

The thesis provides recent data on pathogenesis of radial Extracorporeal Shock Wave Therapy (rESWT) impact on reparative regeneration of bone tissue.

The importance of the study has been substantiated by uncertainty in literature data regarding the effect of this physical factor on reparative osteogenesis. Despite a number of various hypotheses the mechanisms of rESWT impact on reparative osteogenesis remain unclear.

The results of experimental studies on 95 adult rabbits were analysed. The animals were divided into 3 groups: the intact group (I), the control group (II) and experimental group (III). No surgical interventions were performed in the first group. A standard model of hole-type penetration defect (of 2.5 mm diameter) of the proximal tibial metadiaphysis was employed. After the trauma, the experimental group received 4 treatment sessions of rESWT to the injury site by using the Masterpuls MP 200 device from Storz Medical (Suisse). For every session there were administered 2000 impulses at the pulse frequency of 1-21 Hz and application pressure of 1-5 bar with the energy flux density of 0.38 mJ/mm² at three-day intervals between treatments.

The biochemical, immunological and morphological studies have been conducted on experimental animals before the tibia injury and in the dynamics

after the start of experiment on days 2, 5, 15, 30 and 45. The biochemical research was aimed at investigating such major organic components of bone tissue as collagen and glycosaminoglycans in serum and bone regenerate. The immunology research was aimed at studying immune competent cells activity. The roentgen-morphological research was to investigate the effect of radial ESWT on reparative regeneration of hole-type penetration defect of the tibial metadiaphysis. The obtained data were statistically processed.

The biochemical studies have shown that the levels of major metabolic markers of bone tissue - collagen and glycosaminoglycans - in serum and bone regenerate of experimental animals significantly reduced to 13,1-41,9 % ($p < 0,001$) when compared to control values after the experimental bone trauma on catabolic stage of general metabolic response to the injury (on day 2). The following-up postoperative observation (on days 15-45) on anabolic stage revealed an increase in the synthesis of basic organic components of bone tissue. A significant rise in biochemical values was found in experimental animals after 4-session radial Extracorporeal Shock Wave Therapy when compared to the control group. The analysis of biochemical markers of collagen and glycosaminoglycans in blood serum and bone regenerate of experimental animals studied on day 45 of investigation was shown to be 3,4-15,0% ($p < 0,05$) above reference .

Based on immunologic studies it is the first time the study to ascertain that partial “immune paralysis” of immune cells activity (depletion phase) is observed in rabbits in early terms after experimental bone trauma (on day 2). The bone trauma causes: a significant reduction to 6,1-45,5% ($p < 0,05$) in the cytotoxic activity and antibody-dependent cytotoxicity of lymphocytes and macrophages; increased index of lymphocytes and macrophages modulation. There was also observed an increase in blood serum cytotoxic activity and circulating immune complexes activity to 6,1-225,6% ($p < 0,01$). The depletion phase is followed by the phase of gradual restoration of functional activity of immune cells (on days 15-45). However, by the end of the experiment (on day 45) immunological indicators in the control group of rabbits still remained 3,2-15,4% lower than baseline values

($p < 0,05$) whereas in rESWT experimental group after 4 treatment sessions the immune markers not only reached the initial values, but also significantly exceeded standard values to 15,2-41,3% at $p < 0,001$.

Findings of our roentgen-morphological studies show no evidence of additional tissue damage after 4 treatment sessions rESWT in rabbits with the experimental defect of the tibial metadiaphysis. There occurred such bone microcirculation failures as vasodilation and increased permeability of the vessel walls. These events were accompanied by the release of blood cells from the capillaries and bone marrow sinusoids, which we term as 'diffuse infiltration' of the bone marrow. The 'diffuse infiltration' results in emergence of massive areas of the endosteal regenerate and its restructuring for the restoration of the tibia integrity.

Thus, the results of biochemical, immunological, roentgen-morphological experimental studies have shown that the mechanisms of rESWT impact on experimental defect of the tibial metadiaphysis are characterized by the abovementioned bone microcirculation failures. This leads to activating the bone endosteal regenerate which provides the restoration of the tibia integrity to the end of the experiment (on day 45) in the most of experimental animals (3 rabbits out of 5) when compared to animals from the control group (1 rabbit out of 5). Moreover, rESWT exposure activates immune competent blood cells, normalizes metabolism of major organic components of bone tissue – collagen and glycosaminoglycans, which is important for reparative osteogenesis.

Key words: reparative osteogenesis, radial extracorporeal shockwave therapy.

Published Works of the Candidate for the degree of PhD

1. Се-Фей. Дослідження впливу ударно-хвильової терапії на імунні маркери сироватки крові в експерименті після травми кісток / Се-Фей // Харківська хірургічна школа. – 2015. - №6 (75). – с. 64-71.

2. Герцен Г.І. Визначення рівня антитілозалежної цитотоксичності лімфоцитів, цитотоксичної активності лімфоцитів і макрофагів сироватки крові кроликів з травмою кістки під впливом ударно-хвильової терапії / Г.І.Герцен, Се-Фей, М.В.Сікорська, Р.М.Остапчук, А.В.Лісовий // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л.Шупика. – Київ. – 2015. - Вип. 24, кн. 1. - С. 343-351.
3. Се-Фей. Експериментальне дослідження впливу екстракорпоральної радіальної ударно-хвильової терапії на імунні маркери сироватки крові у кроликів з травмою кістки / Се-Фей // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л.Шупика. – Київ. – 2015. - Вип. 24, кн. 2. - С. 329-335.
4. Се-Фей. Експериментальні морфологічні дослідження впливу екстракорпоральної радіальної ударно-хвильової терапії на репаративну регенерацію кісткової тканини / Се-Фей // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л.Шупика. – Київ. – 2015. - Вип. 24, кн. 3. - С. 63-70.
5. Герцен Г.І. Влияние радиальной экстракорпоральной ударно-волновой терапии (ЕУВТ) на течение экспериментальной травмы кости / Г.І.Герцен, Се-Фей, Р.М.Остапчук, А.В.Лесовой, А.В.Костенко // Літопис травматології та ортопедії. – 2016. - №1-2. – с. 25-28.
6. Герцен Г.И. Динамика активности иммунных клеток сыворотки крови под влиянием экстракорпоральной ударно-волновой терапии при экспериментальном дефекте кости / Г.И.Герцен, Се-Фей, Р.Н.Остапчук, А.В.Лесовой, А.Н.Гапон, А.В.Костенко, В.В.Жеребчук // Травма. – 2016. – Том 17., №2. – с. 43-49.
7. Герцен Г.И. Сращение дефекта кости под влиянием радиальной экстракорпоральной ударно-волновой терапии в эксперименте / Герцен Г.И., Се-Фей, Р.Н.Остапчук, А.В.Лесовой, В.В.Жеребчук // Клінічна хірургія. – 2016. - №3 (884). – с. 54-57.

8. Се-Фей. Иммунные клетки крови под влиянием экстракорпоральной ударно-волновой терапии при травме кости / Се-Фей, Р.Н.Остапчук // Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2016. – Том 16, Вип. 4 (56). Частина 1. – с. 276-280.
9. Магомедов А.М. Влияние радиальной ударно-волновой терапии низкой частоты на метаболические процессы в костной ткани при травматических дефектах большеберцовой кости в эксперименте / А.М.Магомедов, Г.И.Герцен, Се-Фей, Т.А.Кузуб, О.Ф.Криничкая // Клінічна хірургія. – 2016. - №4 (885). – с. 64-68.
10. Герцен Г.И. Влияние радиальной экстракорпоральной ударно-волновой терапии на заживление экспериментального дефекта кости / Г.И.Герцен, Се-Фей, Р.Н.Остапчук, С.И.Малохатько, А.В.Костенко, В.В.Жеребчук // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2016. - №4(605). С. 11-16.
11. Герцен Г.И. Вплив екстракорпоральної ударно-хвильової терапії на зрощення переломів кісток (Огляд літератури) / Герцен Г.І., Се-Фей, Остапчук Р.М., Лісовий О.В., Слабоспицький А.В. // Вісник ортопедії, травматології та протезування, 2017, №1 : 61 – 65.
12. Се-Фей. Визначення рівня цитотоксичної, антитілозалежної цитотоксичності лімфоцитів, макрофагів, цитотоксичної активності макрофагів сироватки крові кролів з травмою кістки під впливом ударно-хвильової терапії / Се-Фей /. Матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених НМАПО імені П.Л.Шупика, присвячений дню науки. – Київ. – 2016. – с. 121-123.
13. Се-Фей. Влияние экстракорпоральной ударно-волновой терапии (ЭУВТ) на активность иммунных клеток кролей с травмой кости / Се-Фей /. Сборник тезисов докладов 69-й научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием. – Минск. – 2015. – с. 757 (Закордонна публікація – Білорусь).

14. Се-Фей. Дослідження впливу радіальної екстракорпоральної ударно-хвильової терапії (ЕУХТ) на мікроциркуляцію капілярів і синусоїдів тканин дефекту великогомілкової кістки, що зростається в експерименті / Се-Фей // ХИСТ Всеукраїнський медичний журнал молодих вчених. – Чернівці. – 2016. – Вип. 18. – с. 551.
15. Се-Фей. Влияние экстракорпоральной ударно-волновой терапии (ЭУВТ) на регенерацию костной ткани в эксперименте / Се-Фей /. Тези за матеріалами: ІХ всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених “Актуальні питання клінічної медицини”. – 2015. – Запоріжжя. с. 95.
16. Герцен Г.І. Експериментальне дослідження результату впливу екстракорпоральної радіальної ударно-хвильової терапії (РУХТ) на процеси кісткоутворення / Г.І.Герцен, Се-Фей, Р.М.Остапчук, А.В.Слабоспицький, А.В.Лісовий, С.І.Малохатько, А.В.Костенко // XVII з'їзд ортопедів-травматологів України: збірник наукових праць. – Київ, 2016. – с. 214-215.
17. Се-Фей. Ефект впливу радіальної екстракорпоральної ударно-хвильової терапії (ЕУХТ) на метаболізм основних органічних компонентів кісткової мозолі травматичного дефекту великогомілкової кістки// ХИСТ Всеукраїнський медичний журнал молодих вчених. – Чернівці. – 2016. – Вип. 18. – с. 551.
18. Се-Фей. Репаративный остеогенез дефекта кости под влиянием ударно-волновой терапии в эксперименте / Се-Фей, Р.Н.Остапчук, А.Н.Гапон, А.В.Слабоспицкий// В матер. науково-практ. конф. «Актуальні питання травматології та остеосинтезу». Київ – Чернівці, 2017, с 103-104.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	3
ВСТУП.....	4
РОЗДІЛ 1 ХАРАКТЕРИСТИКА ВПЛИВУ ЕУХТ НА ЗВИЧАЙНІ І ПОРУШЕНІ ФОРМИ КІСТКОУТВОРЮЮЧИХ ПРОЦЕСІВ (аналітичний огляд літератури).....	10
1.1. Звичайні кісткоутворюючі процеси під впливом ЕУХТ.....	13
1.2. Порухені кісткоутворюючі процеси під впливом ЕУХТ	21
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	34
2.1. Біохімічні дослідження.....	35
2.2. Імунологічні дослідження.....	37
2.3. Рентген-гістоморфологічні дослідження	41
РОЗДІЛ 3 МЕТАБОЛІЗМ ОСНОВНИХ ОРГАНІЧНИХ КОМПОНЕНТІВ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ПІД ВПЛИВОМ РЕУХТ ПРИ ТРАВМІ ВГК.....	43
3.1. Результати досліджень СК.....	43
3.2. Результати досліджень кісткової тканини.....	48
РОЗДІЛ 4 АКТИВНІСТЬ ІМУННИХ КЛІТИН СК ПІД ВПЛИВОМ РЕУХТ ПРИ ТРАВМІ ВГК.....	53
РОЗДІЛ 5 РЕПАРАТИВНИЙ ОСТЕОГЕНЕЗ ПІД ВПЛИВОМ РЕУХТ ПРИ ТРАВМІ ВГК.....	62
5.1. Результати рентгенологічного дослідження.....	61
5.2. Результати гістоморфологічного дослідження.....	66
УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	79
ВИСНОВКИ.....	92
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	95

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ЕУХТ – екстракорпоральна ударно-хвильова терапія

РЕУХТ – радіальна екстракорпоральна ударно-хвильова терапія

ВГК – великогомілкова кістка

МОС – металоостеосинтез

УЗД – ультразвукова діагностика

СК – сироватка крові

Лц – лімфоцити

Мф - макрофаги

ЦТАЛц – цитотоксична активність лімфоцитів

ЦТАМф – цитотоксична активність макрофагів

АЗЦЛц - антитілозалежна цитотоксична активність лімфоцитів

АЗЦМф – антитілозалежна цитотоксична активність макрофагів

ІМ – індекс модуляції

ЦАСК – цитотоксична активність сироватки крові

АТ – антитіла

ЦК – циркулюючі імунні комплекси

ВФГП – вільна фракція гідроксипроліну

ПФГП – протеїнзв'язана фракція гідроксипроліну

ГАГ – глікозаміноглікани

ВСТУП

Лікування переломів кісток і їх наслідків – актуальна проблема сучасної травматології і ортопедії, це обумовлено тривалими термінами лікування травматологічних хворих, частотою ускладнень у вигляді повільно зрощуваних переломів кісток, незрощених переломів і псевдоартрозів, які викликають стійку втрату працездатності і у 11,4-21,7% випадків є причиною інвалідності пацієнтів (Гайко Г.В. з співавт. 2006, 2013; Андреева Т.М., 2010; Бец Г.В., 2016).

Незважаючи на досягнення в галузі консервативного або хірургічного лікування переломів кісток, переоцінку стандартів МОС, надання переваги малоінвазивним “біологічним” стабільно-функціональним методам остеосинтезу, порушення кісткоутворюючих процесів продовжують займати відносно високий відсоток, досягаючи 2,7-27,1% [Калашніков А.В., 2003; Попсуйшапка А.К. з співавт., 2016; Zimmerman G., 2010], що свідчить про необхідність пошуку ефективних методів лікування, які усувають розвиток порушень репаративного остеогенезу.

В останні десятиріччя в літературі має місце публікація багатьох наукових праць, присвячених ефективності використання ЕУХТ в ортопедії і травматології, в т.ч. при дегенеративно-дистрофічних захворюваннях хребта і суглобів, порушеннях процесів репаративної регенерації кісткової тканини (Марихин В.Г. з співавт., 2016; Головаха М.Л. з співавт., 2016; Wichlar F., et al., 2015). Що стосується впливу РЕУХТ на кісткоутворюючі процеси, то серед авторів має місце неоднозначна оцінка дії цього фізичного фактору, існують як позитивні, так і негативні оцінки (Czarnowska-Cubataa et al., 2013; Alkhawashki H.M., 2015; Фіщенко Я.В. з співавт., 2016). Крім цього не вивчено механізм дії ударних хвиль на кісткоутворюючі процеси, існують різні гіпотези (Егорова Е.А., Васильев А.Ю., 2013; Collwitzer H. et al., 2013; Cheng J.H., Wang C.I. 2015). Тому ми вважали доцільним виконати експериментальне дослідження впливу і механізму дії РЕУХТ на процеси репаративної регенерації кісткової тканини.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами темами. Експериментальне дослідження виконано згідно плану науково-дослідних робіт НМАПО імені П.Л.Шупика, тематика прикладна, № гос. Реєстрації 0115u004858.

Мета роботи. Вивчити в умовах експерименту вплив і ряд ланок механізму дії РЕУХТ на репаративну регенерацію кісткової тканини дірчатого дефекту проксимального метадіафіза ВГК.

Завдання дослідження:

1. На основі інформаційно-аналітичного пошуку визначити вплив і гіпотези механізму дії РЕУХТ на кісткоутворюючі процеси при “свіжих” переломах кісток, а також їх порушених формах – повільно-консолідуєчих, незрощених переломах кісток і псевдоатрозах;

2. В експерименті на тваринах з дефектом метадіафіза ВГК в динаміці дослідження визначити активність імунних клітин СК, а також вплив на їх активність РЕУХТ;

3. В експерименті на тваринах з дефектом метадіафіза ВГК в динаміці дослідження в СК і кісткових регенератах вивчити рівень основних метаболічних маркерів кісткової тканини (колагену і ГАГ), а також вплив на їх рівень РЕУХТ;

4. В експерименті на тваринах з дефектом метадіафіза ВГК в динаміці рентген-морфологічних досліджень вивчити характер загоєння дефекту метадіафіза ВГК під впливом РЕУХТ;

5. В експерименті на тваринах з дефектом метадіафіза ВГК на основі імунологічних, біохімічних і рентген-морфологічних досліджень визначити ланки механізмів впливу РЕУХТ на кісткоутворюючі процеси.

Об'єкт дослідження: експериментальна модель дірчатого дефекту метадіафіза ВГК, що загоювалась під впливом РЕУХТ.

Предмет дослідження: репаративний остеогенез при ушкодженні проксимального метадіафіза ВГК за умови застосування РЕУХТ.

Методи дослідження:

1. Експериментально-клінічні (активність і загальний стан тварин, характер загоєння післяопераційних ран);
2. Біохімічні (рівень маркерів метаболізму кісткової тканини в СК і кісткових регенератах);
3. Імунологічні (активність імунних клітин СК);
4. Рентгенологічний (рентгенографія кісток оперованої гомілки у двох стандартних проекціях);
5. Гістоморфологічні (формування та перебудова кісткового зрощення дефекту метадіафіза ВГК);
6. Статистичні (оцінка статистичної значущості отриманих результатів за допомогою програм OriginLab, Statistica 5,5).

Наукова новизна отриманих результатів:

- за результатами біохімічних досліджень визначено, що у тварин на фоні катаболічної фази загальної “обмінної” реакції організму на травму (2 доба) у СК і кісткових регенератах спостерігається зниження рівня вмісту основних метаболічних маркерів кісткової тканини – колагену і ГАГ на 13,1-41,9% ($p < 0,001$). В подальшому (15-45 доба) на фоні анаболічної фази загальної обмінної реакції організму на травму у кроликів відбувається зростання біосинтезу колагену і ГАГ до показників нормативу. РЕУХТ активує біосинтез відмічених біохімічних маркерів в результаті чого їх показники у СК і кісткових регенератах перевищували норматив на 3,4-15,0% ($p < 0,05$);
- вперше, на основі імунологічних досліджень встановлено, що у тварин у ранні терміни після травми ВГК (2 доба) відмічається частковий “параліч” функціональної активності імунних клітин СК (фаза виснаження) з падінням рівня ЦТА Лц/Мф, Зал/Мф, АГ на 6,1-45,5% ($p < 0,05$), підвищення рівня ІМ Лц/Мф, ЦАСК, ЦІК на 6,1-

225,6% ($p < 0,01$). В подальшому (15-45 доба) у тварин здійснюється поступове відновлення їх активності (фаза відновлення), однак наприкінці дослідження імунологічні маркери залишаються нижче нормативних на 3,2-15,4% ($p < 0,05$). РЕУХТ активує відновлення активності імунних клітин СК тварин, наприкінці дослідження (45 доба) їх рівень перевищував норматив на 15,2-41,3% ($p < 0,001$);

- вперше в порівняльних рентген-морфологічних дослідженнях тварин встановлено, що механізм дії РЕУХТ на процеси репаративного остеогенезу полягає в виникненні розладів мікроциркуляції кісткового мозку ділянки травми та поверхонь стінок дефекту кістки у вигляді вазодилатації, збільшення проникності стінок судин, виходу кров'яних клітин з капілярів та синусоїдів кісткового мозку у вигляді "дифузної" інфільтрації. Остання призводить до формування масивних ділянок кісткового ендостального регенерату, поєднання і перебудова якого забезпечують відновлення цілісності кістки.

Практичне значення отриманих результатів полягає в можливості покращення лікування хворих з переломами кісток, порушеними формами кісткоутворюючих процесів на основі диференційованого застосування РЕУХТ, перспективності впровадження цього фізичного фактору в практику ортопедії та травматології.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно проаналізована вітчизняна і закордонна література з досліджуваної проблеми, та виконано інформаційний пошук. Особисто автором сформульована мета та завдання досліджень, обґрунтовані план експериментальних досліджень і адекватне методичне забезпечення. Автор особисто прооперував тварин, спільно з фахівцями відповідних підрозділів виконав та проаналізував дані рентгенологічних, імунологічних, біохімічних, гістоморфологічних, статистичних досліджень. Автором виконано узагальнення одержаних даних, обґрунтовані наукові висновки та рекомендації для можливого практичного впровадження результатів.

Апробація результатів дисертації. Матеріали, що складають зміст дослідження оприлюднені та обговорені на науково-практичній конференції студентів і молодих вчених з міжнародною участю (Мінськ, 2015), всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених НМАПО імені П.Л.Шупика, присвяченій “Дню науки” (Київ, 2015), щорічної науково-практичної сесії “Впровадження наукових розробок у практику охорони здоров’я” (Київ, 2015), всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю “Особливості надання медичної допомоги в умовах гібридної війни” (Донецьк-Лиман-Святогірськ, 2016), III міжнародному медико-фармацевтичному конгресі студентів і молодих вчених “Пріоритети та перспективи молодіжної науки” (Чернівці, 2016), всеукраїнській науково-практичній конференції “Науково практична діяльність молодих вчених медиків: досягнення і перспективи розвитку” (Київ, 2016), XVII з’їзді ортопедів-травматологів України (Київ, 2016), всеукраїнській науковій конференції молодих вчених “Медична наука в практиці охорони здоров’я (Полтава, 2016), щорічної науково-практичної сесії “Конференція молодих вчених 2017 ДУ Інститут травматології та ортопедії НАМН України (Київ, 2017).

Публікації. Матеріали дисертаційної роботи висвітлені у 16 наукових працях, в тому числі: 10 статей в журналах та наукових збірниках, що входять до переліку, затверджених ДАК МОН України, та входять до науково метричних баз (SciVerse, Scopus, EBSCO host, Google Scholar, Science Index, Academic Resource Index, Index Copernicus international).

Впровадження результатів дослідження. Матеріали дисертації впроваджені в обласних і міських лікарнях міст Києва, Вінниці, Чернігова, Полтави, а також у навчальних процес кафедри ортопедії і травматології №1 НМАПО імені П.Л.Шупика.

Можливі галузі застосування. Результати дослідження можуть використовуватись в практиці при лікуванні хворих з переломами кісток при

звичайних і порушених формах кістково-утворюючих процесів – сповільнених зрощеннях, незрощеннях, псевдоартрозах.

Обсяг та структура дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 117 сторінках комп'ютерного тексту і складається із вступу, 5 розділів, аналізу та обговорення результатів дослідження, висновків, переліку використаних джерел, ілюстрована малюнками, таблицями. Список використаних джерел містить 176 назв, з них – 62 кирилицею та 114 – латиницею.

РОЗДІЛ 1

ХАРАКТЕРИСТИКА ВПЛИВУ РЕУХТ НА ЗВИЧАЙНІ І ПОРУШЕНІ ФОРМИ КІСТКОУТВОРЮЮЧИХ ПРОЦЕСІВ

Лікування переломів кісток і їх наслідків – актуальна проблема сучасної травматології і ортопедії, це обумовлено тривалими термінами лікування травматологічних хворих, частотою ускладнень у вигляді повільно зрощуваних переломів кісток, незрощених переломів і псевдоартрозів. Останні супроводжуються стійкою втратою працездатності, і у 11,4-21,7% випадків є причиною інвалідності пацієнтів [4, 28, 48, 62].

Беручи до уваги частоту переломів кісток, тривалість лікування, терміни непрацездатності, економічні витрати на лікування пацієнтів, слід відмітити, що дана проблема має народногосподарське значення [19, 50, 57].

Сучасне лікування переломів кісток базується на виконанні базових принципів травматології – ургентності надання допомоги постраждалим, репозиції і фіксації кісткових уламків за допомогою різних методів – одномоментна репозиція і фіксація гіпсовою пов'язкою, скелетний витяг, зовнішній і позавогнищевий остеосинтез в поєднанні з кістковою пластикою або без неї [5, 125, 129]. В останні десятиріччя в практиці травматології відбулися значні зміни с переоцінкою стандартів лікування переломів кісток. Так в тактиці і техніці хірургічної травматології віддається перевага малоінвазивним “біологічним” стабільно-функціонально-статичним методам остеосинтезу [7, 14, 17, 166]. Не дивлячись на це при застосуванні таких методів остеосинтезу також спостерігаються порушення зрощення переломів кісток, відсоток ускладнень досягає 2,7-27,1% [3, 17, 37, 61].

Дослідження на тваринах показали, що і при малоінвазивних функціонально-стабільних методах остеосинтезу експериментальних однотипних переломів кісток спостерігаються різні морфологічні варіанти формування кісткових регенератів, при цьому різні і терміни їх консолідації [16, 33, 109].

При переломах кісток у формуванні її зрощення значна роль належить відновленню мікроциркуляції, васкуляризації регенерату, яка забезпечує нормальну функцію остеобластів в умовах підвищеної потреби кісткової тканини у пластичних і енергетичних матеріалах [2, 53]. З урахуванням того, що ступінь відновлення мікроциркуляції різних ділянок кістки що зростається неоднакова, формуються різні види остеогенної тканини, крім того існують ділянки регенерації с різними стадіями кісткоутворення [27, 146, 164, 167]. Ультраструктурні дослідження із застосуванням електронномікроскопічних методів показали взаємозалежність процесів ангіо- і остеогенезу [12, 172].

Слід відмітити і ту обставину, що спостережувані зміни тканин опорно-рухового апарату при переломах кісток не обмежуються механічними порушеннями цілості кістки. В процесах остеорепації відома важлива роль гемоциркуляції, іннервації, метаболізму і інших місцевих і загальних факторів [14, 33, 146, 167]. Саме тому має місце широкий діапазон термінів зрощення однотипних переломів, при дотриманні механічних принципів їх лікування. З урахування викладеного в перспективі зусилля вчених повинні бути направлені на подальше дослідження ролі факторів, які забезпечують нормалізацію і оптимізацію репаративного остеогенезу кісткової тканини [29, 49, 81, 86].

Протягом останнього десятиріччя увагу вчених привернув ефект дії ЕУХТ на процеси остеогенезу [10, 23, 40, 41, 54]. Проте ще до цього ЕУХТ знайшла досить широке застосування, як ефективний метод лікування багатьох захворювань опорно-рухового апарату: адгезивних капсулітів плечового суглобу, ентезопатій ліктьового суглобу, трохантеритів, ахіллоденій і ахіллобурситів, плантарних фасційтів, невром Мортонна, дегенеративно-дистрофічних захворювань хребта і суглобів [24, 26, 38, 114].

Ударні (акустичні) хвилі являють собою вібрацію перемінного тиску, яка призводить до його підвищення в короткий проміжок часу – декілька наносекунд. Крім стрибкоподібного імпульсу підвищеного тиску (від 5 до

120 mPa), ударні хвилі характеризуються наступною фазою негативного тиску, широким спектром частоти (16-25 Гц), швидким початковим часом підйому (менше 10 нс), коротким часом існування (до 10 мс). При використанні ЕУХТ враховують кількість енергії, ударів, сеансів, частоту ударів, проміжок часу між сеансами. До теперішнього часу не встановлено який з параметрів ударних хвиль має найбільше значення в біологічних і клінічних ефектах [60, 112, 136].

Крім механічного методу утворення ударних хвиль в медицині використовується апаратура на основі їх утворення з допомогою електричних токів, електропневматичного і п'єзоелектричного принципів. Незалежно від джерела – генератора ударних хвиль, останні діють на тканини організму, як безпосередньо у вигляді механічного ефекту, так і опосередковано – у вигляді хімічного і термічного ефектів, які викликають різні біологічні реакції [72, 153, 175].

В медицині частіше використовується апаратура з механічним утворення ударних хвиль за принципом балістики, за допомогою якої формуються як сфокусовані так і радіальні ударні хвилі, які мають суттєві відмінності [22, 123, 131]. РЕУХТ відносно нова методика, радіальні хвилі, які зароджуються балістично у вигляді “розривної кулі” концентруються в аплікаторі апарату, котрий фінально трансформує кінетичну енергію в радіальну – “розширюючоїся тиснучою хвилі” [59, 149]. Існують апарати для ЕУХТ які фокусують ударну хвилю в 1 точку, такі хвилі застосовуються, як правило, для впливу на глибокі шари тканин [60, 136, 137, 162]. При цьому сфокусовані хвилі можуть проникати на глибину 130-140 мм, в той же час радіальні – на глибину 30-40 мм. Порівняно з сфокусованою, РЕУХТ характеризується більш широкою сферою застосування, є фізично більш коректною (“тиснуча хвиля”) і при її несфокусованому механізмі дії і відносно низькій енергії попереджає пенетрацію тканин, не призводить до їх руйнування [59, 94].

В теперішній час при лікуванні наслідків травм і захворювань опорно-рухового апарату ЕУХТ розглядається як альтернатива не тільки традиційній консервативній терапії, але й хірургічним втручанням у випадках порушення зрощення переломів кісток [25, 145, 171].

Експериментальні і клінічні дослідження свідчать про ефективність ЕУХТ в активізації процесів репаративного остеогенезу як при свіжих переломах кісток, так і при повільно консолюючихся, незрощених переломах кісток, псевдоартрозах [149, 165, 173].

1.1. Звичайні кісткоутворюючі процеси під впливом ЕУХТ

Наявні в літературі дані показують сприятливий вплив РЕУХТ на об'єм і структуру здорової кісткової тканини – потовщення кортикального шару довгих кісток, підвищення мінерального насичення кісткової тканини, а також і на кісткоутворюючі процеси [21, 100, 118, 173]. Деяко суперечливі дані літератури відносно впливу фокусованої ЕУХТ на процеси репаративного остеогенезу – існують як позитивні, так і негативні результати [104, 138, 163].

Експериментальні дослідження по вивченню впливу РЕУХТ на кісткоутворюючі процеси проводились на різних тваринах. Так G.Haupt et al. [119] в експерименті на щурах відмітили позитивний ефект ЕУХТ на зрощення переломів кісток. Виконуючи експеримент також на щурах-самицях В.О.Фіщенко зі співавт [56] досліджували вплив РЕУХТ на репаративний остеогенез після МОС діафізарного перелому стегнової кістки шпичею. Автори використовували апарат фірми Swiss Dolorclast, загальна кількість ударів за одну процедуру сягала 300, курс лікування складав 4 сеанси з інтервалами між процедурами 7 діб. При цьому згідно з даними морфологічного дослідження під впливом ЕУХТ виявлено ознаки активізації процесів репаративного остеогенезу у порівнянні з тваринами контрольної групи. Так, у тварин під впливом ударних хвиль спостерігались більш ранні ознаки формування кісткового регенерату, що автори зв'язували з притоком

крові до зони перелому, поліпшенням оксигенації та локальної мікроциркуляції.

C.I.Wang et al. [151] в експерименті на собаках виконали моделювання перелому стегнової кістки з наступним МОС стержнем. Автори розділили тварин на контрольну і дослідну групи. Дослідна група тварин, на відміну від контрольної, через 7 днів після травми і загоєння рани, отримувала сеанс ЕУХТ в дозуванні 2000 імпульсів при щільності енергії 0,47 мДж/мм². Результати досліджень показали, що РЕУХТ через 12 тижнів після травми сприяє інтенсифікації формування кісткової мозолі, остання характеризується більшою масою кісткової речовини, більшим мінеральним насиченням, більшим вмістом кальцієвих солей, більшою витривалістю при біомеханічних навантаженнях (механічному стресі) і більшим модулем еластичності в порівнянні з контрольними тваринами. Ці ж автори в експерименті на кроликах при моделюванні перелому стегнової кістки з наступним вивченням впливу РЕУХТ на перебіг ангиогенезу і остеогенезу показали, що у тварин під впливом ЕУХТ імунологічно на гістохімічних препаратах кісткових регенератів зростає вміст антипроліферативного клітинного ядерного антигену – PCNA, фактору росту – TGF- β 1, кісткового морфогенетичного протеїну – BMP-2, також зростає кількість неоваскулярних і імунопозитивних клітин – VEGF, eNOS [173, 174].

J.P.Lai et al. [91] в експерименті на щурах при моделюванні дистракції кісткових уламків довгих кісток після остеотомії відмітили позитивний ефект ЕУХТ на формування зрощення кісток.

Z.H.Xu et al. [98, 166] провели експериментальні дослідження на кроликах, яким виконували білатеральну діафізарну остеотомію обох гомілкових кісток з наступною зовнішньою фіксацією апаратом. Тварини були розділені на контрольну і дослідну групи. Останні після операції отримували 2-3 сеанси радіальної ЕУХТ в терміни 7, 21 і 35 днів, при дозуванні 5000 імпульсів, щільності енергії 0,32 мДж/мм². Як показали результати досліджень, РЕУХТ на ранніх стадіях кісткового зрощення

морфологічно активувала проліферацію остеогенної тканини і диференціювання її в кісткову тканину. Також автори відмічали у тварин під впливом ЕУХТ більш високі міцнісні характеристики кісткового зрощення при механічних торсіонних навантаженнях при дослідженнях на 4, 6, 7 тижні після травми.

H.Gollwitzer et al [140] в експерименті на кроликах вивчали вплив РЕУХТ на фізіологічний процес ремоделювання кісткової тканини. Тваринам на здорові задні лапки в ділянці стегон застосовували 2 сеанси РЕУХТ (через 7 днів) в дозі – 4000 імпульсів, енергії $0,16 \text{ мДж/мм}^2$, тиском 4 бар, частоті 8 Гц. При цьому автори відмічали рентгенологічно і морфологічно активізацію формування “нової” кісткової тканини, стовщення кортикального шару стегнових кісток, причому більш інтенсивне збоку вентрального кортикального шару – ділянки аплікації ударних хвиль. Автори ніколи не знаходили підтверджених морфологічно мікропереломів стегнових кісток, гематом, ушкодження окістя. Також було показано, що остеогенез максимально індукується на першому тижні, пік формування “нової” кісткової тканини відповідає 4 тижням з наступним зниженням інтенсивності кісткоутворення до 6 тижня.

Аналогічні експериментальні дослідження на кроликах також були проведені M.Maier et al. [118]. Автори при використанні сцинтиграфії, МРТ, морфологічних досліджень відмітили, що вплив РЕУХТ на стегна тварин в дозі $0,9 \text{ мДж/мм}^2$ викликає ознаки едеми м'яких тканин, епі-періостальні крововиливи, едему кісткового мозку. На їх думку такі зміни кровообігу приводять до реваскуляризації тканин, запуску локальних факторів росту кістки. Проте в літературі також зустрічаються роботи, автори яких не згодні з такими висновками [65, 97]. Крім того в літературі є експериментальні роботи в яких на основі рентгенологічних і біохімічних досліджень було показано, що при “свіжих” переломах кісток ЕУХТ не впливає позитивно на кісткоутворюючі процеси [65]. В інших експериментальних роботах було відмічено, що висока енергія ЕУХТ (фокусовані ударні хвилі) пошкоджує

кісткову тканину, знижує її механічну міцність, призводить до формування сповільненого зрощення переломів кісток, апофізарних дисплазій [163].

В експерименті на щурах Yang-Jen Chen et al [148] відмітили дозозалежний ефект РЕУХТ на кісткоутворюючі процеси – оптимальна доза ЕУХТ $0,16 \text{ мДж/мм}^2$, частота 1 Гц, число імпульсів 500 активує зрощення дефекту кістки у тварин. Також було відмічено, що оптимальні дози впливу РЕУХТ на регенерацію кісткової тканини у тварин не може бути перенесена на людей.

В.Оktaz et al [83] в експерименті на щурах досліджували зрощення остеотомованої стегнової кістки і МОС спицею в умовах циркулярної резекції окістя в ділянці остеотомії і наступної ЕУХТ у тварин трьох піддослідних груп (різний ступінь резекції окістя), а також у тварин контрольної групи – без резекції окістя і ЕУХТ. При цьому автори відмітили, що у тварин при резекції окістя на рівні остеотомії ЕУХТ позитивно впливала на формування зрощення стегнових кісток, при цьому рентгенологічні дослідження не показали будь-яких відмінностей у формуванні кісткового зрощення між контрольними і дослідними тваринами. Автори прийшли до висновку, що ЕУХТ може бути рекомендована для лікування відкритих переломів кісток з ушкодженням м'яких тканин і окістя в клініці.

Цікавою є робота J.Hausdorf et al [156], які досліджували фібробласти і остеобласти людини *in vitro*, піддаючи їх впливу ЕУХТ в дозі 250-500 імпульсів при щільності енергії 25 kV. Через 24, 48 і 72 години в цих клітинах вивчали вміст факторів росту FGF-2 і TGF- β (1). Результати порівнювали з контрольними клітинами (без впливу ЕУХТ). Було відмічено, що через 24 години після ЕУХТ значно підвищується рівень FGF-2 ($p < 0,05$) в клітині корелятивно з дозуванням ударних хвиль, при цьому граничний вміст TGF- β (1) до 48 годин не відрізнявся суттєво від контролю. Автори припустили, що ЕУХТ забезпечує зрощення кістки на молекулярному рівні,

індукуючи синтез важливого фактору росту кісткової тканини FGF-2 у фібробластах і остеобластах.

Поряд з експериментальними дослідженнями існують і клінічні спостереження, які свідчать про ефективність ЕУХТ в лікуванні переломів кісток у людей. Як відмітили Е.А.Егорова, А.Ю.Васильєв [21] активуючий вплив на кісткоутворюючі процеси в тканинах кінцівок при переломах кісток чинить РЕУХТ при середньо- і низькоенергетичних ударах хвиль з параметрами хвилі: тиск 1,5-2,5 атм., частота 4-8 Гц, загальним числом імпульсів однією процедури - 2000-2500. Лікування проводилось 68 пацієнтам з переломами довгих кісток різних локалізацій після МОС (середній вік $45,6 \pm 3,7$ роки), 46 пацієнтів склали контрольну групу. При цьому у 89,7% хворих після МОС, які отримували ЕУХТ, відмічалось неускладнене загоєння, терміни консолідації були оптимальними. У пацієнтів контрольної групи цей показник склав 84,8%.

А.Н.Пінчук [47] в своїй дисертаційній роботі, яка присвячена лікуванню поранених с бойовими ушкодженнями кінцівок, в т.ч. вогнипальними переломами кісток, відмічає, що додаткове застосування ЕУХТ в 73,9% випадків сприяло зменшенню терміну утворення кісткової мозолі на $25,5 \pm 3,6$ дня ($n=30$, $p \leq 0,001$), в 75,5% приводило до зрощення переломів, відновлення цілості м'яких тканин. При цьому, відновлення функції кінцівок наступало в оптимальні терміни, випереджаючи показними в групі порівнянні на $14,4 \pm 5,13$ дня ($PS=55$, $n=71$, $p \leq 0,01$), до $290,4 \pm 12,3$ днів від моменту поранення в основній групі пацієнтів функція кінцівки оцінювалась в $72,63 \pm 4,5$ балів, в контрольній - вона відставала на 9,4 бали. Автор приходить до висновку про те, що при вогнепальних переломах кісток в ранньому періоді доцільним є вплив на зону ушкодження розфокусованих середньонизькоенергетичних ударних хвиль.

Ю.В.Андріанов у співавт. [46] в своїй роботі відмітили, що у 20 пацієнтів основної групи з переломами кісток гомілки, які лікувались традиційними методами додаткове застосування ЕУХТ дозволило досягти

більш раннього формування кісткового мозолу - на $9,6 \pm 0,1$ днів в порівнянні з 20 аналогічними пацієнтами контрольної групи.

В. Moretti et al [152] вивчаючи вплив РЕУХТ на зрощення закритих переломів кісток гомілки у 16 пацієнтів після накладання апаратів зовнішньої фіксації, і порівнюючи характер зрощення уламків серед 16 пацієнтів з аналогічними переломами, також після накладання апаратів зовнішньої фіксації, відмітили, що у пацієнтів обох груп в 100% випадків наступало зрощення, проте у пацієнтів першої групи (вплив ЕУХТ) товщина кортикального шару гомілкових кісток в зоні перелому при рентгенологічних дослідженнях склала 3,25 мм, тоді як у пацієнтів контрольної групи - 2,54 мм, ця різниця була підтверджена статистично ($p \leq 0,01$).

Більшість авторів вважають, що остеогенетичний ефект РЕУХТ є комплексним, біологічним і дозозалежним [140, 148, 170]. Механізм індукування кісткоутворення РЕУХТ остаточно не в'яснений, не встановлено, як акустична енергія ударних хвиль і ритмічне підвищення тиску реалізуються в біологічний ефект [59, 68]. І хоча механізм індукування кісткоутворення РЕУХТ остаточно не в'яснено, на цей рахунок є різні гіпотези.

Так в ряді робіт відмічається індукція РЕУХТ стовбурових клітин кісткового мозку, диференціювання мезенхімоподібних клітин в остеобласти [88, 92, 108]. Повідомляється, що РЕУХТ в зоні впливу цього фізично-біологічного фактору сприяє збільшенню кількості стовбурових клітин і за рахунок цього і остеобластів [82, 156]. Було показано що ЕУХТ позитивно впливає на ангиогенез, мітогенний ендотеліальний фактор, які забезпечують проліферацію ендотеліальних клітин (VEGE), активують репаративний остеогенез [80, 84, 115].

Певний інтерес визвало порівняльне дослідження 2 видів ЕУХТ (сфокусованої і радіальної) на мезенхімальні стовбурові клітини. W. Bloch et al [90] в експериментальних абсорбційних умовах впливали на культури клітин ЕУХТ, вивчаючи ефект різних доз сфокусованих і радіальних хвиль

на життєдіяльність клітин (міграцію, проліферацію, апоптоз). Дослідження показали, що обидва види ударних хвиль впливали на клітини в залежності від інтенсивності імпульсів, енергії, частоти. При цьому специфічна різниця у впливі двох методів ЕУХТ залежала від діапазону дозування, що викликало різні ступені проліферації і апоптозу стовбурових мезенхімальних клітин.

Є роботи, в яких констатується фізичний ефект ЕУХТ - гіперполяризація мембран стовбурових клітин кісткового мозку с наступною зміною їх імунореактивності і швидкою активізацією для остеогенезу [117, 135, 148]. Під впливом РЕУХТ активація імунної системи характеризується зростанням функціональної активності імунно-компетентних клітин - лейкоцитів, лімфоцитів, підвищенням вмісту імуноглобулінів [77, 127].

Ряд даних літератури свідчить про те, що механізм дії РЕУХТ на репаративний остеогенез реалізується через так звану Р-субстанцію, яка міститься в кістковому мозку і має імунореактивні властивості [120, 128, 147, 157]. З метою перевірки зміни вмісту Р-субстанції в кістковій тканині стегна у тварин після впливу РЕУХТ ударними хвилями силою $0,9 \text{ mJ/mm}^2$, досліджували концентрацію цієї речовини у витяжці з кісткової тканини. При цьому в порівнянні з контрольною інтактною кінцівкою було відмічено суттєве підвищення концентрації вільної Р-субстанції до 24 годин після РЕУХТ, яка знижувалась лише через 6 тижнів [133].

Є повідомлення про наростання концентрації кісткового морфометричного протеїну в тканинах кісткової мозолі під впливом РЕУХТ [13, 148], активізації ангіогенного і остеогенного факторів росту, зростання неоваскуляризації [70, 75, 138].

З метою дослідження впливу ЕУХТ на позаклітинний матрикс глікозаміногліканів і гіалуронової кислоти P.R.Santos et al [87] в експерименті моделювали травматичний дефект стегнової кістки на 50 щурах. Дослідні тварини, на відміну від контрольних, отримували ЕУХТ. На 3, 7, 14, 21 і 28 день тварин виводили з досліду, вміст сульфатованих глікозаміногліканів в кісткових регенератах тварин дослідної групи, як і

гіалуронової кислоти було суттєво вищим ($p=0,002$) у всі терміни спостереження у тварин дослідної групи після ЕУХТ в порівнянні з контролем. Автори прийшли до висновка, що ЕУХТ при зрощенні переломів кісток стимулює синтез сульфатизованих глікозаміногліканів і підвищує рівень гіалуронової кислоти - одних з основних компонентів основної речовини кісткової тканини.

Ряд робіт свідчить про те, що ЕУХТ змінюючи клітинний гомеостаз, формує біоактивні радикали O_2 (супероксиданіон), OH (радикал гідроксилу), NO (радикал закису азота), простогландини, кальційвмісні субстрати, які включаються в ефект активізації зрощення кістки [72, 79, 148]. Важливими властивостями відмічених радикалів є інтенсифікація циклооксигенази гуанілу з наступною вазодилатацією, активізацією нейроредачі амінокислот (глутаміну), захист фагоцитозу від чужорідних тіл, що сприяє звільненню великої кількості NO з одночасною наявністю кисню. Остання концепція відповідає також інформації про інтенсифікацію метаболізму в тканинах кісткового регенерату під впливом РЕУХТ [118, 170].

Існують експериментальні роботи, в яких відмічається, що сфокусована ЕУХТ високої енергії (вище $0,50 \text{ мДж/мм}^2$) ушкоджує структуру кісткової тканини і приводить до формування сповільненого зрощення переломів кісток [65, 163]. Хоча автори інших робіт вважають, що виникнення мікропереломів, ушкодження окістя під впливом сфокусованої ЕУХТ індукує остеогенез [113, 131]. Подібний ефект РЕУХТ або дискутується, або заперечується іншими авторами [119, 128].

На нашу думку ефект впливу ЕУХТ на процеси зрощення кістки залежить від сили її енергії (сфокусована, радіальна), дози застосування. Не можна забувати, що ударні хвилі, це фізична енергія, яка при невірному застосуванні може заподіяти суттєвого ушкодження тканин [136, 141]. В той же час при раціональному застосуванні ЕУХТ в клініці практично не відмічається виникнення побічної дії і ускладнень [45].

При впливі ЕУХТ на тканини кінцівок було відмічено ефект почервоніння (гіперемії) шкіри в зоні аплікації ударних хвиль, за рахунок розширення кровоносних судин, що покращує кровообіг і обмін речовин. Дослідження тканин кінцівок після ЕУХТ показало формування нових кровоносних судин в м'яких тканинах, саме з цим багато авторів пов'язують успіх застосування ЕУХТ при лікуванні ран, які тривало не загоюються і дегенеративно-дистрофічних захворювань опорно-рухового апарату [9, 20, 106, 128]. Завдяки відміченому ефекту покращення кровообігу ЕУХТ знайшла застосування в клініці при лікуванні остеохондропатій в дитячому віці, початкових стадіях (до імпресії) асептичного некрозу головки стегнової кістки у дорослих пацієнтів [71, 155].

Експерименти, проведені на тваринах свідчать про те, що ЕУХТ стимулює маркери, які належать до ангиогенезу і неоваскуляризації, що покращує кровообіг і регенерацію тканин [121, 173]. Покращення мікроциркуляції тканин сприяє зменшенню їх напруження, має протинабряковий ефект і цим забезпечує імуномодельючий і регенеративний ефекти [74, 93]. В ряді експериментальних робіт також було відміено, що при впливі ЕУХТ на сухожилко-кісткові з'єднання спостерігається зростання числа нових судин, поява маркерів ангиогенезу, які включають ендотеліальний фактор росту судин (VEGF), ядерний антиген. При цьому VEGF є важливим мітогенним фактором васкулярних ендотеліальних клітин [150]. В той же час клінічні і інструментальні дослідження, в т.ч. доплерівське сканування не дало адекватних даних, які підтверджують відмічені ефекти ЕУХТ [45].

Вище були наведені дані літератури, які стосуються впливу ЕУХТ на звичайні процеси кісткоутворення, що спостерігаються при свіжих переломах кісток. Проте існує не менша кількість робіт, які присвячені вивченню впливу ЕУХТ на порушені форми репаративного остеогенезу: сповільнене зрощення переломів кісток, незростлі переломи, несправжні суглоби.

1.2. Порушені кісткоутворюючі процеси під впливом ЕУХТ

Дослідження впливу ЕУХТ на порушені форми кісткоутворюючих процесів, які спостерігаються при сповільненому зрощенні переломів кісток, незрощених переломах, псевдоартрозах, кісткових дефектах, стресових переломах проводилось як в експериментальних так і в клінічних умовах. При цьому достатньо клінічних досліджень засвідчили ефективність ЕУХТ високої енергії (фокусованої) при лікуванні повільно консолидуючихся переломів кісток, незрощених переломів і псевдоартрозів [63, 145].

В експериментальних дослідженнях достатньо широко використовується кількісний аналіз маси кісткової мозолі для характеристики зрощення переломів кісток, які формуються [76, 139, 161]. При цьому в небагатьох роботах проводилось дослідження мінерального насичення кісткової мозолі, ця методика дозволяє в більшій мірі оцінити механічну щільність формованого зрощення кістки [130, 139].

О.Vulut et al [97] в експерименті на кроликах моделювали незрощені дефекти діафізу обох променевих кісток довжиною 6 мм, після чого впливали на дефект правої променевої кістки ЕУХТ (14 kW, 0,46 мЖд/мм², 1000 імпульсів). При дослідженні формування кісткової мозолі обох променевих кісток з допомогою морфологічних спостережень через 4 тижні після ЕУХТ відмітили статистично достовірно більшу товщину сформованих остеобластами кісткових трабекул і менший розмір міжтрабекулярних просторів. До 6 тижня острівці молодого кісткової тканини збільшувалися, як з боку дефекту правої променевої кістки (дія ЕУХТ), так і з боку лівої променевої кістки, хоча в першому випадку вони, як і раніше, були статистично достовірно більших розмірів. При цьому у тварин обох груп зрощення дефекту в обох променевих кісток проходило на базі формування як молодого кісткової, так і хрящеподібної тканини, якість самої кісткової мозолі відповідала нормальному зрощенню кістки. Аналіз КТ показав більшу кісткову масу як до 4 (p=0,032), так і до 6 (p=0,020) тижнів в ділянці дефектів

променевих кісток у тварин, які отримували ЕУХТ. Подібний ефект ЕУХТ на остеогенез незрощених дефектів довгих кісток відмічено і в інших експериментальних досліджень [143, 161].

В той же час в ряді клінічних спостережень було відмічено, що у пацієнтів зі сповільнено консолюючимися і незрощеними переломами довгих кісток при наявності дефектів більше 5 мм ЕУХТ не приводить до сприятливих результатів консолюації кісткових уламків [63, 66]. Це свідчить про наявну розбіжності констатації ефекту ЕУХТ при незрощених дефектах довгих кісток в експерименті і клініці.

В експерименті на собаках D.M.Sukul, E.Mutura [158] досліджували ефект впливу ЕУХТ високої енергії на зрощення модельованих гіпертрофічних псевдоартрозів довгих кісток. Автори застосовували ЕУХТ в дозі 2000 імпульсів, щільності енергії $0,54 \text{ мДж/мм}^2$ (14,5 kv) на ділянку псевдоартрозів у 5 собак, 5 тварин склали контрольну групу. Ступінь зрощення псевдоартрозів оцінювали рентгенологічно, при цьому через 12 тижнів у всіх 5 тварин дослідної групи під впливом ЕУХТ наступило зрощення псевдоартрозів, у контрольних тварин – лише в одному випадку з 5. Це статистично достовірно ($p < 0,05$) підтвердило ефективність ЕУХТ високої енергії в зрощенні псевдоартрозів довгих кісток в експерименті.

E.I.Johannes et al. [122] досліджували на собаках вплив ударних хвиль високої енергії на зрощення експериментально модельованих незрощених переломів стегнової кістки. Автори відмітили, що у всіх тварин наступало зрощення стегнової кістки через 12 тижнів після закінчення курсу ЕУХТ, тоді як у контрольних собак до цього терміну зрощення кісток не наступало.

Багато авторів відмічають, що механізм впливу ударних хвиль на незрощені переломи, псевдоартрози і дефекти кістки, як і при свіжих переломах кісток остаточно не в'яснено [85, 96]. Є роботи, які свідчать про те, що ЕУХТ створює мікропереломи, які стимулюють неоваскуляризацію, формування остеобластів і кісткове зрощення [67, 73, 131]. R.Schleberger [145] обумовлює сприятливий вплив ЕУХТ на зрощення псевдоартрозів

біологічним ефектом активізації джерел кісткового остеогенезу. В ряді робіт відчмічено, що фізичне “подразнення” ділянки псевдоартрозу ударними хвилями створює в області кістково-мозкової порожнини асептичне запальне середовище, активує фактори росту кістки, в т.ч. мезенхімоподібні клітини, які забезпечують зрощення кістки. F.S.Wang et al [92] в експериментальних дослідженнях повідомили, що ударні хвилі можуть індукувати остеогенне диференціювання мезенхімальних стовбурових клітин, синтез кісткового морфогенетичного протеїну (BMP), який активізує проліферацію клітин і зрощення дефекту кістки. Наступні дослідження авторів також показали, що ударні хвилі забезпечують індукцію фактора росту TGF- β 1, неоваскулярних і імунопозитивних клітин – VEGF, eNos, які в свою чергу відіграють роль заохочення до остеосинтезу мезенхімальних стовбурових клітин [142, 165, 173].

Крім експериментальних досліджень позитивного впливу ЕУХТ на зрощення псевдоартрозів також мають місце і клінічні роботи, які свідчать про аналогічний ефект ЕУХТ на зрощення сповільнено консолідуючих переломів, псевдоартрозів, дефектів кісток верхніх [95, 110] і нижніх [64, 98] кінцівок.

Е.А.Elster et al [96] в Австрії (Відень) в травматологічному центрі (AUYA Center Meidling) провели спостереження 192 пацієнтів з незрощеними переломами ВГК, ЕУХТ проводилась в кількості від 1 і до 3 сеансів у пацієнтів лікованих за допомогою зовнішньої іммобілізації кінцівки або накладання апаратів позавогнищевої фіксації уламків. При цьому повне зрощення уламків ВГК через $4,8 \pm 4,0$ місяця після першого сеансу ЕУХТ відмічено серед 138 (80,2%) пацієнтів. Автори прийшли до висновка, що ЕУХТ є ефективним методом лікування незрощених переломів ВГК.

М.Л.Головаха з співавт [9, 43] оцінили ефективність РЕУХТ у 39 пацієнтів (середній вік $36,2 \pm 0,4$ роки) після МОС різними імплантатами сповільнено зростаючих переломів кісток і несправжніх суглобів. При цьому ЕУХТ виконувалась апаратом MASTER PULS МП 200 STORZ

MEDICAL. Процедури призначались амбулаторно 1 раз на 6-7 днів, на курс лікування 5-8 процедур. Контроль пацієнтів автори проводили через 3, 6 і 12 місяців на основі врахування регресу больового синдрому, рентгенографії і УЗД місця перелому. Добрі результати були відмічені у 75% випадків, задовільні – в 22,5% (утворення кісткової мозолі на рентгенограмах, поява васкуляризації місця перелому на УЗД), незадовільні – в 2,5%. На думку авторів ЕУХТ високоефективний неінвазивний метод лікування сповільнено консолюючих переломів кісток і несправжніх суглобів, дозволяє уникнути додаткових хірургічних втручань.

E.J.Wang et al [165] лікували 42 пацієнти з незрощеними переломами стегнових і ВГК 1 курсом ЕУХТ в дозі 6000 імпульсів, щільності енергії 28 kV. При цьому у пацієнтів до початку лікування і через 1 день, 1, 3 і 6 місяців після закінчення лікування в СК досліджували окис азоту (NO), остеогенні фактори росту – TGF- β 1, VEGF і BMP-2, рівень кальцію, лужної фосфатази, кальцитоніну, паратгормону. У пацієнтів характер зрощення кісткових уламків оцінювали клініко-рентгенологічно. Автори відмітили зрощення переломів довгих кісток через 6 місяців після закінчення лікування ЕУХТ серед 78,6% пацієнтів. Хворі зі зрощеними переломами кісток через 1 місяць після завершення ЕУХТ мали достовірно більш високий рівень вмісту NO, TGF- β 1, VEGF і BMP-2 в порівнянні з пацієнтами, у яких переломи не зрослись. Автори прийшли до висновку, що ЕУХТ сприяє зрощенню переломів довгих кісток за рахунок підвищення вмісту в СК відмічених остеогенних факторів росту.

N.Haffner et al [102] застосували ЕУХТ серед 56 пацієнтів з незрощеними переломами ВГК після раніше виконаного МОС. Дозування ЕУХТ складала 3000-4000 імпульсів, щільність енергії – 0,4 мДж/мм². Через 6 місяців після курсу ЕУХТ у 88,5% пацієнтів наступило зрощення ВГК. Автори рекомендують застосування ЕУХТ в якості основного неінвазивного і недорогого методу лікування незрощених переломів довгих кісток.

Ефективність ЕУХТ при лікуванні незрощених переломів кісток в середньому складає від 50% до 95% [18, 111, 113]. Ряд авторів рекомендують застосовувати ударні хвилі в якості першої терапії сповільнено зростаючих переломів кісток, незрощених переломів і псевдоатрозів [104]. С.I.Wang et al [165] при лікуванні 72 пацієнтів з незрощеними переломами довгих кісток за допомогою ЕУХТ відмітили ефект зрощення переломів через 3 місяці серед 40% пацієнтів, через 6 місяців – у 61% і через 12 місяців – у 80%. При цьому вони підкреслили, що ЕУХТ була високоефективною при гіпертрофічних незрощеннях (псевдоатрозах) і менш ефективною при атрофічних незрощеннях (псевдоатрозах).

В наступних спостереженнях було відмічено, що ЕУХТ досить ефективний метод лікування не тільки гіпертрофічних псевдоатрозів, але й кісткових дефектів, і менш ефективний при атрофічних псевдоатрозах [35, 98]. W.Schaden et al [104] констатували 85 (57%) успішних випадків лікування за допомогою ЕУХТ 115 пацієнтів у віці 15-85 років з повільно зростаючими і незрощеними переломами кісток без хірургічних втручань. При цьому переломи довгих кісток спостерігались у 72 пацієнтів, епі-метафізарні переломи – у 43 пацієнтів. Із загальної кількості хворих 28 лікувались консервативно і 92 – хірургічно, з них 28 пацієнтам хірургічні втручання виконувались двічі, 25 – тричі і більше разів. Дозування ЕУХТ залежала від характеру сегмента і складала від 12000 до 1000 імпульсів, щільність енергії – від 0,2-0,35 мДж/мм² до 0,4 мДж/мм² (28 kV). Терміни спостереження пацієнтів складали від 3 місяців до 4 років. Клініко-рентгенологічні результати спостережень показали, що не було суттєвої різниці в числі сприятливих результатів між пацієнтами зі сповільненим зрощенням переломів кісток, незрощеними переломами і раніше інфікованими незрощеними переломами кісток. В обох останніх роботах було відмічено, що ЕУХТ є кращим методом для лікування незрощених переломів кісток з дефектом менше 5 мм.

Н.М. Alkhawanshki [63] також відмітили ефективність ЕУХТ в лікуванні незрощених переломів стегнової кістки і кісток гомілки в 75,5% випадків при спостереженні 44 пацієнтів (49 кісток) протягом в середньому 10,2 місяці (3-19 місяців) після завершення 1 або більше курсів ЕУХТ. Як вважають автори, незадовільні результати лікування були обумовлені щілиною між уламками більше 5 мм, їх нестабільністю, також скомпрометованим кровообігом кінцівок. При цьому яких небудь місцевих ускладнень від застосування ЕУХТ не було виявлено.

Z.N. Hu et al [98] клініко-рентгенологічно оцінювали ефективність ЕУХТ серед 69 пацієнтів у віці 22-72 років (середній вік $38,1 \pm 12,3$) з незрощеними переломами довгих кісток верхніх і нижніх кінцівок. Час застосування ЕУХТ після переломів кісток у пацієнтів склало від 6 до 14 місяців ($12,5 \pm 10,3$). При цьому 81,1% випадків незрощення кісток носив гіпертрофічний характер і – 15,9% - атрофічний. Технічні параметри застосування ЕУХТ для різних кісток верхніх і нижніх кінцівок були різними, вони складали від 10000 до 3000 імпульсів, щільність енергії від 28 kV до 24 kV ($0,62-0,56$ мДж/мм²). З загальної кількості спостережуваних пацієнтів зрощення переломів кісток виявлено через 3-4 місяця після ЕУХТ у 75,4% випадків, причому сприятливий ефект відмічений авторами при гіпотрофічних незрощеннях і сумнівний при атрофічних. Крім того за результатами спостережень у пацієнтів дефекти при незрощених переломах більше 5 мм не були перешкодою для консолідації кісткових уламків. Автори також вважали важливим виділити протипокази для застосування ЕУХТ: атрофічні незрощені переломи довгих кісток, стани після кісткової аутопластики. Яких небудь загальних ускладнень після ЕУХТ у пацієнтів автори не виявили, відмітили петехії і гематоми шкіри діаметром менше 3 см.

В той же час в літературі є роботи, які рекомендують застосування ЕУХТ в лікуванні атрофічних незрощень переломів кісток після їх МОС. Так S.J. Kuo et al [103] застосовували ЕУХТ у 22 пацієнтів з незрощеними атрофічними переломами шийки стегнової кістки після закритого МОС

блокованим стержнем. Клініко-рентгенологічні результати спостереження пацієнтів показали, що у 14 випадках (63,6%) протягом в середньому 9,2 місяці (6-13 місяців) наступила консолідація кісткових уламків. Число зрощень склало 100% (у 8 пацієнтів) коли ЕУХТ застосовували протягом 12 місяців після МОС і – 42,9% (6 з 14 пацієнтів), коли ЕУХТ застосовували через 12 місяців після МОС. У пацієнтів з незадовільними результатами лікування – відсутністю зрощення шийки стегнової кістки були виконані повторні хірургічні втручання – МОС пластиною з кістковою аутопластиком.

Дослідження ефективності ЕУХТ високої енергії на консолідацію повільно-зрощених і незрощених переломів плеснових кісток стопи у 32 пацієнтів (34 перелома) провели R.G.Alvares et al [99]. ЕУХТ застосовувалась в середньому через 23 тижні після травми (від 10 до 33 тижнів) в дозі 2000 імпульсів, щільності енергії 0,22-0,51 мДж/мм², тривалість процедури склала 24,6±16,6 хвилин. В термін 6 і 12 місяців спостереження пацієнтів зрощення уламків плеснових кісток було констатоване відповідно у 89% і у 90% випадків. 3 місцевих ускладнень у 5 пацієнтів (15,6%) після ЕУХТ відмічали набряк стопи. Також позитивний ефект ЕУХТ відмітив G.V.Holmet [116] при лікуванні пацієнтів зі сповільнено зростаючими і незросшими переломами плеснових кісток стопи.

J.D.Rompe et al [113] використовували високу енергію ударних хвиль для лікування 43 пацієнтів з незрощеними переломами стегнової і ВГК. Через 4 місяці від початку лікування ЕУХТ автори клініко-рентгенологічно відмітили наявність зрощення переломів кісток у 31 (72%) пацієнтів.

M.C.Vulpiani et al [122] досліджували ефект ударних хвиль високої енергії на зрощення переломів довгих кісток (ключиця, кістки передпліччя, плечової кістки, великогомілкової і стегнової кісток), а також коротких кісток (човноподібної і зап'ясткових кісток кисті) у 143 пацієнтів у віці 14-81 рік. Під спостереженням було 115 гіпертрофічних (10,5%), 104 – оліготрофічних (72,7%) і 24 (16,8%) – атрофічних незрощених переломів кісток. ЕУХТ включала від 3 до 5 сеансів з числом імпульсів від 2500 до

3000, щільності енергії від 0,25 до 0,84 мДж/мм², інтервалами між процедурами 48-72 години. Пацієнти знаходились під спостереженням протягом 12 місяців до зрощення або незрощення перелому кістки. При цьому повне зрощення переломів кісток автори відмітили у 80 випадках (55,9%) в середній термін 7,6 місяців; часткове зрощення – в 22 випадках (15,4%). Пацієнти з гіпертрофічними незрощеними переломами мали кращі результати лікування в порівнянні з атрофічними ($p < 0,05$).

Цікавість представляють дослідження A.Cacchio et al [101], які клініко-рентгенологічно, а також за шкалою DASH порівнювали результати нехірургічного (ЕУХТ) і хірургічного лікування гіпертрофічних незрощених переломів довгих кісток (кістки передпліччя, стегнової і ВГК, у 126 пацієнтів розділених з аналогічними демографічними показниками в 3 групи, в кожній по 42 пацієнти. Всім пацієнтам раніше проводилось хірургічне лікування (МОС стержнями і пластинами) переломів довгих кісток, причому у 20 пацієнтів було виконано більше 1 хірургічного втручання. З загальної кількості у 111 пацієнтів спостерігався біль, патологічна рухливість кісткових уламків, міграція імплантів. Лікування пацієнтів I-II групи проводилось ЕУХТ при дозуванні: 4000 імпульсів, щільність енергії 0,40 мДж/мм²(I група); 4000 імпульсів, щільність енергії 0,70 мДж/мм² (II група). Пацієнти I і II групи отримували 4 курси ЕУХТ з інтервалами в 7 днів. Лікування пацієнтів III групи проводилось хірургічно, в 23 випадках був виконаний МОС блокуючими стержнями, в 12 випадках – блокуючими стержнями з кістковою аутопластикою, в 7 випадках – апаратами зовнішньої фіксації. Порівняльний аналіз перебігу кісткоутворюючих процесів в трьох групах пацієнтів показав, що через 3 і 6 місяців після лікування клінічні результати в I і II групах пацієнтів (лікування ЕУХТ) були статистично значно кращими ніж в III групі пацієнтів (хірургічне лікування), при $p < 0,001$. Рентгенологічно не було відмічено різниці в характері зрощення кісткових уламків через 6 місяців від початку лікування: зрощення констатовано в 70% випадків у пацієнтів I групи, 71% - II групи, і 73% - III групи. Також автори

відмітили, що не було суттєвих відмінностей в клінічних результатах між трьома групами пацієнтів до 12 і 24 місяця. В той же час виключенням була оцінка за шкалою DASH: кращі віддалені результати до 12 місяців були отримані у пацієнтів I і II групи, пролікованих ЕУХТ ($p=0,038$ і $z=0,021$). В заключенні автори відмітили, що ЕУХТ є простим, безпечним альтернативним хірургічному методу лікування гіпертрофічних незрощень переломів кісток, який дає кращі клінічні результати.

В. Moretti et al [152] досліджували ефект впливу ЕУХТ у 204 пацієнтів з псевдоартрозами різних кісток, у яких кінцівки під час ЕУХТ були іммобілізовані гіпсовими шинами або не було іммобілізовані при наявності імплантів після МОС. Дозування ЕУХТ складала 4000 імпульсів, щільність енергії між 0,22 і 1,10 мДж/мм². Терміни спостереження пацієнтів після закінчення лікування склали: мінімальні 45 днів, максимальні – 3 місяці. Консолідація псевдоартрозів наступила у 174 (85%) пацієнтів. При лікуванні псевдоартрозів кращі результати були отримані при поєднаному застосуванні ударних хвиль високої і низької енергії ($p<0,05$). При цьому серед пацієнтів консолідація псевдоартрозів наступила у 100% випадків при локалізації їх в ділянці ключиці і кісток зап'ястка, 96% - ліктьової кістки, 80% - стегнової кістки і човноподібної кістки кисті, 78% - плечової і ВГК. У чоловіків були кращі результати – 87% в порівнянні з жінками (83%), як і у пацієнтів молодше 60 років (89%) в порівнянні зі старшими (83%). Серед місцевих ускладнень при застосуванні ЕУХТ відмічені петехії і гематоми шкіри, які спонтанно зникали. Автори пропонують застосування ЕУХТ як ефективного, неінвазивного методу лікування псевдоартрозів в поєднанні з зовнішньою механічною стабілізацією кісткових уламків (шинами, ортезами), при їх необхідності.

В.М.Левенець зі співавторами [35] з успіхом застосували ЕУХТ в лікуванні 37 пацієнтів з псевдоартрозами кісток (кісток гомілки – 26, ключиці -1, плечової кістки -3, стегнової кістки -7). При лікуванні псевдоартрозів використовували ЕУХТ високої енергії при 3000 імпульсів, щільності енергії 0,6-0,8 мДж/мм²,

частотою 4 Гц, кількість сеансів -5. Протипоказаннями до використання ЕУХТ автори вважали сповільнену консолидацію переломів, нормотрофічні або атрофічні псевдоатрози, негативні результати після хірургічного втручання, розмір щілини між кістковими уламками більше 4-5 мм., наявність остеомієлітичного процесу, запальні процеси шкіри у зоні несправжнього суглобу. Хоча з рядом відмічених протипоказань (сповільнена консолидація переломів, нормотрофічні або гіпотрофічні псевдоатрози, розмір щілини між кістковими фрагментами не більше 4-5 мм) не згодні інші автори [99, 103]. На основі наведеного клінічного, лабораторного, ортопедичного, рентгенологічного методів дослідження, а також візуальної аналогової шкали ВАШ автори відмітили доцільність застосування фокусованої ЕУХТ високої енергії в лікуванні псевдоатрозів кісток.

Ряд робіт в літературі присвячено оцінці ефективності ЕУХТ в лікуванні псевдоатрозів човноподібної кістки [44, 128, 169]. Так, A.Notarnicola et al [105] навели порівняльне дослідження по вивченню ефективності лікування пацієнтів з псевдоатрозами човноподібної кістки кисті у 2 груп пацієнтів: 1 група – лікування ЕУХТ (58 пацієнтів), 2 група – лікування хірургічне – МОС з кістковою аутопластиком за технікою Mutti-Russe (60 чоловік). При цьому характер патології і демографічні показники в обох групах пацієнтів були аналогічні: характер псевдоатрозів ($p=0,46$), стать ($p=0,41$), вік ($p=0,95$). Пацієнтам 1 групи застосовували ЕУХТ в кількості 3 сеансів при щільності енергії $0,09 \text{ мДж/мм}^2$. При оцінці клініко-функціональних результатів лікування за шкалою Mayo Wrist Score і рентгенологічних даних отримані наступні результати. Через 2 місяці після лікування в 1 групі хворих показано значне покращення показників шкали від 20 до 74,6 балів ($p<0,001$), що відповідало 86,3% задовільних або відмінних результатів, до цього ж терміну в 2 групі пацієнтів показники шкали зростали від 27,5 до 74,2 балів з 83,4 задовільних або відмінних результатів ($p<0,001$). Також через 2 місяці рентгенологічно консолидація псевдоатрозів човноподібної кістки була

констатована у пацієнтів 1 групи в 75,9% випадків, в 2 групі – в 76,7%. При оцінці результатів лікування по шкалі Mayo Wrist Score через 6 і 12 місяців не було виявлено достовірних клініко-функціональних і рентгенологічних відмінностей між двома групами пацієнтів ($p>0,05$). Автори прийшли до висновку, що ЕУХТ і хірургічний метод лікування псевдоатрозів човноподібної кістки кисті дають аналогічні результати, хоча завдяки неінвазивності першого методу він має переваги. А.В.Борзих зі співавторами [44] в своїх роботах також відмітили позитивний ефект ЕУХТ при лікуванні псевдоатрозів човноподібної кістки кисті в дозі 2000 імпульсів при щільності енергії 0,4 мДж/мм².

В літературі є повідомлення про ефективність лікування ЕУХТ стресових переломів кісток нижніх кінцівок, які виникають у спортсменів при хронічних перенавантаженнях і потребують, як правило, оперативного лікування. Так, В. Moretti et al [152] в своїй роботі навели результати лікування ЕУХТ 10 футболістів зі стресовими хронічними переломами великогомілкової кістки і плеснових кісток, яким проводились 3-4 сеанси ЕУХТ. Через 8 тижнів в середньому у всіх спортсменів рентгенологічно наступило зрощення переломів кісток, клінічні результати лікування були оцінені як відмінні, всі спортсмени повернулися в активний спорт. На основі цих досліджень автори запропонували застосовувати неінвазивний метод ЕУХТ для лікування стресових переломів кісток у спортсменів. J.A.Ogden et al [131] також відмітили ефективність ЕУХТ при лікуванні стресових переломів кісток, відмічений ефект автори пов'язували з інтенсифікацією васкуляризації, мікроциркуляції, індукції факторів росту кісткової тканини, активації процесів її ремоделювання.

Таким чином, наявні в літературі публікації свідчать про позитивний вплив ЕУХТ як на консолідацію “свіжих” переломів кісток, так і на порушення перебігу процесів кісткоутворення. Що стосується “свіжих” переломів кісток, то в цьому випадку ефективність переважно пов'язується з радіальною ЕУХТ (низької і середньої енергії), вплив якої супроводжується

індукцією ангиогенних і остеогенних факторів росту, активізацією мезенхімальних стовбурових клітин кісткової мозолі у формуванні механімоподібної тканини, диференціювання її в остеїдну тканину. В той же час при порушеннях репаративного остеогенезу в т.ч. сповільнено зростаючих переломах і псевдоартрозах, ефективність впливу обумовлюється переважно фокусованою ЕУХТ (високої енергії), яка викликає мікропереломи, розвиток гематоми з наступною активацією репаративних процесів і консолідацією кісткових уламків. Встановлена більш висока ефективність фокусованої ЕУХТ в лікуванні гіпертрофічних псевдоартрозів в порівнянні з атрофічними. Хоча відмічених положень притримується більшість авторів, в літературі є й інші думки, які не притримуються цієї концепції, недостатньо вивчені і механізми впливу ЕУХТ на кісткоутворюючі процеси.

Виходячи з викладеного, ми вважали за доцільне дослідити ряд сторін механізму впливу РЕУХТ на перебіг експериментальної травми кісток, в т.ч. на реваскуляризацію (неоваскуляризацію) кісткової тканини, активність імунно-компетентних клітин, метаболізм основних інгредієнтів основної речовини, характер репаративного остеогенезу, чому і була присвячена виконана робота.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експериментальні дослідження виконані на 95 дорослих кроликах-самцях, породи шиншила, масою від 2,9 до 3,4 кг, які склали інтактну (5 тварин), контрольну (45 тварин) та основну (45 тварин) групи. Під час експерименту тварин утримували у віварію при належних кліматичних умовах, з дотриманням 12-годинного режиму освітлення та стандартного раціону харчування відповідно до вимог міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (European convention for the protection of vertebrate animal soused for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasburg. – 1986. – 52 p.) [89], Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. “Про захист тварин від жорсткого поводження” та біоетичних норм.

У тварин контрольної та основної груп застосовано стандартну модель наскрізного дірчатого дефекту проксимального метадіафіза ВГК у фронтальній площині, діаметром 2,5 мм. Використана модель травматичного ушкодження кістки запропонована проф. Н.А.Воробйовим, вона є класичною при вивченні кісткоутворюючих процесів, оскільки повністю виключає рухомість кісткових уламків – негативного фактору, який впливає на процеси репаративного остеогенезу [11]. Хірургічні втручання на кроликах виконували в операційній віварію НМАПО імені П.Л.Шупика в стерильних умовах під комбінованою анестезією: внутрішньовенно вводили 3% розчин кетаміну (0,3 мл/кг), місцево – 0,5% розчину новокаїну (0,4 мл/кг).

Після формування дефекту проксимального метадіафізу великогомілкової кістки рану зашивали, іммобілізацію оперованої кінцівки не проводили.

Тварини, яким після отримання травматичного ушкодження додаткового впливу в післяопераційному періоді на ділянку травми метадіафізарного відділу ВГК не застосовували, були включені в контрольну

групу спостережень. До основної групи спостережень взято тварин, у яких після отримання однотипного дефекту метадіафіза ВГК на ділянку травми ВГК впливали радіальними низько-енергетичними ударними хвилями. Дослідження з метою визначення впливу цього фізичного фактору на репаративний остеогенез виконується в Україні вперше.

Нами використано апарат для РЕУХТ фірми Storz Medical (Suisse), модель MP 200 (Мастерпульс МП 200). Частота ударів відповідала 1–21 герц, робочий тиск – 1-5 бар. Ударна хвиля утворювалась пневматично (балистично). При цьому лікувальний вплив здійснювали при загальній кількості ударів на ділянку дефекту кісткової тканини за одну процедуру – 2 тис, у тому числі безпосередньо на рану (дефект кістки) з використанням головки для класичної РЕУХТ R15, діаметр – 15 мм, максимальній енергії 0,38 мДж/мм². Загальна кількість лікувальних сеансів на курс – 4, інтервал між сеансами – 3 доби, процедури ЕУХТ проводили на 3, 6, 9, 12 добу після травми великогомілкової кістки.

У тварин після виконання хірургічного втручання на ВГК досліджували активність і загальну реакцію (харчування, температуру, масу тіла), а також характер загоєння післяопераційних ран.

З метою дослідження ряду ланок механізму впливу ЕУХТ на процеси репаративного остеогенезу кісткової тканини після сформованого дефекту проксимального метадіафіза ВГК нами проведено клініко-рентгенологічні, біохімічні, імунологічні, гістоморфометричні та статистичні дослідження.

2.1. Біохімічні дослідження

Дослідження проведені в лабораторії біохімії ДУ “Інститут травматології та ортопедії НАМН України”, вони консультовані проф. О.М.Магомедовим. В експерименті біохімічні маркери досліджували у 45 дорослих кроликів, які склали інтактну (5 тварин), контрольну (20 тварин) і основну (20 тварин) групи. У 5 кроликів інтактної групи, а також у 5 кроликів контрольної і основної груп через 2, 15, 30, 45 днів після травми

ВГК забирали кров, СК відділяли на центрифугі при 1500 об/хв. В СК кроликів визначали наступні біохімічні показники: активність колагенази, фракції гідроксипроліну (вільну – ВФГ та протеїнзв'язану – ПФГ), ГАГ. У відмічені терміни дослідження після взяття крові тварин виводили з досліду шляхом введення в вушну вену 10% розчину тіопенталу натрію. Зразки кісткової тканини кроликів інтактної, контрольної і основної групи отримували відразу після виводу тварин із досліду, ВГК виділяли від м'яких тканин, відразу нижче горбистостей великогомілкової кістки виконували резекцію її проксимального відділу, розміщували в спиртово-ефірну суміш у співвідношенні 3:1 на 24 години, витримували в ефірі 5-6 годин, потім поміщали в термостат на 2-3 години. Безпосередньо перед аналізом кісткову тканину заморожували в рідкому азоті і розтирали в порошок. У зразках кісткової тканини визначали колаген і ГАГ. Для визначення досліджуваних показників в СК були використані наступні методики:

1. Активність колагенази, важливого ферменту в метаболізмі колагену у СК, визначали по S.Lindy, J.Halme [124]. В якості субстрату використовували колаген виробництва фірми Sigma (США). Принцип метода – визначення кількості гідроксипроліну, відщепленого від субстрату під дією колагенази СК під час інкубації при +37°C в присутності іонів кальцію і рН 7,54. Активність ферменту виражали в мкмоль/л.
2. ВФГП (маркер резорбції кісткової тканини) і ПФГП (маркер синтезу кісткової тканини) в СК виділяли по методу S.Frey [107]. Гідроксипролін у фракціях визначали по H.J.Stegemann [154]. Метод базується на визначенні оптичної щільності червоного хромогену, отриманого в результаті окислення і декарбоксілювання вільної амінокислоти і конденсації продуктів окислення парадиметиламінобензальдегідом. Окислення гідроксипроліну проводили хлораміном Б. Вміст гідроксипроліну у СК виражали у мкмоль/л.

3. Сумарний вміст ГАГ у СК визначали по С.А.Кляцкіну і Р.І.Ліфшиць [30]. Принцип методу полягає в наступному: ГАГ виділяли з СК за допомогою цитілпіридинхлориду. Вивільнені в результаті гідролізу гексози, взаємодіючи з орциновим реактивом, зафарбовувались в рожевий колір, інтенсивність забарвлення була прямопропорційною вмісту гексоз. Вміст ГАГ у СК визначали у г/л.
4. Колаген в кісткових регенератах досліджували по методу А.А.Крель і Л.Н.Фурцевій [34]. Принцип методу оснований на визначенні оптичної щільності червоного хромогену, отриманого в результаті окислення і декарбоксілювання вільної амінокислоти і конденсації продуктів окислення парадиметиламінобензальдегідом. Гідроксипролін окисляли хлораміном Б. Результати визначали в мг/г сухої тканини.
5. Вміст ГАГ в кістковій тканині визначали орциновим методом по С.А.Кляцкіну, Р.І.Ліфшиць [30]. Принцип методу полягає у виділенні ГАГ з тканини цитилпіридинхлоридом. Звільнені в результаті гідролізу гексози взаємодіють з орциновим реактивом, зафарбовують розчин в жовтий колір, інтенсивність забарвлення прямопропорційна вмісту гексоз. Показники вмісту ГАГ виражали в мкг/мг сухої тканини.

Отримані біохімічні дані обробляли статично по Ст'юденту, вірогідною вважали різницю між порівнюваними показниками при $p < 0,05$.

2.2. Імунологічні дослідження

Імунологічні дослідження виконані в лабораторії імуномодуляторів інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р.Е. Кавецького НАН України, вони консультовані проф. Г.П. Потебнею. Вивчення функціональної активності імунних клітин в СК проводили у кроликів контрольної та основної груп (по 5 тварин) до травми, а також через 2, 15, 30 і 45 діб після травми в МТТ-тесті, як описано у M. Ohno, T. Abe [132], Z.D. Juranic et al [160] в модифікації О.С.Дворщенко у співавт. [42]. Для

цього дослідження в наведені терміни у тварин з вушної вени брали кров (3-4 мл).

Визначення ЦТА Лц/Мф

В 96-лункові плоскодонні планшети вносили 0,1 мл суспензії клітин-мішеней (КМ), в концентрації 3×10^4 та 0,1 мкл відповідних клітин-ефекторів (КЕ) у концентрації 1×10^5 . В якості клітин мішеней виступали ксеногенні клітини карциноми ерліха. Співвідношення КМ:КЕ – 1:3. В контрольні лунки вносили 100 мкл КМ або КЕ. Інкубували в термостаті протягом 18 год при 5% CO₂, 100% вологості, 37°C. Після закінчення інкубації додавали 0,02 мл розчину МТТ в концентрації 5 мг/мл і інкубували 4 год в 5% CO₂, 100% вологості, 37° С, відмивали двічі фізіологічним розчином хлориду натрію при 4000 об/хв 15 хв. Після останнього відмивання додавали 0,12 мл КОН (2 моль/л) і 0,14 мл 50% розчину ДМСО. Оптичну густину вимірювали при $\lambda=540$ нм. Всі проби були у трьох повторностях. Результати розраховували за формулою:

$$\text{ЦА} = \frac{\text{ОГ}_e + \text{ОГ}_m - \text{ОГ}_{e+m}}{\text{ОГ}_e + \text{ОГ}_m} * 100\%, \text{ де}$$

ЦА – рівень цитотоксичної активності лімфоцитів або макрофагів;

ОГ_e – оптична густина в пробах з Лц або Мф

ОГ_m – оптична густина в пробах з КМ

ОГ_{e+m} – оптична густина в дослідних серіях

Визначення рівня АЗЦ Лц/Мф

В 96-лункові плоскодонні планшети вносили 0,1 мл суспензії КМ у концентрації 3×10^4 та додавали 0,01 мл СК, отриманої від тварин з тієї ж групи. Інкубували 45 хв при 5% CO₂, 100% вологості та +37° С. Після інкубації вносили 0,1 мл суспензії КЕ у концентрації 10^5 та інкубували в термостаті 18 годин в 5% CO₂, 100% вологості при +37°C. Співвідношення КМ:КЕ становило 1:3. Після закінчення інкубації до лунок додавали 0,02 мл

розчину МТТ в концентрації 5 мг/мл і інкубували 4 год за тих же умов. Відмивали двічі фізіологічним розчином хлориду натрію при 4000 об/хв 15 хв. Після останнього відмивання додавали 0,12 мл КОН (2 моль/л) і 0,14 мл 50% розчину ДМСО. Після розчинення утвореного МТТ-формази оптичну густину вимірювали при $\lambda=540$ нм. Всі проби були у трьох повторностях. Результати розраховували за формулою:

$$\dot{A}\check{C}\ddot{O} = \frac{OГ_e + OГ_m - OГ_{e+m+c}}{OГ_e + OГ_m} * 100\%, \text{ де}$$

$\dot{A}\check{C}\ddot{O}$ – рівень антитілозалежної цитотоксичності лімфоцитів або макрофагів;

$OГ_e$ – оптична густина в лунках з Лц або Мф;

$OГ_m$ – оптична густина в лунках з КМ

$OГ_{e+m+c}$ – оптична густина в серіях з додаванням СК

Розрахунок ІМ, який свідчить про потенціуючий вплив СК на активність імунних клітин, виконували за формулою:

$$IM = \frac{AZЦ_{Лц/Мф} - ЦТА_{Лц/Мф}}{ЦТА_{Лц/Мф}} * 100\%, \text{ де}$$

$ЦТА_{Лц/Мф}$ - дані щодо цитотоксичної активності Лц або Мф;

$AZЦ_{Лц/Мф}$ - дані щодо антитілозалежної цитотоксичної активності Лц або Мф.

Від’ємний показник ІМ вказує на наявність в СК гуморальних факторів, які стимулюють імунні клітини, тобто наявність імуностимулюючої дії.

Вивчення ЦАСК

ЦАСК визначали, як описано Г.В.Диденко з співавт [4]. До 100 мкл суспензії ПК у концентрації $3 \cdot 10^5$ кл/лунку додавали 10 мкл СК. Інкубували 40 хв при кімнатній температурі. Після чого додавали 100 мкл комплементу (розведення 1:4) і інкубували 60 хв при 5% CO_2 , 100% вологості, $+37^\circ C$. Після інкубації двічі відмивали фізіологічним розчином хлориду натрію і додавали 200 мкл середовища RPMI-1640 з 10% ЕТС і 20 мкл розчину МТТ в концентрації 5мг/мл. Інкубували 4 год при 5% CO_2 , 100% вологості і при

370С. Двічі відмивали фізіологічним розчином хлориду натрію. Після останнього відмивання додавали 140 μ л 50% розчину ДМСО. Оптичну густину вимірювали при $\lambda=540$ нм (microELISA reader, США). Всі проби були в триплетах. Результати розраховували за формулою:

$$\text{ЦАСК} = \frac{\text{ОГ}_{(m+c)} - \text{ОГ}_m}{\text{ОГ}_m} * 100\%, \text{ де}$$

ЦАСК – цитотоксична активність сироватки крові

ОГ_м – оптична густина в лунках з мішенями (ПК)

ОГ_(m+c) – оптична густина в серіях з додаванням сироватки і комплементу

Визначення рівня ЦІК

Вміст середньомолекулярних ЦІК в СК визначали методом преципітації у 4,5% розчині поліетиленгліколя–6000 (ПЕГ–6000). Для визначення ЦІК 0,2 мл СК розводили в 3 рази 0,1 М боратним буфером. Після чого по 0,2 мл отриманої суміші переносили в 2 мл 0,1 М боратного буфера і в 2 мл 4,5% розчину ПЕГ–6000. Додатковий контроль з ПЕГ–6000 не ставили, оскільки він суттєво не впливає на світлорозсіювання. Після ресуспендування проби інкубували при 18–20°C протягом 2 годин. Результати реакції визначали фотометрично на рідері (Titertek Multiskan, Фінляндія) при $\lambda=450$ нм. Результати враховували віднімаючи показники оптичної густини контролю (сироватка розведена в боратному буфері без ПЕГ) від показників оптичної густини в зразках, які містили ПЕГ. Отримані показники виражали в оптичних одиницях (опт.од.)

Оцінка рівня АТ у СК

Рівень АТ у крові досліджуваних тварин оцінювали за допомогою імуноферментної реакції [18], яку проводили в 96–лункових мікроплатах (Dynatech, Швеція). В лунки мікроплат вносили по 100 мкл козячих моноклональних антитіл проти IgG мишей (Sigma, США) в титрі 1:10000. Сорбцію моноклональних АТ проводили протягом 4 год при +4°C. Після сорбції планшету тричі відмивали 0,01 М ФБР (рН 7,2) і наносили сироватки

піддослідних тварин в розведенні 1:20. Для виявлення комплексу антиген–антитіло використовували очищені АТ проти імуноглобулінів G кроликів, мічені пероксидазою (Sigma, США), в розведенні 1:1000. В якості субстрату використовували ТМБ. ІФР гальмували внесенням до лунок 0,05 мл 1 М сірчаної кислоти. Контрольні виміри інтенсивності ІФР проводили в лунках, з яких було вилучено один із компонентів ІФР (антиген, сироватка, пероксидазна мітка). Результати реакції підраховували фотометрично за допомогою імуноферментного аналізатора (Titertek Multiskan, Фінляндія) при $\lambda=450$ нм. Кожний вимір проводили в триплетах.

Статистична обробка результатів

Статистичну обробку результатів проводили за загально прийнятими методами варіаційної статистики. Вірогідність різниці між контрольними та основними вимірами оцінювали за t -критерієм Ст'юдента. Вірогідною вважали різницю між порівнюваними показниками при $p<0,05$. Розрахунки та побудову графіків виконували з використанням прикладної програми *OriginLab*.

2.3. Рентген-морфологічні дослідження

Рентген-морфологічні дослідження виконані в лабораторії патоморфології ДУ Інститут травматології та ортопедії НАМН України, вони консультовані проф. А.Т.Бруско.

Дослідження охоплюють 20 кроликів контрольної та 20 кроликів основної групи, на кожний термін спостереження (2, 15, 30, 45 діб) взято по 5 кроликів. Для досліджень в обох групах тварин оперовану ВГК витинали, звільняли від м'язів та виконували рентгенографію на апараті Мультакс ЮП. Рентгенографію кісток оперованої гомілки проводили всім 40 тваринам контрольної та основної груп в двох стандартних проекціях у відмічені терміни. На прямих та бокових рентгенограмах в динаміці оцінювали структуру кісткової тканини в зоні скрізного дефекту ВГК, характер

формування зрощення зі сторони періоста і ендоста, реакцію кісткової тканини на дію ударних хвиль.

Гістологічно досліджували проксимальну третину діафіза ВГК, яку фіксували в 10% розчині формаліну, після чого витинали у межах здорових тканин (один см проксимальніше та дистальніше дефекту) та після декальцинації у 5% розчині азотної кислоти, зневоднення і знежирювання в ацетонах та спиртах наростаючої міцності заливали в целоїдин. Гістологічні зрізи товщиною до 10μ отримували у фронтальній площині через центр дірчатого дефекту й фарбували гематоксиліном та еозином, а також пікрофуксином за ван Гізона.

Для вимірювання товщини сформованого посттравматичного кортикального шару на ділянці дефекту використовували шкалу окуляр-мікрометра з ціною ділення 0,1 мм за Г.Г. Автанділовим [1].

Статистичну обробку матеріалу виконували з використанням програмного забезпечення Statistica. 5.5. Нормальність розподілу перевіряли за допомогою тесту Шапіро-Уїлки. Статистичну однорідність двох вибірок проводили за допомогою критеріїв Ст'юдента.

РОЗДІЛ 3

МЕТАБОЛІЗМ ОСНОВНИХ ОРГАНІЧНИХ КОМПОНЕНТІВ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ПІД ВПЛИВОМ РЕУХТ В УМОВАХ ТРАВМИ ВГК

Дослідження основних біохімічних маркерів кісткової тканини у тварин інтактної, контрольної і основної груп виконані як у СК так і в кісткових регенератах.

3.1. Результати досліджень СК

Аналіз біохімічних показників, отриманих при дослідженні СК у тварин контрольної групи на 2 день після травми ВГК, виявив, що активність одного з ключових ферментів в метаболізмі основного білка кісткової тканини – колагену – колагенази падала до $1,27 \pm 0,12$ мкмоль/л год (норма $1,52 \pm 0,16$ мкмоль/л год), при $p < 0,01$. У відсотковому відношенні це падіння досягало 16,4% (табл.3.1, рис.3.1). В цей же термін спостереження у тварин основної групи до початку РЕУХТ отримані аналогічні результати: активність колагенази в СК падала до $1,23 \pm 0,14$ мкмоль/л год ($p < 0,01$), що відповідало 19,1%.

До 2 дня від моменту травми в групі тварин контрольної групи в СК концентрація ВФГП – маркера резорбції кісткової тканини – дещо зростала відносно норми на 19,7%, в абсолютних показниках – $13,92 \pm 0,11$ мкмоль/л (норма $11,63 \pm 0,28$ мкмоль/л) при $p < 0,01$ (табл.3.1, рис.3.1). В ці ж терміни спостереження у тварин основної групи вміст ВФГП також підвищувався на 16,6% ($13,56 \pm 0,12$), ($p < 0,01$). Через 2 дні від моменту травми в СК контрольних тварин вміст ПФГП – біохімічного маркера синтезу кісткової тканини знижувався до 19,2%, в абсолютних показниках до $8,19 \pm 0,10$ мкмоль/л (норма $10,14 \pm 0,55$ мкмоль/л), ($p < 0,01$) (табл.3.1, рис.3.1).

Біохімічні показники СК кроликів під впливом РЕУХТ на ділянку травми кістки.

Показники які вивчали	Інтактна група	Групи тварин	Термін спостереження, дні			
			2	15	30	45
Колагеназа, мкмоль/л год	1,52 ± 0,16	контрольна	1,27±0,12 p<0,01	1,67±0,11 p<0,05	1,42±0,12 p<0,05	1,5±0,1 p>0,05
		основна	1,23±0,14 p<0,01	1,84±1,10 p<0,001	1,74±0,10 p<0,02	1,65±0,16 p>0,05
Вільна фракція ГП, мкмоль/л	11,63 ± 0,28	контрольна	13,92±0,11 p<0,01	9,43±0,12 p<0,001	10,4±0,33 p<0,01	11,01±0,22 p<0,05
		основна	13,56±0,12 p<0,01	10,74±0,13 p<0,01	11,06±0,29 p<0,05	11,57±0,18 p<0,05
Протеїн-зв'язана фракція ГП, мкмоль/л	10,14 ± 0,55	контрольна	8,19±0,10 p<0,01	10,91±0,48 p>0,05	10,52±0,14 p>0,05	10,02±0,25 p>0,05
		основна	8,42±0,13 p<0,01	11,16±0,10 p<0,01	10,86±0,55 p<0,05	10,36±0,17 p>0,05
ГАГ, г/л	0,057 ± 0,003	контрольна	0,045±0,001 p<0,001	0,067±0,002 p<0,01	0,063±0,004 p<0,01	0,059±0,004 p>0,05
		основна	0,042±0,001 p<0,001	0,072±0,001 p<0,01	0,068±0,003 p<0,01	0,061±0,001 p<0,05

У тварин дослідної групи до цього часу вміст цього біохімічного показника також знижувався на 17,0% (8,42±0,13 мкмоль/л), p<0,01.

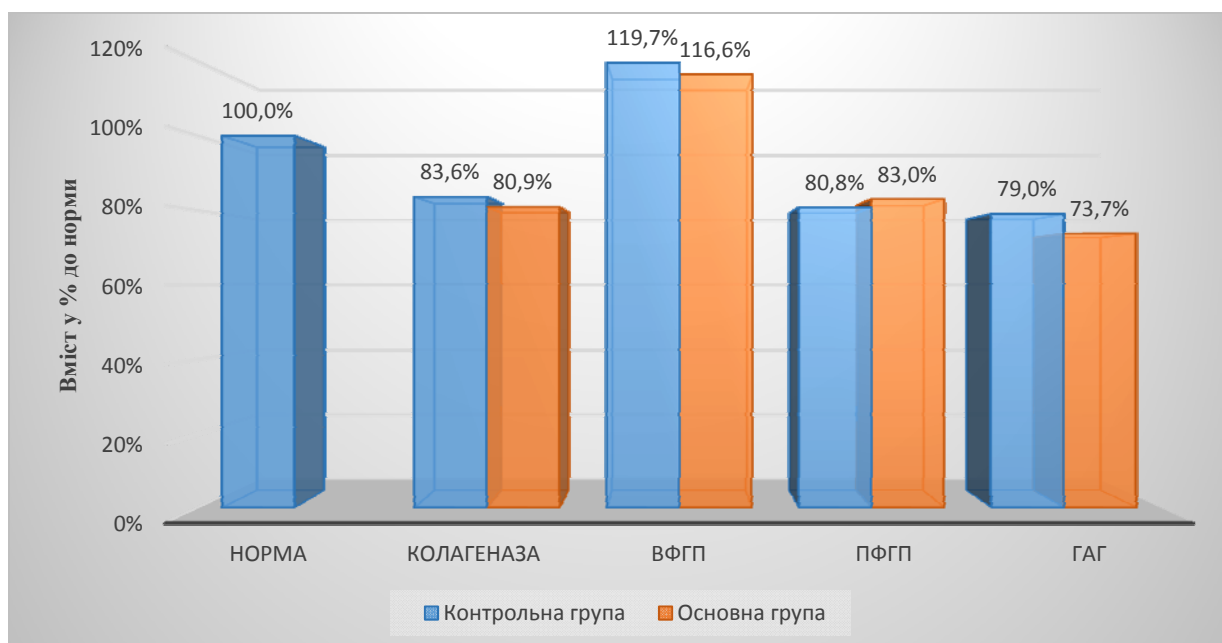


Рис.3.1. Біохімічні показники СК у тварин контрольної і основної груп на 2 день після травми.

На 2 день після травми у тварин контрольної групи в СК вміст ГАГ – одного з важливих компонентів основної речовини кісткової тканини – знижувався на 21,0% відносно норми, в абсолютних показниках до $0,045 \pm 0,001$ г/л при нормі $0,057 \pm 0,003$ г/л, $p < 0,001$ (табл.3.1, рис.3.1). У тварин основної групи цей показник аналогічно знижувався на 26,3% ($0,042 \pm 0,001$ г/л), $p < 0,001$.

Відповідно в ранньому посттравматичному періоді (2 день після травми) у кроликів обох груп динаміка вивчаємих біохімічних показників СК свідчила про пригнічення біосинтезу основних органічних компонентів кісткової тканини (колагену, ГАГ), підвищення її резорбції на фоні загальної метаболічної реакції організму на травму.

Дані, отримані на 15 день після травми показали, що вміст колагенази в СК контрольних тварин зростав до $1,67 \pm 0,11$ мкмоль/л год, тобто на 9,9% у відсотках ($p < 0,05$). У тварин основної групи після ЕУХТ цей показник був ще більшим – $1,84 \pm 1,10$ мкмоль/л год і – 21,1% відповідно, $p < 0,01$ (табл.3.1, рис.3.2). ВФГП в СК тварин обох груп дещо знижувалась, складаючи у кроликів контрольної групи $9,43 \pm 0,12$ мкмоль/л, що було на 18,9% нижче норми, $p < 0,001$, у кроликів основної групи – $10,74 \pm 0,13$ мкмоль/л, тобто на 7,6% нижче норми, $p < 0,01$ (табл.3.1, рис.3.2).

До цього ж часу в СК тварин контрольної групи вміст ПФГП зростав до $10,91 \pm 0,48$ мкмоль/л, у відсотках до 0,6% ($p > 0,05$) у тварин основної групи – відповідно до $11,16 \pm 0,10$ мкмоль/л і у відсотках - на 10,1%, при $p < 0,01$ (табл.3.1, рис.3.2). Також в СК обох груп тварин зростав вміст ГАГ: у кроликів контрольної групи – до $0,067 \pm 0,002$ г/л, що перевищувало норму на 17,5% ($p < 0,01$), у кроликів основної групи – $0,072 \pm 0,001$ г/л, тобто на 26,3% перевищувало норму, при $p < 0,01$ (табл.3.1, рис.3.2).

Результати виконаних досліджень біохімічних маркерів СК у кроликів через 15 днів після травми свідчать про те, що вплив 3 сеансів РЕУХТ на ділянку ушкодження великогомілкової кістки стимулює метаболічні процеси

в кістковій тканині, оскільки у тварин дослідної групи вміст досліджуваних показників в СК було більшим на 8,8-11,3% ($p<0,01$).

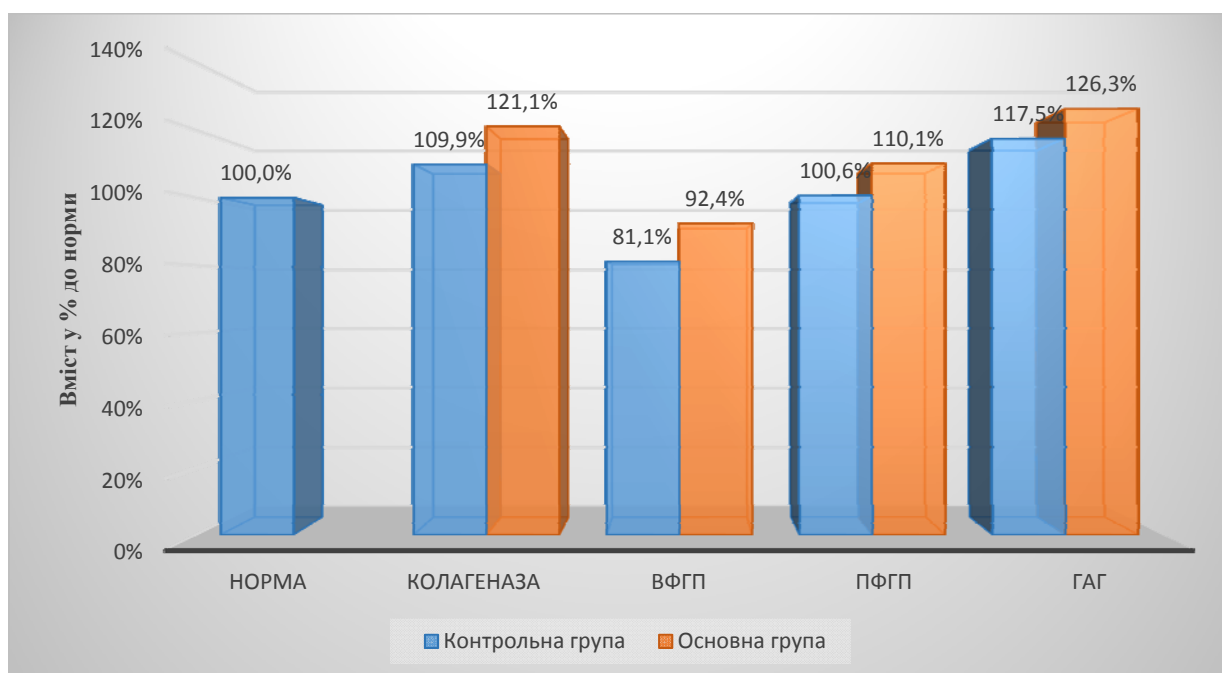


Рис.3.2. Біохімічні показники СК у тварин контрольної і основної групи на 15 день після травми.

До 30 дня після травми у кроликів контрольної групи активність колагенази дещо знижувалась – до $1,42\pm 0,12$ мкмоль/л, тобто було на 6,6% нижче норми ($p<0,05$), тоді як у тварин основної групи цей показник перевищував норматив на 14,6% ($1,74\pm 0,10$ мкмоль/л), $p<0,02$ (табл.3.1, рис.3.3).

До цього ж часу в обох групах кроликів вміст ВФГП в СК наближався до фізіологічної норми складаючи у тварин контрольної групи $10,4\pm 0,33$ мкмоль/л (10,6% нижче норми) ($p<0,01$), у тварин основної групи – $11,06\pm 0,29$ мкмоль/л (4,9% нижче норми) ($p<0,05$) (табл.3.1, рис.3.3). Показники ПФГП в СК до цього терміну відповідали фізіологічній нормі в обох групах кроликів: у тварин контрольної групи ПФГП СК складала $10,52\pm 0,14$ мкмоль/л (3,8% вище норми) при $p>0,05$, основної групи – $10,86\pm 0,55$ мкмоль/л (7,1% вище норми), при $p<0,05$ (табл.3.1, рис.3.3).

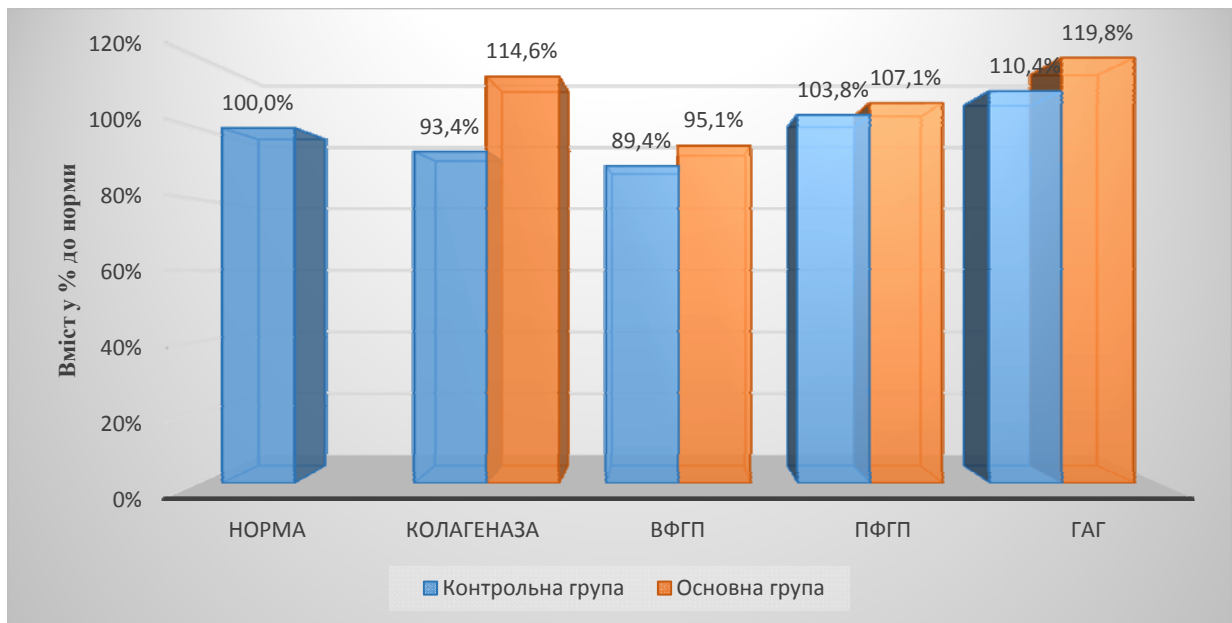


Рис.3.3. Біохімічні показники СК у тварин контрольної і основної груп на 30 день після травми.

Вміст ГАГ в СК обох груп тварин дещо знижувався в порівнянні з попереднім терміном, наближуючись до нормативу: $0,063 \pm 0,004$ г/л (на 10,4% вище норми) ($p < 0,01$) у тварин контрольної групи і до $0,068 \pm 0,003$ г/л (на 19,8% вище норми), у тварин основної групи, $p < 0,01$ (табл.3.1, рис.3.3).

Біохімічні маркери, отримані на 30 день спостереження в СК тварин свідчили про те, що метаболізм основних органічних компонентів кісткової тканини наближався до показників фізіологічної норми. Проте на фоні 4 сеансів РЕУХТ у тварин основної групи вміст колагенази і ГАГ в СК все ще залишалось суттєво вищим за норму.

На 45 день спостереження вміст колагенази в СК контрольних тварин відповідав нормі – $1,5 \pm 0,10$ мкмоль/л год (1,2% нижче норми), $p > 0,05$ і дещо, статистично достовірно перевищувало норму – $1,65 \pm 0,16$ мкмоль/л год (8,6% вище норми), $p < 0,05$ у тварин основної групи (табл.3.1, рис.3.4).

Вміст ВФГП в СК тварин контрольної групи наближався до норми – $11,01 \pm 0,22$ мкмоль/л, що склало 94,7% нормативу, $p < 0,05$, у тварин основної групи цей показник відповідав нормі - $11,57 \pm 0,18$ мкмоль/л (5,3% нижче норми) $p > 0,05$, (табл.3.1, рис.3.4). Концентрація ПФГП в СК контрольних кроликів також відповідала нормі – $10,02 \pm 0,25$ мкмоль/л (98,8%) $p > 0,05$, як і

у тварин основної групи – $10,36 \pm 0,17$ мкмоль/л, (102,2%) $p > 0,05$, (табл.3.1, рис.3.4). Вміст ГАГ в СК кроликів контрольної групи відповідав нормі, складаючи $0,059 \pm 0,004$ г/л (102,7%), $p > 0,05$, у тварин основної групи дещо перевищував норму – $0,061 \pm 0,001$ г/л (107%), $p < 0,05$ (табл.3.1, рис.3.4).

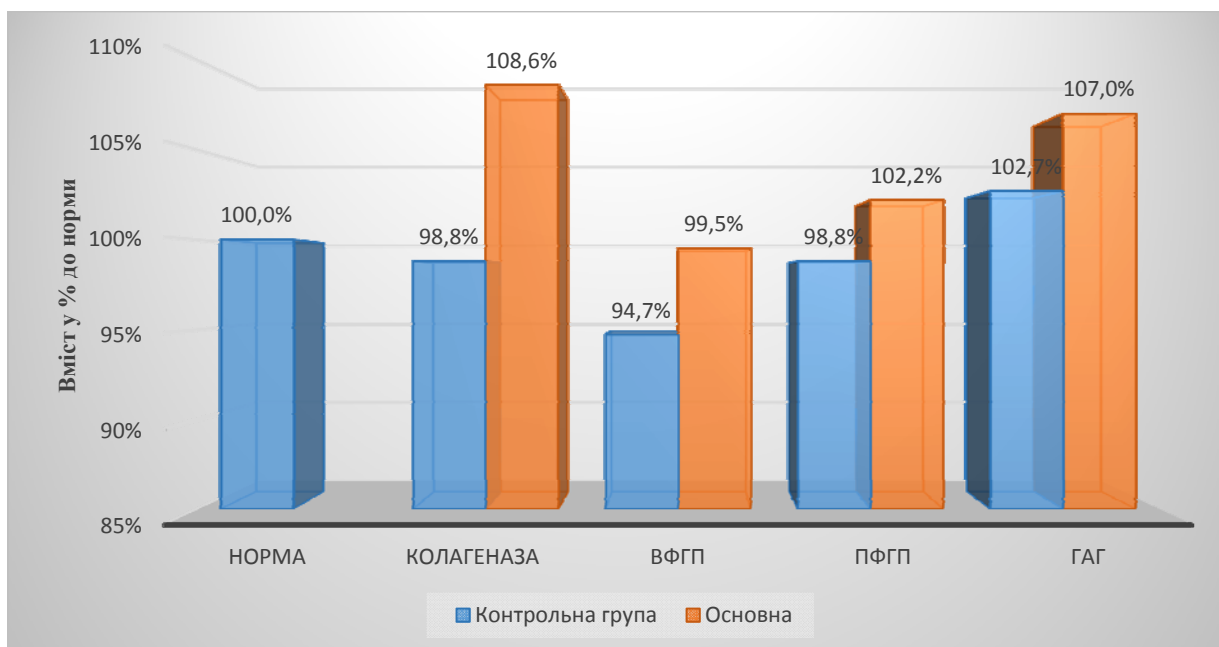


Рис.3.4. Біохімічні показники СК у тварин контрольної і основної групи на 45 день після травми.

Відповідно до 45 дня від моменту травми досліджувані біохімічні маркери стабілізувались, досягаючи значень аналогічних показників у інтактних тварин. В той же час під впливом РЕУХТ у тварин основної групи вміст одного з ключових ферментів в метаболізмі основного білка кісткової тканини колагену – колагенази, перевищував норму на 8,6% ($p < 0,05$), як і не менш важливого компоненту основної речовини кісткової тканини – ГАГ, їх вміст в СК перевищував норму на 7,0% ($p < 0,05$).

3.2. Результати дослідження кісткової тканини

Дані, отримані при дослідженні кісткових регенератів тварин контрольної і основної груп свідчили про те, що вміст в них основного білка

– колагену на 2 день після травми виявлялось зниженим. Так, в контрольній групі кроликів цей показник складав $3,72 \pm 0,11$ мг/г (на 29,1% нижче норми) $p < 0,001$, а в основній – $3,54 \pm 0,13$ мг/г (на 32,6% нижче норми), $p < 0,001$, норма $5,25 \pm 0,12$ мг/г, що наведено в табл.3.2 і на рис.3.5. На 15 день від моменту травми відмічено різке зростання вмісту колагену в кісткових регенератах у кроликів контрольної групи – до $5,7 \pm 0,2$ мг/г (на 8,6% вище норми) $p < 0,01$, в основній групі (після 3 сеансів РЕУХТ) – до $6,14 \pm 0,07$ мг/г (на 17,0% вище норми) $p < 0,01$.

Таблиця 3.2

Біохімічні показники кісткових регенератів кроликів під впливом РЕУХТ на ділянку травми.

Досліджувані показники	Інтактні тварини	Термін спостереження, день	Контрольна група	Основна група
Колаген мг/г	$5,25 \pm 0,12$	2	$3,72 \pm 0,11$, $p < 0,001$	$3,54 \pm 0,13$, $p < 0,001$
		15	$5,7 \pm 0,2$, $p < 0,01$	$6,14 \pm 0,07$, $p < 0,01$
		30	$5,85 \pm 0,21$, $p < 0,01$	$6,44 \pm 0,07$, $p < 0,01$
		45	$6,085 \pm 0,13$, $p < 0,001$	$6,37 \pm 0,05$, $p < 0,001$
ГАГ мкг/мг	$0,375 \pm 0,02$	2	$0,228 \pm 0,001$, $p < 0,001$	$0,218 \pm 0,003$, $p < 0,001$
		15	$0,373 \pm 0,001$, $p > 0,05$	$0,436 \pm 0,007$, $p < 0,001$
		30	$0,394 \pm 0,002$, $p < 0,05$	$0,470 \pm 0,001$, $p < 0,001$
		45	$0,413 \pm 0,009$, $p < 0,01$	$0,469 \pm 0,001$, $p < 0,001$

Подальша тенденція зростання вмісту колагену в кісткових регенератах обох груп кроликів відмічена і до 30 дня спостереження: до $5,85 \pm 0,21$ мг/г (на 11,7% вище норми) $p < 0,01$ у кроликів контрольної групи і – до $6,44 \pm 0,07$ мг/г (на 22,7% вище норми) $p < 0,01$ у кроликів основної групи. До кінця спостереження на 45 день після травми вивчасмі показники в обох групах тварин перевищували норму і складали в контрольній групі тварин

6,085±0,13 мг/г (на 15,9% вище норми) $p<0,001$, в основній групі –6,37±0,05 мг/г (на 21,3% вище норми) $p<0,001$.

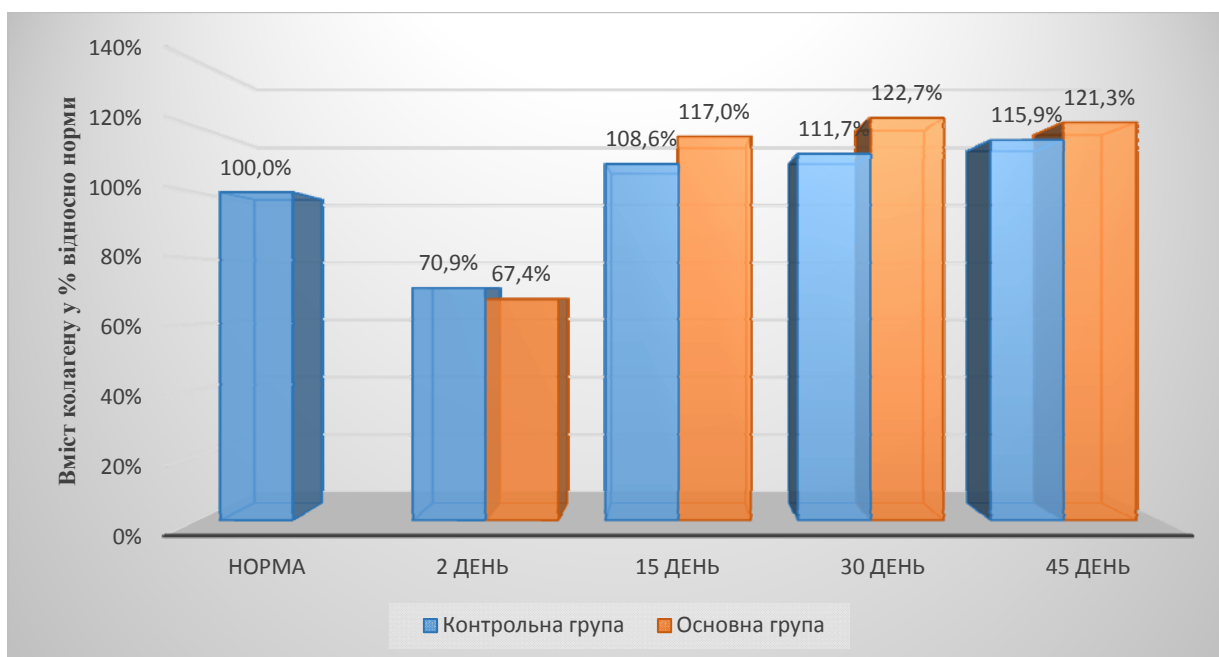


Рис.3.5. Вміст колагену в кісткових регенератах тварин контрольної і основної груп в порівнянні з інтактними тваринами (100%).

Динаміка дослідження ГАГ в кісткових регенератах обох груп кроликів також показала, що до 2 дня від моменту травми ВГК відмічалось виражене зниження їх вмісту в кісткових регенератах контрольної групи тварин до 0,228±0,01 мкг/мг (на 39,2% нижче норми) $p<0,001$, в основній групі тварин – до 0,218±0,03 мкг/мг (на 41,9% нижче норми) $p<0,001$, що наведено в табл.3.2, рис.3.6.

До 15 дня від моменту травми відмічено різке зростання вмісту ГАГ в кісткових регенератах кроликів основної групи – до 0,436±0,007 мкг/мг (на 16,3% вище норми) при $p<0,02$, а у тварин контрольної групи до показників норми –0,373±0,001 мкг/мг (99,5%) $p>0,05$. На 30 день від моменту травми концентрація ГАГ в кісткових регенератах тварин основної групи зростала до 0,470±0,007 мкг/мг (на 25,3% вище норми) при $p<0,001$, подібна тенденція відмічалась і у тварин контрольної групи: вміст ГАГ складав 0,394±0,002 мкг/мг (на 5,1% вище норми), $p<0,05$. До кінця дослідження (45 день після

травми) показник вмісту ГАГ в кісткових регенератах тварин основної групи склав $0,469 \pm 0,001$ мкг/мг (на 25,1% вище норми) $p < 0,001$, в кісткових регенератах кроликів контрольної групи $-0,413 \pm 0,009$ мкг/мг (на 10,1% вище норми) $p < 0,01$.

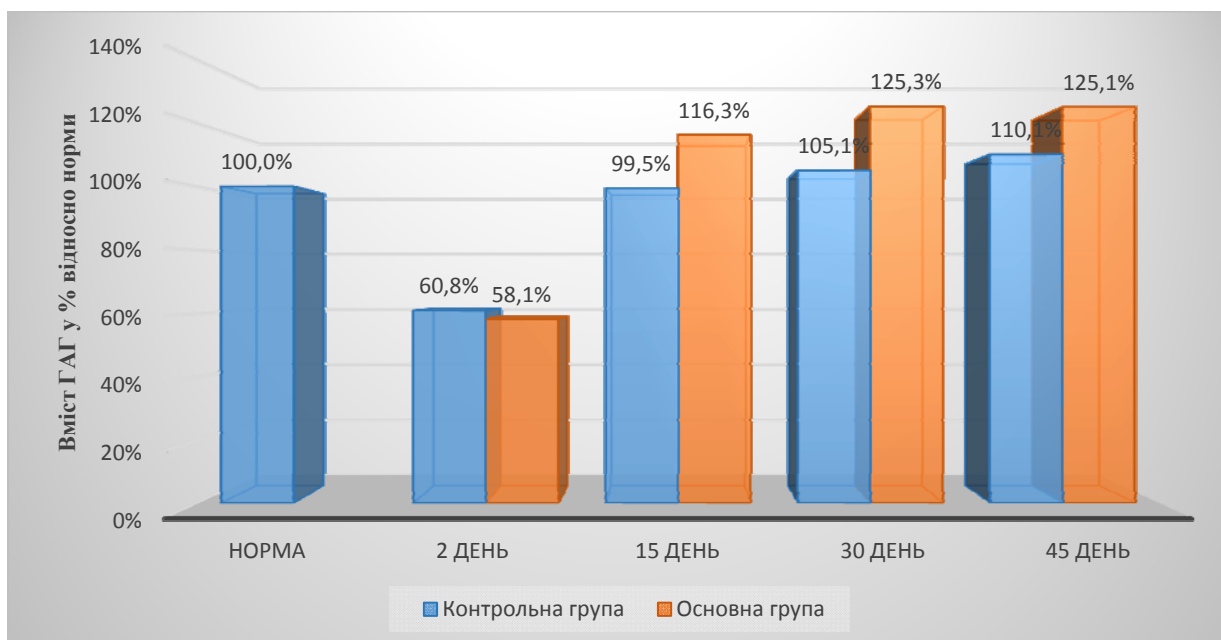


Рис.3.6. Вміст ГАГ в кісткових регенератах тварин контрольної і основної груп в порівнянні з інтактними тваринами (100%).

Таким чином, проведені дослідження, які відображають метаболізм основного білка кісткової тканини – колагену, показали зниження його вмісту в кісткових регенератах на 2 день після травми в обох групах тварин на 29,1-32,6%, $p < 0,001$ відносно норми, що мі пояснюємо наявністю катаболічної фази загальної обмінної реакції організму на травму. В наступні терміни спостереження на 15, 30 і 45 добу від моменту травми (анаболічна фаза) спостерігалось підвищення концентрації колагену в кісткових регенератах обох груп тварин: у кроликів контрольної групи до 108,6-115,9%, основної групи – до 117-122,7%, $p < 0,05$ при порівнянні обох груп тварин. Ці дані засвідчили ефект зростання біосинтезу колагену в кісткових регенератах тварин основної групи під впливом РЕУХТ.

Дані, отримані при дослідженні ГАГ в кісткових регенератах тварин обох груп, виявили падіння їх вмісту в кісткових регенератах до 2 дня після травми на 39,2-41,9% (катаболічна фаза) і наступне зростання їх концентрації на 15, 30, 45 дні після травми (анаболічна фаза) до 99,5-110,1% відносно норми у тварин контрольної групи і до 116,3-125,3% відносно норми у тварин основної групи, $p < 0,05$ при порівнянні показників між двома групами кроликів. Наведені біохімічні показники вказують на зростання біосинтезу ГАГ – важливого компоненту основної речовини кісткової тканини, під впливом ЕУХТ.

В заключенні слід відмітити, що у тварин травматичний дефект метадіафіза ВГК до 2 дня на фоні катаболічної фази загальної обмінної реакції організму на травму супроводжується вираженим зниженням рівня вмісту основних біохімічних маркерів (колагену, ГАГ), які відображають стан метаболізму кісткової тканини. Подальші спостереження тварин на 15, 30 і 45 дні після травми (анаболічна фаза) показали поступове відновлення вмісту відмічених біохімічних маркерів як в СК, так і в кісткових регенератах. При цьому РЕУХТ сприяла зростанню біосинтезу колагену і ГАГ, активуючи їх метаболізм в кісткових регенератах і цим створювала сприятливі умови для зрощення дефекту метадіафіза ВГК.

РОЗДІЛ 4

АКТИВНІСТЬ ІМУННИХ КЛІТИН СК ПІД ВПЛИВОМ РЕУХТ В УМАВАХ ТРАВМИ ВГК

Цей розділ охоплює імунологічні дослідження активності імунних клітин СК у тварин з дефектом проксимального метадіафіза ВГК під впливом РЕУХТ. При цьому в СК кроликів до і після травми досліджували рівні ЦТА Лц/Мф, ІМ, АЗЦ Лц/Мф, ЦАСК, ЦК, АТ.

При дослідженні ЦТАЛц було встановлено, що травмування кістки призводить на другу добу до різкого падіння цього показника у СК кроликів, як контрольної групи – до $3,64 \pm 0,77\%$, проти $43,81 \pm 1,22\%$, так і основної групи – до $2,82 \pm 0,08\%$, проти $41,65 \pm 1,31\%$ на початку експерименту, при $p < 0,001$ в обох групах тварин (рис. 4.1).

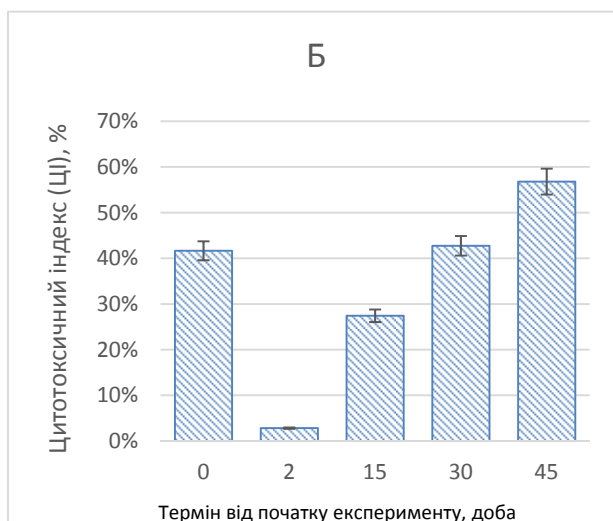
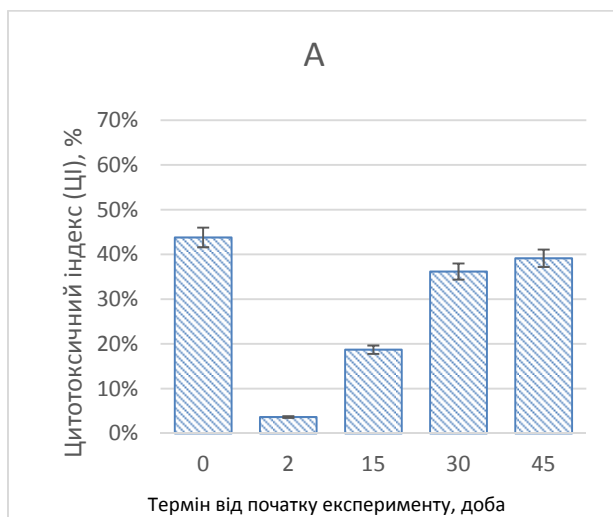


Рис. 4.1. ЦТАЛц у кроликів контрольної (А), та основної (Б) груп.

Скоріш за все, різке зниження функціональної активності лімфоцитів відбувалось на фоні загальної метаболічної реакції організму на травму та через больовий синдром. При цьому не визначено достовірних відмінностей показників між контрольною і основною групами кроликів у показниках цитотоксичної активності лімфоцитів як на початку експерименту, так і на другу його добу ($p > 0,05$). На 15- та 30-ту добу активність лімфоцитів у кроликів обох груп відновлювалась і становила у кроликів контрольної групи $18,71 \pm 8,43\%$ та $36,18 \pm 1,5\%$ відповідно, у кроликів основної групи $27,43 \pm 6,15\%$ та $42,74 \pm 8,27\%$, при $p < 0,01$ у порівнянні з попередніми термінами і двома групами кроликів. На 45 добу ЦТАЛц у кроликів контрольної групи хоча й підвищувалась, проте ще була нижче вихідних показників – $39,15 \pm 4,56\%$ ($p < 0,05$), в той же час у кроликів основної групи вона була навіть вища за початковий рівень – $56,80 \pm 3,03\%$ ($p < 0,02$).

При дослідженні АЗЦЛц динаміка процесу співпадала з такою при дослідженні ЦТАЛц. Аутологічна СК значно знижувала цитотоксичну активність на 2 добу після травмування кістки тварин. Показники цитотоксичності на даний термін становили у контрольних тварин $26,07 \pm 3,17\%$, проти $54,09 \pm 1,89\%$ - на початку досліду; у тварин основної групи – $24,09 \pm 4,61\%$ проти $51,19 \pm 4,56\%$, при p в обох групах тварин $< 0,001$ (рис. 4.2).

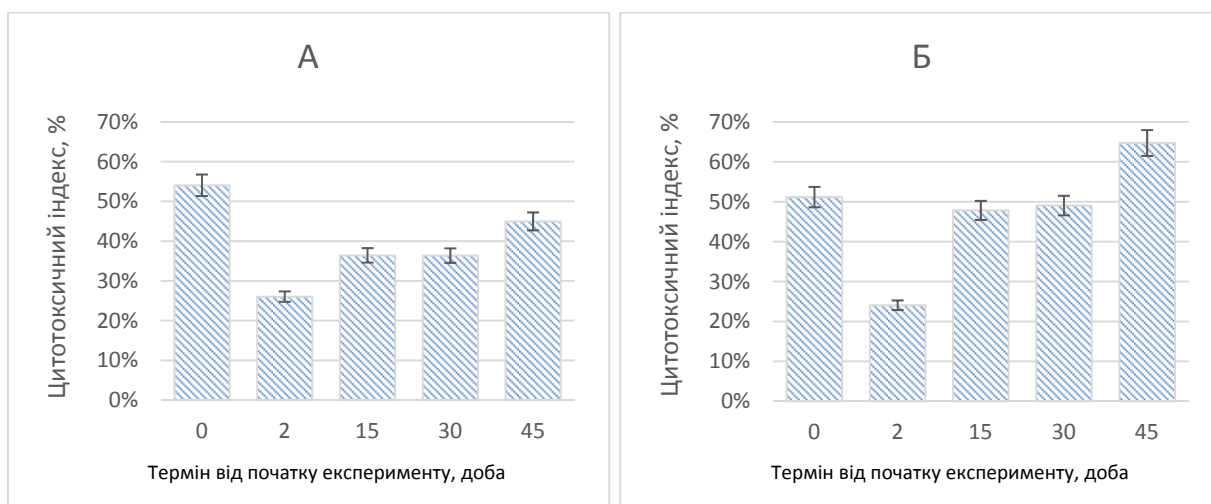


Рис. 4.2. АЗЦЛц у кроликів контрольної (А), та основної (Б) груп.

На 15- та 30-ту добу після травми та проведеного лікування РЕУХТ (основна група тварин) АЗЦЛц становила у тварин контрольної групи відповідно $36,45 \pm 0,92\%$ та $36,39 \pm 0,14\%$ ($p < 0,01$), у тварин основної групи – $47,85 \pm 2,53\%$ та $49,07 \pm 3,15\%$ при $p < 0,05$ між двома групами тварин. На 45-ту добу АЗЦЛц підвищувалася до $45,0 \pm 0,67\%$ ($p < 0,002$) у тварин контрольної і до $64,75 \pm 3,67\%$ ($p < 0,002$) – у тварин основної групи.

При дослідженні ЦТАМф було відмічено зниження її активності на 2-гу та 15-ту добу після травми кістки у обох групах тварин. Показники цитотоксичності на дані терміни становили $11,61 \pm 1,09\%$ і $9,88 \pm 5,38\%$ (норматив $20,69 \pm 1,68\%$) у кроликів контрольної групи та $12,8 \pm 2,16\%$ і $16,01 \pm 4,32\%$ (норматив $21,64 \pm 5,07\%$) - у кроликів основної групи відповідно, $p < 0,001$ в обох групах в порівнянні з нормативом (рис 4.3).

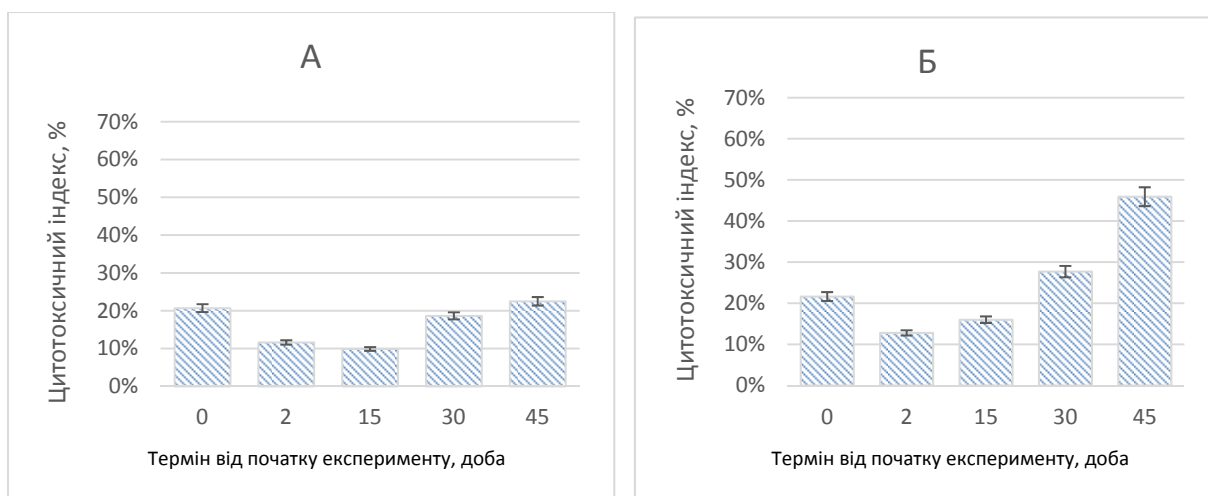


Рис. 4.3. ЦТАМф у кроликів контрольної (А), та основної (Б) груп.

На 30-ту добу рівень функціональної активності макрофагів майже відновлювався до початкового рівня ($20,69 \pm 1,68\%$) у контрольних тварин, і становив $18,65 \pm 1,32\%$. В той же час рівень ЦТАМф у кроликів основної групи до цього терміну суттєво перевищував норматив ($21,64 \pm 5,07\%$) і досягав показників $27,71 \pm 5,09\%$ ($p < 0,05$). На 45-ту добу рівень ЦТАМф у кроликів контрольної групи не відрізнявся достовірно від нормативу і

складав $22,5 \pm 2,63\%$, $p > 0,05$. На 45-ту добу відмітили навіть стимуляцію макрофагів у тварин основної групи. Їх цитотоксичність на даний період дослідження становила $45,93 \pm 1,17\%$, $p < 0,001$ в порівнянні з нормативом.

При дослідженні АЗЦМф було відмічено, що у тварин контрольної групи аутологічна сироватка на 2 та 15 добу після травмування тварин значно пригнічувала функціональну активність макрофагів. Показники АЗЦМф в ці терміни становили відповідно $13,06 \pm 3,79\%$ та $8,21 \pm 0,53\%$ ($p < 0,001$) проти $20,44 \pm 2,96\%$ до початку експерименту (рис. 4.4). В той же час у тварин основної групи, хоча на 2 добу спостерігалось значне зниження функціональної активності макрофагів до $12,83 \pm 0,62\%$ проти $18,94 \pm 3,11\%$ ($p < 0,01$), то вже на 15 добу рівень їх функціональної активності підвищувався до $17,4 \pm 2,59\%$ ($p > 0,05$) не відрізняючись достовірно від вихідних показників.

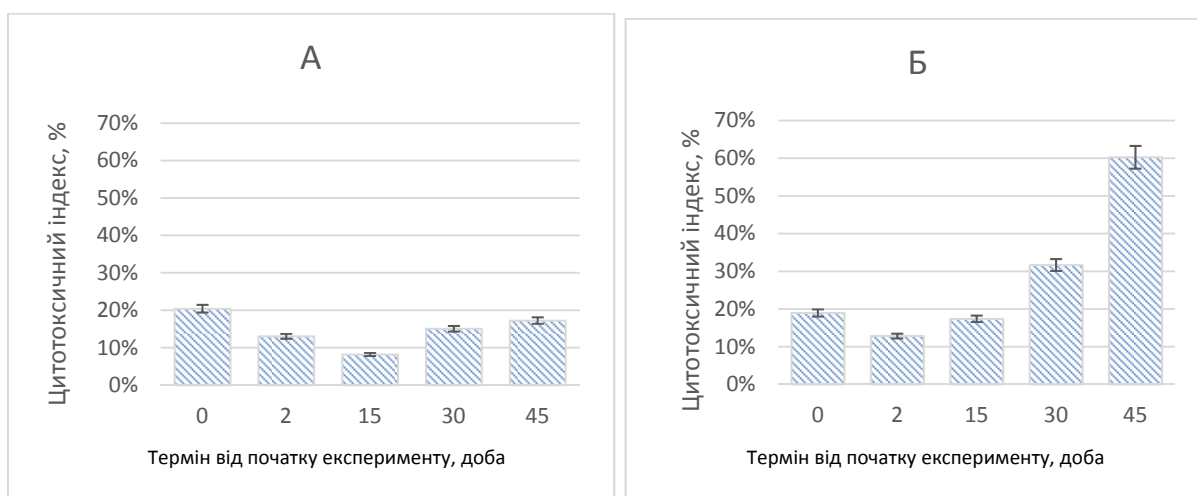


Рис. 4.4. АЗЦМф у кроликів контрольної (А), та основної (Б) груп.

На 30 та 45 добу після травми АЗЦМф тварин контрольної групи мало відрізнялась від показників попередніх термінів дослідження (2 та 15 доба), і становило відповідно $15,08 \pm 2,89\%$ та $17,26 \pm 0,19\%$ ($p < 0,05$). У кроликів основної групи на 30 і 45 добу дослідження відмічена стимуляція макрофагів, в ці терміни їх активність становила відповідно $31,67 \pm 0,25\%$ і $60,25 \pm 0,35\%$ ($p < 0,001$) у порівнянні з початком експерименту).

У кроликів контрольної та основної груп при дослідженні потенціювання аутологічною сироваткою крові ЦТАЛц і ЦТАМф (ІМ) отримані наступні дані. На 2 добу після травми кістки у тварин контрольної групи індекс модуляції лімфоцитів різко підвищувався від 23,48% до 615,62% ($p < 0,001$), макрофагів відповідно від -1,22% до 12,49% ($p < 0,001$). Подібні результати були також отримані у тварин основної групи, у яких ІМ лімфоцитів на 2 добу також збільшувався від 20,57% до 572,34%, макрофагів – відповідно від 1,86 до 10,94% ($p < 0,001$), що представлено в табл. 4.1. Ці дані свідчать про те, що травма кістки обумовлює розвиток фази підвищення активності імунних клітин за рахунок імуностимулюючої дії гуморальних факторів СК.

Таблиця 4.1

Потенціювання аутологічною СК ЦТАЛц і ЦТАМф (ІМ, %).

Термін від початку дослідження, доба	Контрольна група тварин		Основна група тварин	
	ІМ лімфоцитів	ІМ макрофагів	ІМ лімфоцитів	ІМ макрофагів
0 (інтактні кролі)	23,48	-1,22	20,57	-1,86
2	615,62*	12,49*	572,34*	10,94*
15	6,41*	-18,49*	16,11*	5,49*
30	6,72*	-17,15*	19,29**	3,15**
45	8,11*	-8,88*	21,99**	2,04**

Примітка: * – показники, які мають достовірну різницю з вихідним рівнем;
 ** – показники, які не мають достовірної різниці з вихідним рівнем.

На 15, 30 і 45 добу після травми у тварин контрольної групи спостерігалось виснаження клітинної активності, як лейкоцитів – відповідно до 6,41%, 6,72%, 8,88%, так і макрофагів – -18,49%, -17,15%, -8,88 при $p < 0,001$ в порівнянні з відповідним вихідним рівнем. У кроликів основної групи в термін 15, 30, 45 діб після травми сироватка стимулювала ЦТАЛц до 16,11% ($p < 0,05$), 19,29% ($p > 0,05$), 21,99% ($p > 0,05$), відповідно; і макрофагів – до 5,49% ($p < 0,05$), 3,15% ($p > 0,05$), 2,54% ($p > 0,05$), відповідно. Статистичний

аналіз свідчить, що ці показники відповідали нормативу на 30 і 45 добу досліджень у тварин основної групи, які отримували РЕУХТ.

Таким чином результати досліджень свідчать про те, що аутологічна СК додана до імунних клітин тварин не справляла гальмівної дії на їх здатність проявляти цитотоксичну дію. Зміни активності імунних клітин СК у тварин контрольної та основної груп на 15, 30 і 45 доби після травми ВГК можна розглядати як розвиток фази компенсації, при цьому наприкінці дослідження (45 доба) у контрольних тварин ще не спостерігалось відновлення антитілозалежної активності імунних клітин, тоді, як у тварин основної групи в ці ж терміни (за винятком 15 доби) досліджувані показники не відрізнялись достовірно від норми ($p > 0,05$), що наведено в табл. 4.1.

При аналізі ЦАСК відмічали достовірно підвищення цитотоксичності на 2 добу після травми, як у тварин контрольної групи – до $19,44 \pm 3,86\%$ при $12,29 \pm 2,16\%$ на початок досліду, так і у тварин основної групи – до $17,59 \pm 3,72\%$ при $10,92 \pm 2,45\%$ на початок досліду, при $p < 0,001$ в обох групах тварин (рис. 4.5). Навпаки на 15 та 30 добу після травми констатували значне зниження ЦАСК, яка становила у кроликів контрольної групи відповідно – $17,15 \pm 4,92\%$ та – $4,18 \pm 1,32\%$ ($p < 0,01$), та у кроликів основної групи відповідно – $13,29 \pm 2,37\%$ та $3,14 \pm 1,12\%$ ($p < 0,01$). Це вказувало на те, що на дані терміни дослідження в сироватці крові накопичувалась велика кількість запальних цитокінів, які стимулювали проліферацію клітин-мішеней.

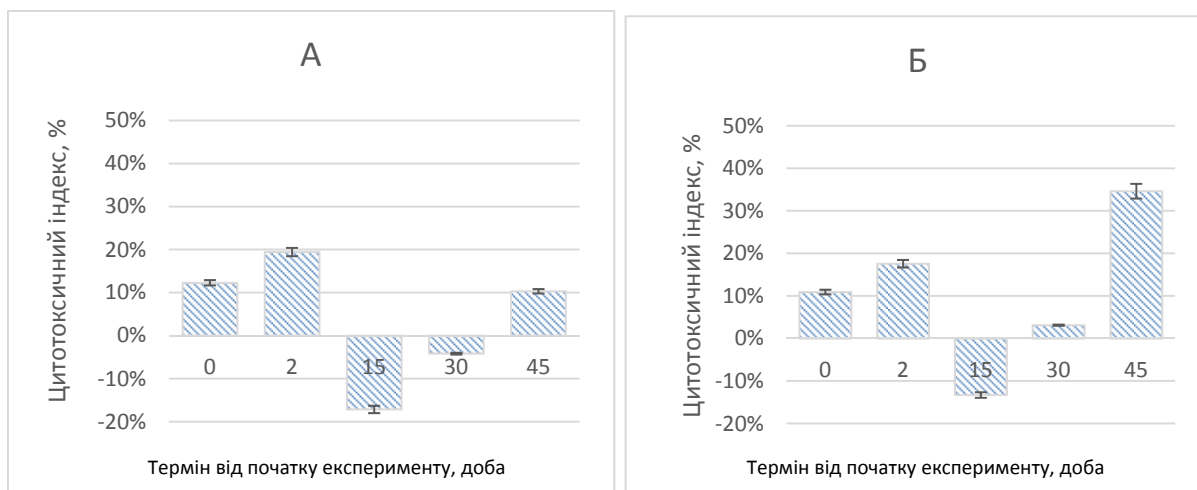


Рис. 4.5. ЦАСК у кроликів контрольної (А), та основної (Б) груп.

На 45 добу після травми у кроликів контрольної групи ЦАСК складала $9,12 \pm 2,25\%$ ($p < 0,05$), тобто була як і в попередні терміни (15, 35 доби) нижче показників нормативу. У кроликів основної групи ЦАСК суттєво перевищувала показники нормативу тварин і складала на 45 добу $34,64 \pm 2,67\%$ ($p < 0,001$).

При дослідженні динаміки накопичення імуноглобулінів класу G (рівень АТ) в СК у кроликів контрольної та основної груп було відмічено, що травма кістки призводить до незначного зниження імуноглобулінів на 2 добу в обох групах тварин, до $0,12 \pm 0,066$ опт. од. проти $0,17 \pm 0,01$ опт. од. ($p < 0,05$) на початок дослідження у тварин контрольної групи і – до $0,11 \pm 0,054$ ($p < 0,01$), проти $0,16 \pm 0,02$ опт. од. ($p < 0,05$), на початок експерименту у тварин основної групи (рис. 4.6). Ця подія на нашу думку пов'язана з загальною метаболічною реакцією організму на травму. На 15 добу рівень імуноглобулінів підвищувався у кроликів контрольної групи до $0,13 \pm 0,049$ опт. од., хоча ще знаходився нижче рівня інтактних тварин ($p < 0,05$).

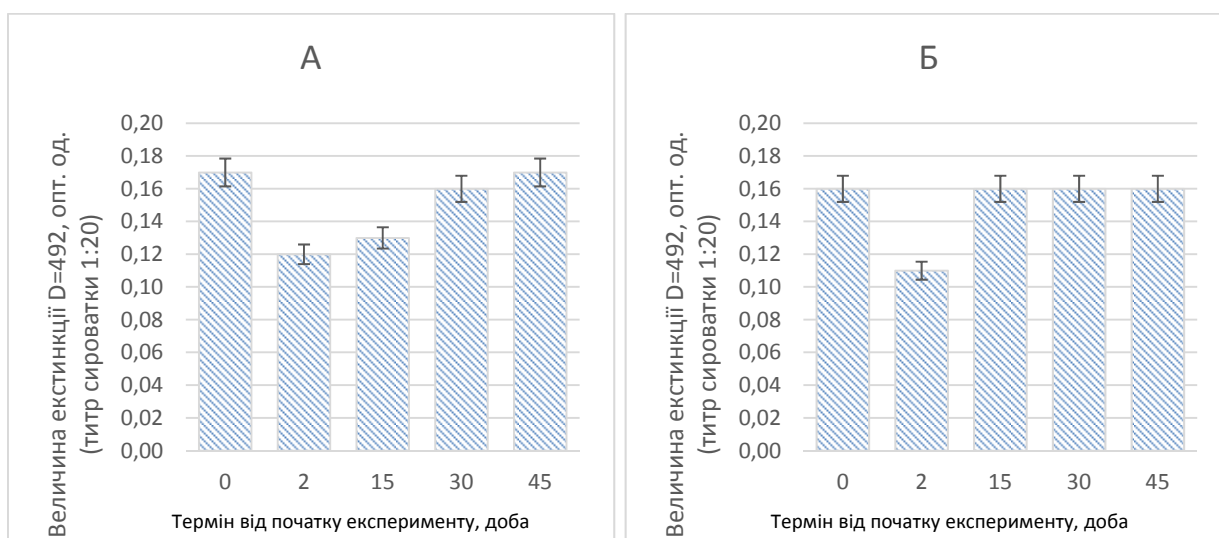


Рис. 4.6. Рівень імуноглобулінів класу G (АТ) СК у кроликів контрольної (А), та основної (Б) груп.

На 30 і 45 добу рівень імуноглобулінів продовжував динаміку підвищення і відповідав в останній строк нормі – $0,16 \pm 0,01$ опт. од. ($p < 0,05$), і $0,17 \pm 0,02$ опт. од. ($p > 0,05$). У порівнянні з контрольними тваринами у тварин основної групи на 15 добу після травми рівень імуноглобулінів підвищувався до їх показників до травми – $0,16 \pm 0,01$ опт. од. ($p > 0,05$). В наступні терміни дослідження – на 30 і 45 добу рівень імуноглобулінів у СК тварин основної групи також відповідав нормативним показникам: відповідно $0,16 \pm 0,022$ опт. од. і $0,16 \pm 0,017$ опт. од. ($p > 0,05$).

При дослідженні рівня ЦІК в СК було встановлено, що їх рівень значно збільшувався на 2 та 15 добу після травми у контрольних тварин і становив відповідно $0,23 \pm 0,005$ опт. од. та $0,24 \pm 0,016$ опт. од. проти $0,009 \pm 0,001$ опт. од. відносно нормативу, $p < 0,001$ (рис. 4.7). В СК тварин основної групи ці показники також підвищувались і на 2 добу становили $0,23 \pm 0,012$ опт. од., а на 15 добу знижувались до $0,185 \pm 0,014$ опт. од. при нормативі $0,011 \pm 0,006$ опт. од., $p < 0,001$.

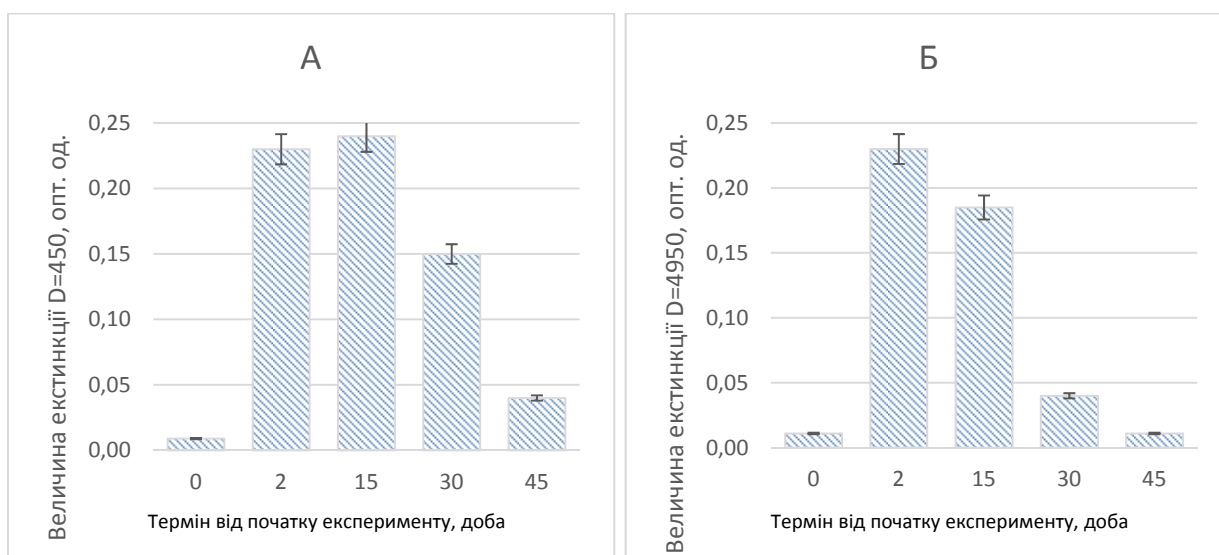


Рис. 4.7. Рівень середньомолекулярних ЦІК в СК у кроликів контрольної (А), та основної (Б) груп.

Збільшення рівня середньомолекулярних ЦІК в СК як контрольних так і тварин основної групи свідчило про наявність асептичного запального процесу, який завжди спостерігається при репаративній регенерації кісткової

тканини. На 30 і 45 добу рівень молекулярних ЦК в сироватці крові тварин контрольної групи знижувався і становив відповідно $0,15 \pm 0,012$ опт. од. і $0,04 \pm 0,02$ опт. од. ($p < 0,001$), що свідчило про залишковий процес асептичного запалення. Зниження молекулярних ЦК також спостерігалось у СК тварин основної групи до $0,04 \pm 0,001$ опт.од. на 30 добу ($p < 0,05$), і – до $0,011 \pm 0,004$ опт. од. на 45 добу ($p > 0,05$), що відповідало показникам норми.

Таким чином виконані в цьому розділі імунологічні експериментальні дослідження свідчать про те, що травма кістки – дірчатий дефект метадіафіза ВГК призводить до значного зниження функціональної активності лімфоцитів і макрофагів СК на 2 добу, в обох групах тварин, що на нашу думку пов'язано з загальною метаболічною реакцією організму на травму та з больовим синдромом. В той же час (2 доба) при дослідженні ІМ лімфоцитів та макрофагів СК відмічено різке його підвищення, що свідчить про те, що травма кістки обумовлює розвиток фази підвищення активності імунних клітин за рахунок імуностимулюючої дії гуморальних факторів СК.

В динаміці дослідження на 2-15 добу після травми в обох групах тварин спостерігалось значне збільшення ЦК, що пов'язано з асептичним запальним процесом, який завжди спостерігається при репаративному остеогенезі. На 15-30 добу дослідження також відмічено значне зниження цитотоксичної активності СК, що вказувало на те, що в дані терміни дослідження в СК накопичувалась велика кількість запальних цитокінів, які стимулювали проліферацію клітин-мішеней.

Результати наших досліджень показали, що на фоні травми ВГК в обох групах тварин відмічається «частковий параліч» функціональної активності імунних клітин «фаза виснаження», які в динаміці дослідження поступово нормалізували свою активність («фаза відновлення клітинної активності»), хоча до кінця експерименту (45 доба) повного відновлення активності імунних клітин в СК контрольних тварин не спостерігалось. Навпаки більш інтенсивне відновлення функції імунних клітин спостерігалось в СК кроликів основної групи, у яких після 4 сеансів РЕУХТ (на 3, 6, 9, і 12 добу) не тільки

була констатована нормальна, але і підвищена активність імунних клітин за рахунок збільшення їх кількості.

РОЗДІЛ 5

РЕПАРАТИВНИЙ ОСТЕОГЕНЕЗ ПІД ВПЛИВОМ РЕУХТ ПРИ ТРАВМІ ВГК

Нами у кроликів досліджено особливості рентгенологічного та морфологічного перебігу репаративного остеогенезу та структури кісткової тканини на ділянці наскрізного травматичного дірчатого дефекту проксимального метадіафіза ВГК у фронтальній площині діаметром 2,5 мм в умовах впливу РЕУХТ низької інтенсивності (дослідна група) порівняно до тварин, у яких при ідентичній травмі цей фізичний фактор не застосовували (контрольна група). Відновлення кісткової тканини на ділянці травми в обох групах тварин вивчали в динаміці за строками спостереження від 5 до 45 днів після отримання дефекту метадіафіза ВГК.

5.1 Результати рентгенологічного дослідження

При рентгенологічному дослідженні дефекту метадіафіза ВГК контрольних тварин у строки спостереження 5 діб після травми на ділянці ушкодження в компактній частині кістки виявляли круглої форми дефект з чіткими краями, без явищ зміни структури компактної та губчастої кісткової тканини (Рис. 5.1.1 а). Періостальна та ендостальна поверхні на ділянці ушкодження ВГК були без ознак деформації та наявності формування періостального та ендостального кісткоутворення.

У строки спостереження 5 діб у тварин основної групи, яким після отримання в проксимальному метадіафізі ВГК наскрізного у фронтальній площині дефекту проведено разовий сеанс РЕУХТ, при рентгенологічному дослідженні порівняно з кістками контрольних тварин достовірних розбіжностей в будові кісткової тканини метадіафіза не визначено (Рис. 5.1.1 б). Також у тварин цієї групи не було встановлено яких-небудь переломів, додаткових ушкоджень метадіафіза ВГК.

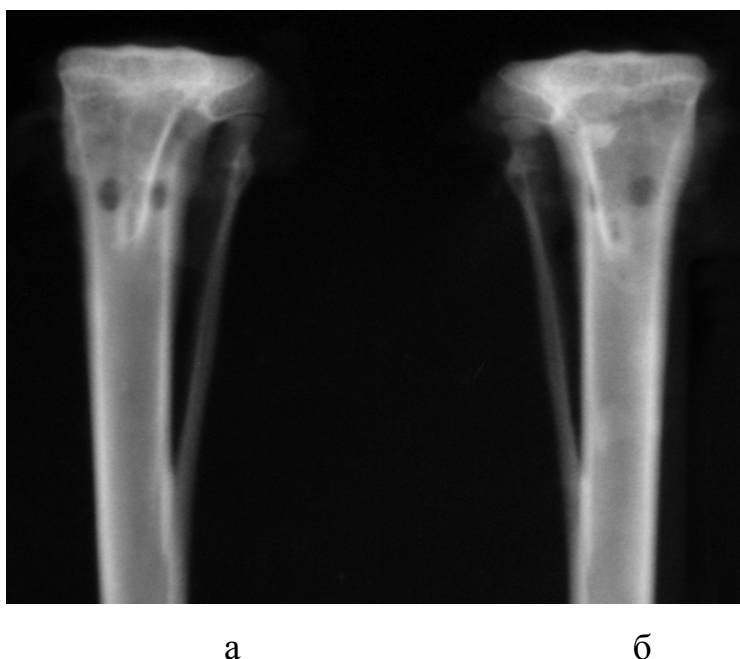


Рис. 5.1.1 Фотокопії р-мм проксимального відділу ВГК кроликів контрольної групи (а) та основної групи (б) за 5 діб після нанесення наскрізного дефекту метадіафіза у фронтальній площині. Пояснення в тексті.

У тварин контрольної групи, у яких на ділянку травми РЕУХТ не впливали, за 15 діб після отримання наскрізного у фронтальній площині дефекту проксимального метадіафіза ВГК при рентгенологічному дослідженні чіткість країв дефекту зберігалася, ущільнення компактної кісткової тканини поверхні діафіза та структури губчастої кісткової тканини навколо травми, а також явищ періостального кісткоутворення не спостерігали (Рис. 5.1.2 а). На рентгенограмах ВГК основної групи тварин після проведення 3-х сеансів РЕУХТ, за 15 діб після оперативного втручання на ділянці травматичного ушкодження метадіафіза навколо дефекту спостерігали нерівномірні потовщення компактного шару кістки та ущільнення губчастої кісткової тканини навколо каналу. Краї дефекту простежувалися менш чітко, ніж у тварин контрольної групи спостережень (див. Рис. 5.1.2 б). Як і в попередній термін дослідження у тварин дослідної групи після 3-х сеансів РЕУХТ на рентгенограмах ВГК не було виявлено додаткових ушкоджень структури кісткової тканини, або переломів.

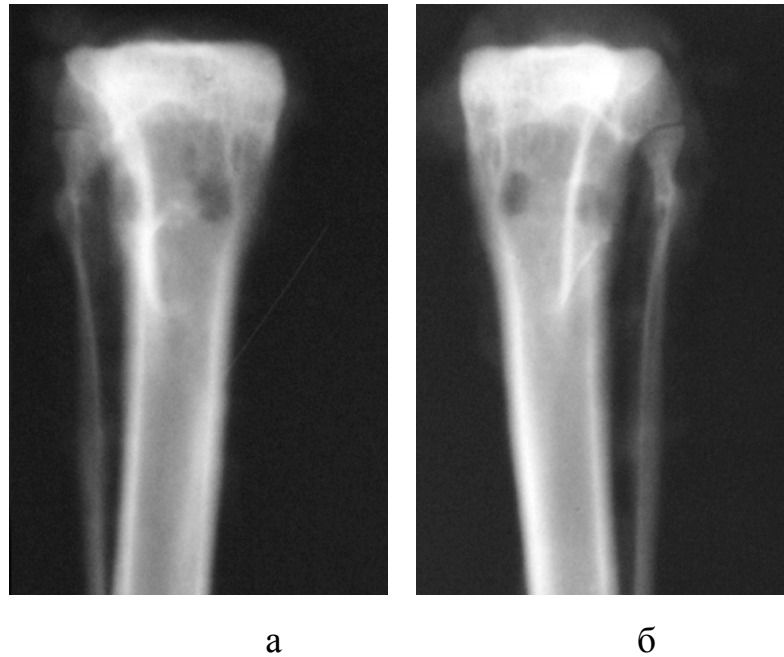
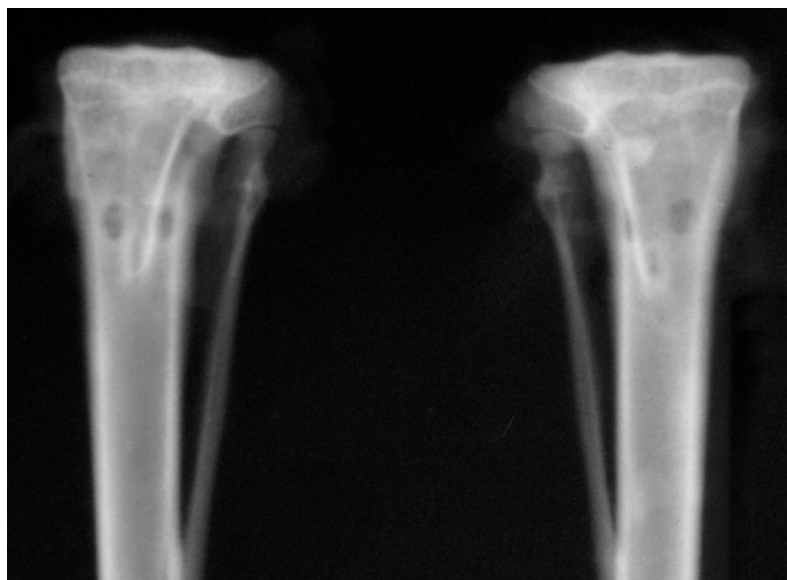


Рис. 5.1.2 Фотокопії р-мм проксимального відділу ВГК кісток кроликів контрольної групи (а) та основної групи (б) за 15 днів після нанесення наскрізного дефекту метадіафіза у фронтальній площині після 2-х сеансів ЕУХТ. Пояснення в тексті.

На рентгенограмах ВГК тварин контрольної групи (строки спостереження 30 днів після травми) дефект кісток простежувався менш чітко, ніж у попередній строк спостереження, також розміри його дещо зменшувалися, губчаста кісткова тканина нерівномірно ущільнювалась, шар компактної кісткової тканини на ділянці ушкодження був потовщений (Рис. 5.1.3 а). У тварин основної групи за 30 днів спостереження після отримання наскрізного дефекту та застосування 4-х сеансів РЕУХТ на ділянці дефекту виявлено більш виразне, нерівномірне ущільнення губчастої кісткової тканини (явища склерозування), локальне та нерівномірне потовщення компактного шару кісткової тканини, зменшення розмірів дірчастих дефектів, краї яких були ущільнені в результаті репаративного остеогенезу (Рис. 5.1.3 б). У кроликів основної групи після 4-х сеансів РЕУХТ, як і в попередні терміни досліджень (5,15 днів) додаткових ушкоджень кісткової тканини за рахунок ударних хвиль не було виявлено.

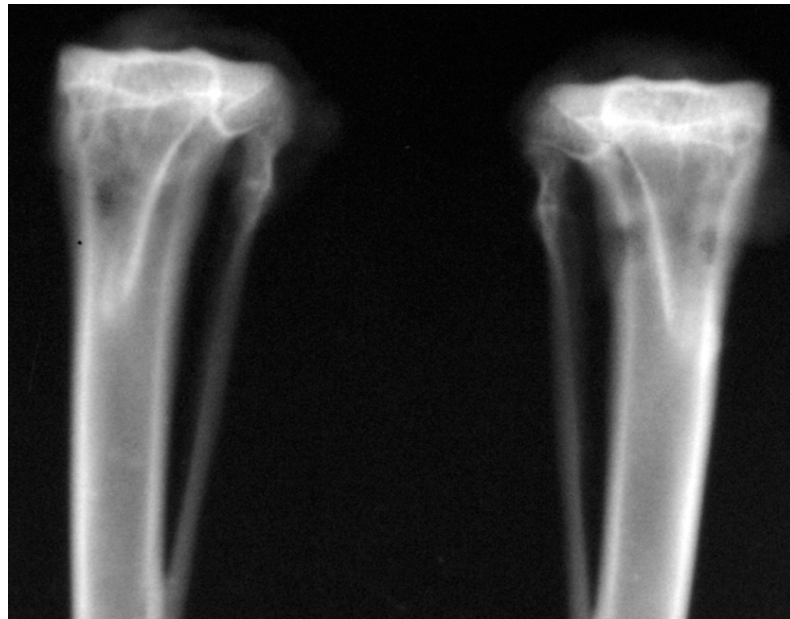


а

б

Рис. 5.1.3 Фотокопії р-мм проксимального відділу ВГК кроликів контрольної групи (а) та основної групи (б) за 30 діб після нанесення наскрізного дефекту метадіафіза у фронтальній площині після 4-х сеансів ЕУХТ. Пояснення в тексті.

За даними рентгенологічного дослідження ВГК тварин контрольної та основної груп за 45 діб після отримання дефекту перебіг репаративного відновлення будови кісткової тканини при травматичних ушкодженнях метадіафіза був схожий з тими, що спостерігали в попередній строк спостереження. Зміни структурно-функціональної організації метадіафіза ВГК характеризувалися в цей строк дослідження неповним відновленням цілісності кістки, як у контрольних (без застосування ударно-хвильової терапії), так і у тварин основної групи (після отримання 4-х сеансів РЕУХТ). У тварин контрольної групи дефекти метадіафіза ВГК мали дещо більші розміри, та більш чіткі межі порівняно з такими у тварин основної групи, а щільність губчастої тканини на ділянці метадіафіза була меншою (Рис. 5.1.4 а, б).



а

б

Рис. 5.1.4 Фотокопії р-мм проксимального відділу ВГК у кроликів контрольної групи (а) та основної групи (б) за 45 діб після нанесення наскрізного дефекту метадіафіза у фронтальній площині після 4-х сеансів ЕУХТ. Пояснення в тексті.

Отже, наведена рентгенологічна динаміка відновлення структурно-функціональної організації кісткової тканини на ділянці травматичного дефекту проксимального метадіафіза ВГК свідчить про позитивний вплив РЕУХТ на перебіг загоєння травматичного дефекту метадіафіза, який проявлявся формуванням нового кортикального, хоча і нерівномірної щільності шару, та локального потовщення кістки на ділянці ушкодження. В результаті цього у тварин основної групи під впливом РЕУХТ рентгенологічно спостерігалось більш виразне ущільнення кісткової тканини травмованої ділянки, зменшення розміру посттравматичного дефекту метадіафіза ВГК.

5.2. Результати гістоморфологічного дослідження

В експерименті на моделі травматичного наскрізного дірчатого дефекту проксимального метадіафіза ВГК кроликів вивчено в динаміці

особливості морфологічного перебігу репаративного остеогенезу та змін структурно-функціональної організації кісткової тканини порівняно за різними строками спостереження (від 5 до 45 днів після отримання дефекту) без зовнішнього впливу (контроль) та під впливом РЕУХТ (основна група експерименту).

У строки спостереження 5 діб після отримання травми гістоморфологічне дослідження тканин ділянки проксимального відділу ВГК контрольної групи тварин (без впливу РЕУХТ) виявило ознаки гострої механічної травми, які в кістковій тканині та кістковому мозку проявлялися розладами кровопостачання у вигляді набряку кісткового мозку, плазмостазом, кровонаповненням поширених судин та крововиливами (Рис. 5.2.1).

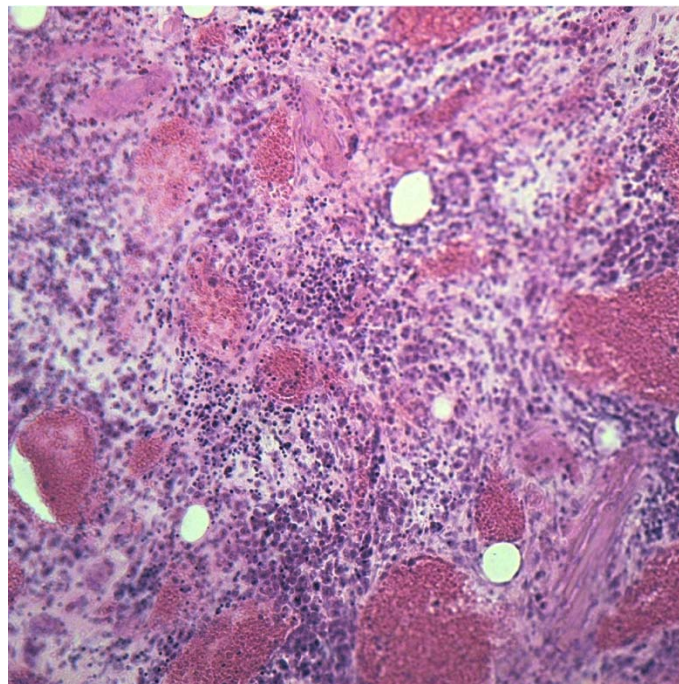


Рис. 5.2.1 Набряк та крововиливи у кістковому мозку. Проліферація остеогенних клітин на фоні поширення просвіту капілярів кісткового мозку та формування остеогенної тканини. Некроз фрагментів кісткової тканини. Контрольна група експерименту. 5 діб після отримання травматичного дефекту метадіафіза ВГК. Гематоксилін та еозин. x 10.

Розлади кровопостачання на ділянці травми супроводжувалися явищами проліферації клітин кісткового мозку, що формували поля остеогенної тканини. Переважно по периферії кістковомозкового каналу в остеогенній тканині відмічали ділянки у вигляді переважно тонких, але нерівномірної товщини перекладок грубоволокнистої кісткової тканини, яка оточувала фрагменти некротизованої кісткової тканини, що виникли під час нанесення механічної травми. Явища некрозу кісткової тканини відмічали також і в області країв дефекту метадіафіза.

У строк 5 діб після травми у тварин основної групи, яким після отримання наскрізного дефекта в проксимальному метадіафізі ВГК проведено один сеанс РЕУХТ при морфологічному дослідженні, порівняно з гістоморфологічними змінами у тварин контрольної групи, чітких розбіжностей у перебігу репаративного остеогенезу і будові кісткової тканини та інших тканинних елементів метадіафіза не спостерігали (Рис. 5.2.1).

У тварин основної групи після проведеного 1 сеансу РЕУХТ в тканинах на ділянці механічної травми відмічали розлади кровопостачання, які проявлялися розповсюдженими набряком, плазмостазом та повнокров'ям судин. Разом з тим, на фоні названих циркуляторних порушень кровопостачання на ділянці травми переважали розлади гемоциркуляції у вигляді виразного виходу кров'яних елементів переважно із судин мікроциркуляторного русла, що призводило до “дифузної інфільтрації” кров'яними клітинними кісткового мозку (Рис. 5.2.2). У кістковій тканині виникали ділянки некрозу компактного шару кістки країв дефекту метадіафіза великогомілкової кістки. При цьому додаткового ушкодження періосту, ендосту та інших тканин в області травми кістки ударними хвилями не встановлено.

У тварин контрольної групи досліду, у яких після отримання наскрізного у фронтальній площині дефекту проксимального метадіафіза

ВГК РЕУХТ не застосовували, за 15 днів після отримання ушкодження на ділянці травмованого метадіфіза виявляли прогресуючий репаративний остеогенез, який характеризувався потовщенням кісткових перекладок ендостального та періостального регенератів (Рис. 5.2.3 та 5.2.4).

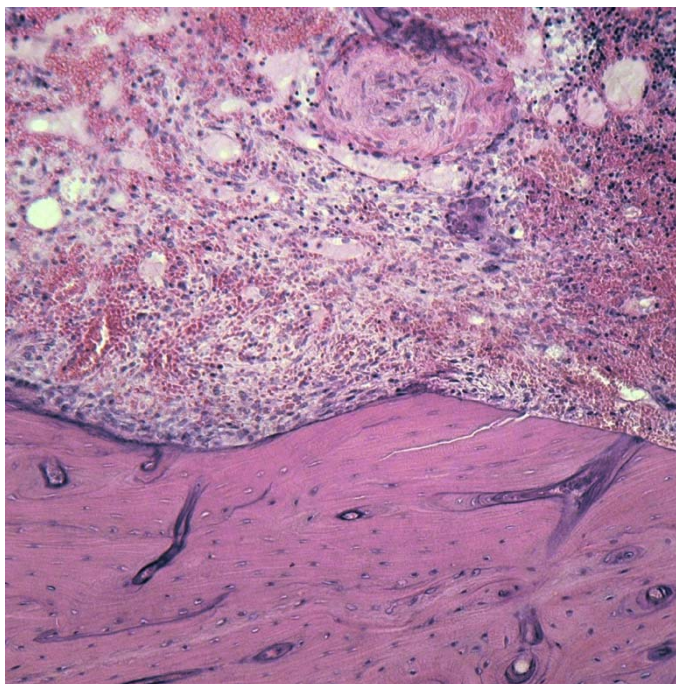


Рис. 5.2.2 Дифузні прояви виходу кров'яних елементів із мікроциркуляторного русла. Плазмостаз. Проліферація фіброретикулярних клітин та формування остеогенної тканини. Ділянки некрозу кісткової тканини. Основна група експерименту. Один сеанс ЕУХТ. 5 днів після отримання травматичного дефекту метадіфіза ВГК. Гематоксилін та еозин. х 10.

Прояви розладів кровопостачання, розповсюдженість осередків крововиливів та набряку фіброретикулярного кісткового мозку дещо зменшувалися, що супроводжувалося нерівномірною щільністю судинного русла.

Однотипні зміни спостерігали і у тварин основної групи, у яких після отримання наскрізного у фронтальній площині дефекту проксимального метадіафіза ВГК проведено 4 сеанси ЕУХТ.

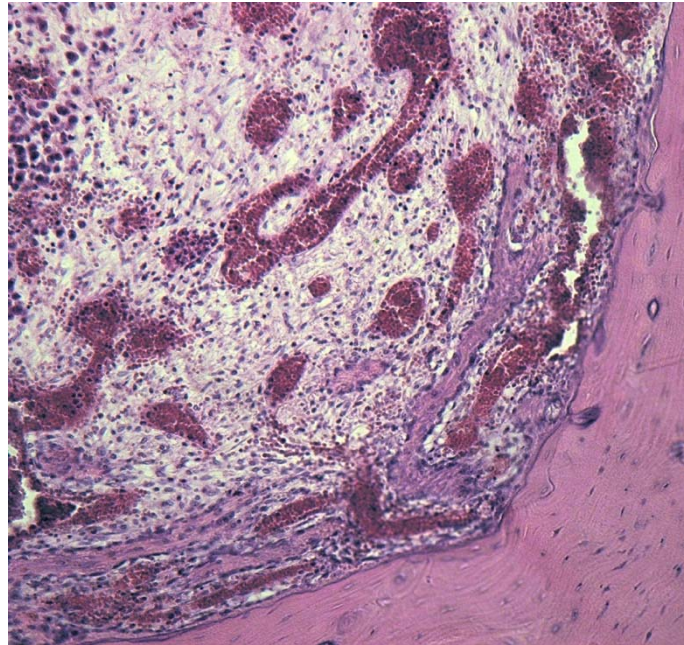


Рис. 5.2.3 Прогресування ендостального остеогенезу та формування остеогенної тканини. Контрольна група експерименту. 15 днів після отримання травматичного дефекту метадіафіза ВГК. Гематоксилін та еозин. х 5.

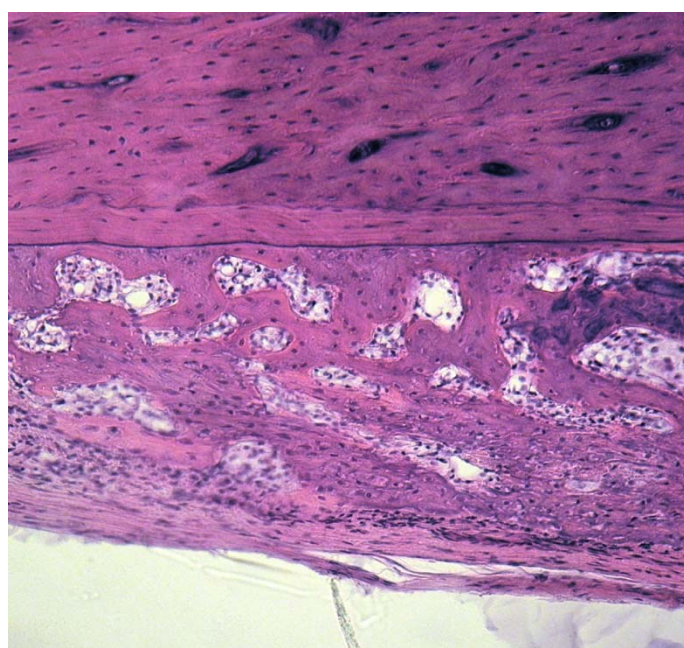


Рис. 5.2.4 Прогресуюче періостальнальне кісткоутворення на ділянці травмованого метадіафіза. Контрольна група експерименту. 15 діб після отримання травматичного дефекту метадіафіза ВГК. Гематоксилін та еоз. х 10.

У цих тварин відмічали активні явища проліферації остеогенних клітин, формування остеогенної тканини та розповсюджених ендостальних та періостальних ділянок грубоволокнистої кісткової тканини, перекладки якої були більш товстими, завдяки активному перебігу остеогенезу, що відбувався на фоні “дифузних інфільтраційних” порушень тканинного кровопостачання (Рис. 5.2.5). Про прогресування репаративного остеогенезу свідчили ланцюжки остеобластів, які вкривали поверхні ендостальних та періостальних кісткових перекладок та сформованого регенерату. Ендостальне кісткоутворення спостерігали також і збоку стінок дефекту компактного шару метадіафіза, що формувалося за рахунок проліферації клітинних елементів ендосту та клітин судин (Рис. 5.2.6). Після 4 сеансів РЕУХТ у кроликів додаткові ушкодження ударними хвилями кісткової і інших тканин не спостерігались.

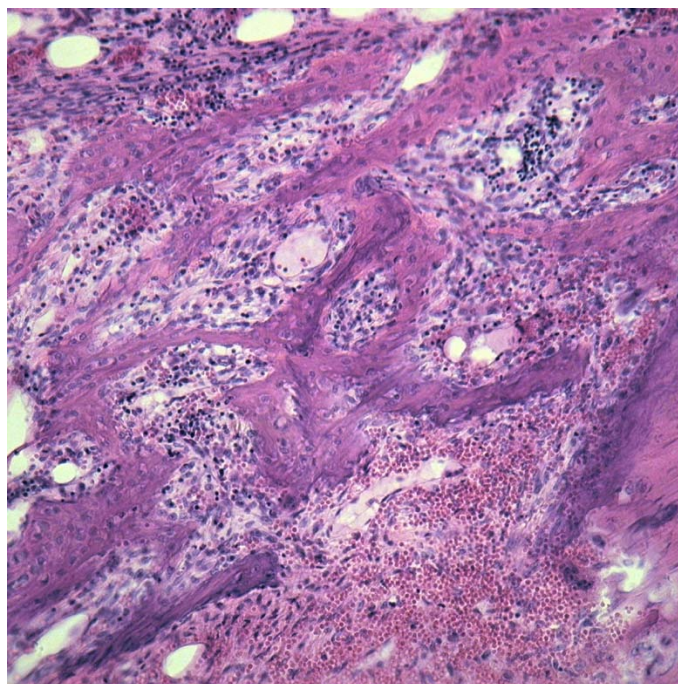


Рис. 5.2.5 Новоутворені кісткові перекладки на ділянці ушкодження метадіафіза ВГК у тварин після 4 сеансів РЕУХТ. Ділянки дифузної “інфільтрації” кісткового мозку кров'яними клітинами. Основна група експерименту. 15 діб після отримання травматичного дефекту метадіафіза ВГК. Гематоксилін та еозин. x 10.

У тварин контрольної групи досліджу, у яких після отримання наскрізного у фронтальній площині дефекту впливу на ділянку травми проксимального метадіафіза РЕУХТ не застосовували, за 30 діб після отримання ушкодження збоку періосту та ділянок ендостальної поверхні кістково-мозкового каналу спостерігали сповільнення прогресування ендостального репаративного остеогенезу з формуванням регенерату безпосередньо в зоні травми, який поступово піддавався органотиповій перебудові. У кроликів процеси ендостального та періостального кісткоутворення відбувалися на фоні нерівномірного зменшення явищ розладів кровопостачання та набряку тканин на ділянці ушкодження. Ендостальне кісткоутворення відмічали переважно на ділянці травми безпосередньо з краями дефекту компактного шару, де формувалася мережа кісткових перекладок.

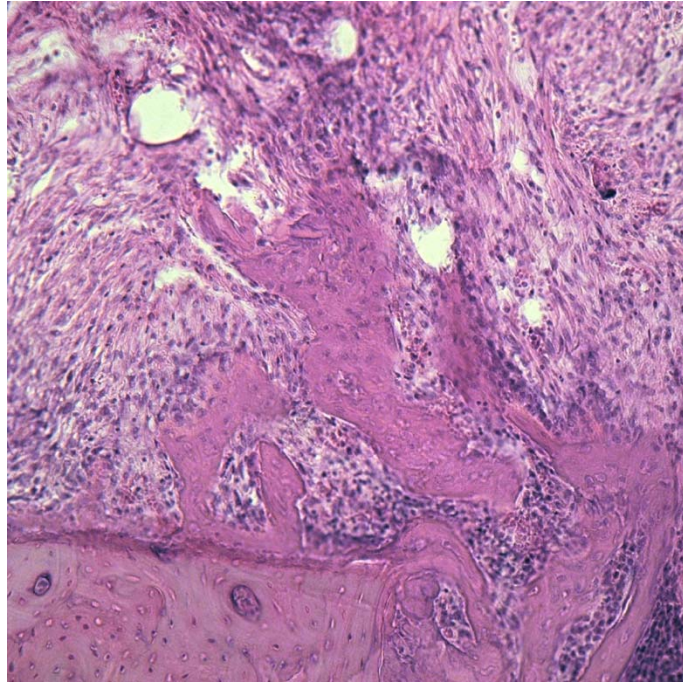


Рис. 5.2.6 Формування ендостального регенерату на стінці дефекту метадіафіза ВГК. Основна група експерименту. 4 сеанси ЕУХТ. 15 діб після отримання травматичного дефекту метадіафіза ВГК. Гематоксилін та еозин. х 10.

Ендостальні регенерати в процесі їх прогресування наближалися назустріч один одному, заповнюючи дефект компактного шару метадіафіза великогомілкової кістки (Рис. 5.2.7). На відстані, проксимально та дистально від країв дефекту, репаративний остеогенез відбувався повільніше, сформовані періостальні та ендостальні регенерати піддавалися активній перебудові.

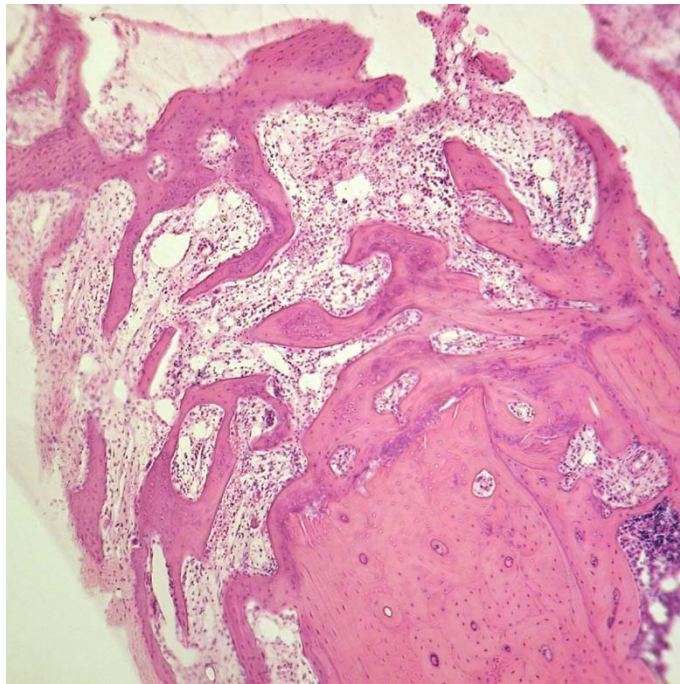
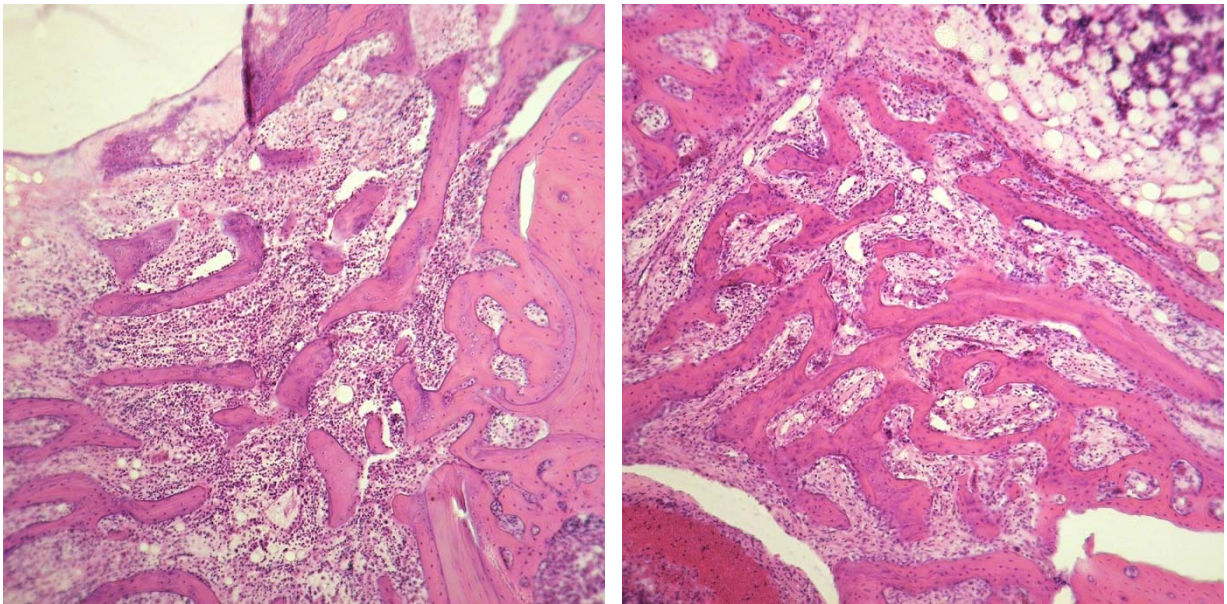


Рис. 5.2.7 Формування ендостального регенерату в дефекті метадіафіза ВГК. Контрольна група експерименту. 30 діб після отримання травматичного дефекту метадіафіза ВГК. Гематоксилін та еозин. x 5.

При застосуванні у тварин чотирьох сеансів радіальної ударної хвильової низькоенергитичної терапії (основна група кроликів) за 30 діб після отримання наскрізного дефекту кістки засвідчені однотипні реактивні відновні зміни з боку періосту та ендосту, що спостерігали у тварин без застосування ударно-хвильової терапії. Розбіжності полягали тільки в інтенсивності та просторовій характеристиці перебігу репаративної реакції, спрямованої на відновлення цілісності ураженої кістки, та проявлялися, в основному, більшою товщиною та щільністю сформованих кісткових перекладок на ділянці дефекту (Рис.5.2.8). У тварин основної групи після 4-х сеансів РЕУХТ, не виявлено додаткових ушкоджень тканин в області травми ВГК.



а

б

Рис. 5.2.8 Менша щільність та товщина сформованих кісткових перекладок на ділянці регенерату у тварин контрольної групи (а) в порівнянні з тваринами основної групи, яким застосувувалась ЕУХТ (б). 30 діб після отримання травматичного дефекту метадіафіза ВГК. Гематоксилін та еозин. х 5.

І, у решті-решт, у тварин контрольної групи дослідження за 45 діб після отримання наскрізного дефекту-каналу на ділянці проксимального метадіафіза великогомілкової кістки в одному із п'яти спостережень відбулося повне відновлення цілісності компактного шару на ділянці дефекту. Однак, відновлена ділянка компактної кісткової тканини була в півтора – два рази тонша ніж товщина компактного шару країв дефекту метадіафіза. Крім того, компактна кісткова тканина, особливо на рівні центрального відділу ушкодження, піддавалася активній органотиповій перебудові. Гістоструктура компактного шару країв дефекту та сформованої кісткової тканини на ділянці ушкодження майже не розрізнялися. У випадках відсутності відновлення цілісності кортикального шару виявляли з'єднання атрофічних та загострених країв дефекту за рахунок сполучної тканини.

У тварин основної групи дослідження отримані результати були однотипними. Розбіжності полягали тільки в більшій кількості (трьох із п'яти) випадків відновлення цілісності кортикального шару ВГК та формуванні кісткових регенератів, які піддавалися активній органотиповій перебудові (Рис. 5.2.9 та 5.2.10).

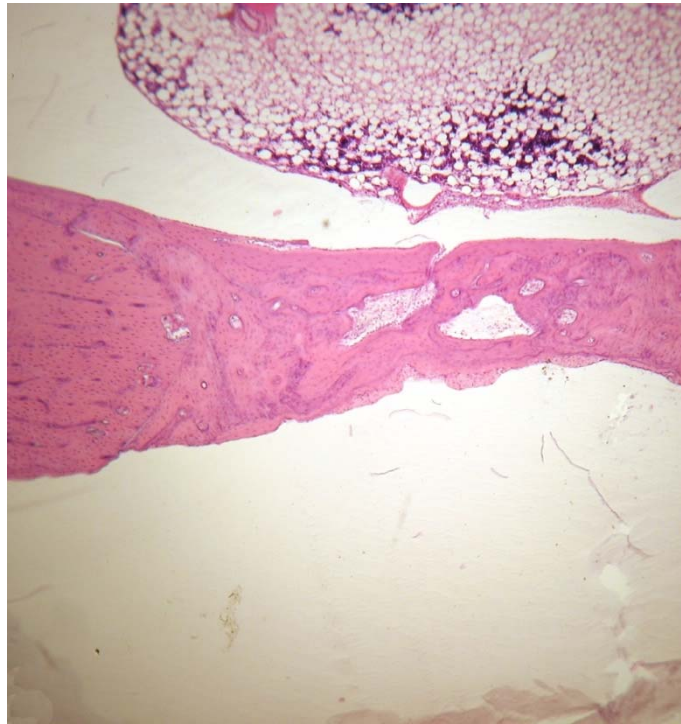


Рис. 5.2.9 Відновлення цілісності кортикального шару дефекту ВГК. Активна органотипова перебудова ділянки кортикального шару. Контрольна група експерименту. 45 діб після отримання травматичного дефекту метадіафіза ВГК. Гематоксилін та еозин. х 5.

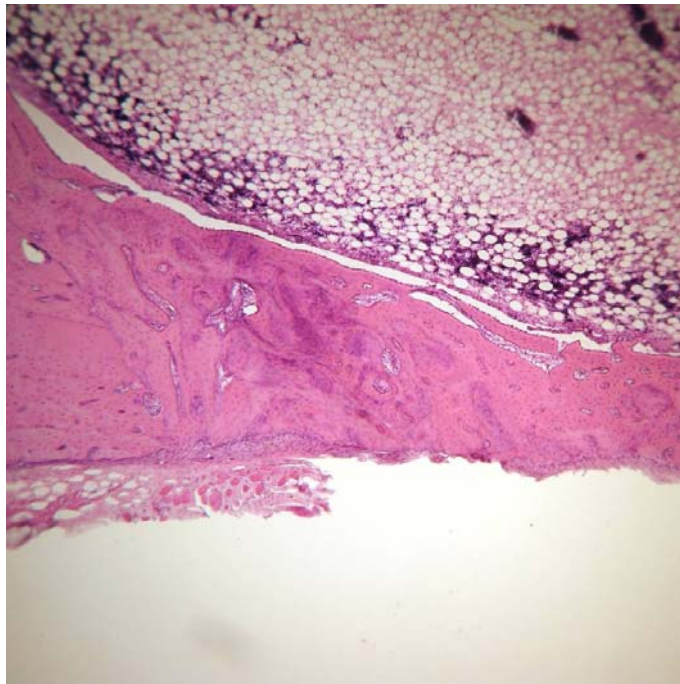


Рис. 5.2.10 Відновлення цілісності кортикального шару дефекту метадіафіза ВГК кістки. Явища органотипової перебудови ділянки кортикального шару. Основна група експерименту. 45 дів після отримання травматичного дефекта метадіафіза ВГК. Гематоксилін та еозин. x 5.

Таким чином, у цьому експериментальному дослідженні встановлено, що в обох групах кроликів морфологічні процеси відновлення цілісності кортикального шару проксимального метадіафіза великогомілкової кістки відбувалися однотипно та перебігали на фоні посттравматичних розладів місцевого кровопостачання, які проявлялися набряком, повнокров'ям, плазмостазом, крововиливами та у тварин основної групи виразною “дифузною інфільтрацією” кісткового мозку клітинними елементами крові. Наведені порушення тканинного кровопостачання супроводжувалися активуванням проліферації остеогенних клітин та формуванням ендостального та періостального регенератів у вигляді мережі перекладок грубоволокнистої на ранніх та пластинчастої – на пізніх строках спостереження кісткової тканин. Репаративний ендостальний остеогенез більш активно перебігав у кістковому мозку периферичних відділів

кістковомозкового каналу та на поверхнях стінок дірчастого дефекту в результаті проліферації остеогенних клітин кісткового мозку та клітин вмісту центральних каналів кортекса. Ділянками спостерігали також і періостальний остеогенез, який виявляли дещо на відстані від країв дефекту травмованого метадіафіза та перебігав менш активно, ніж ендостальний компонент репаративного процесу.

За даними морфологічного дослідження кількість кісткових перекладок періостального та ендостального регенератів у строки спостереження 15, 30 та 45 діб після отримання дефекту метадіафіза ВГК достовірно перевищувала в групі тварин основної групи, у яких було застосовано РЕУХТ ($p < 0,05$).

Результати проведених нами мікроскопічних досліджень свідчать, що під впливом ЕУХТ при моделюванні травматичного дефекту проксимального метадіафіза ВГК спостерігаються розлади мікроциркуляції кісткової тканини переважно кісткового мозку ділянки травми та на поверхнях стінок дефекту компактної кісткової тканини, що призводить до утворення масивних ділянок кісткового ендостального регенерату. Саме за рахунок поєднання переважно ендостальних ділянок регенерату та його перебудови й відбувалося відновлення цілісності метадіафізарного відділу великогомілкової кістки, який з часом (45 діб після травми) за своєю структурою наближався до структурно-функціональної організації компактної кістки метадіафіза. При дослідженні впливу ударних хвиль на кісткоутворюючі процеси нами не встановлено негативного ефекту цього фізичного фактору на структуру кісткової і м'яких тканин у вигляді мікропереломів та інших травматичних ушкоджень.

Особливістю проведеного нами дослідження є те, що застосована модель кортикального дефекту метадіафіза ВГК повністю виключає негативний вплив низки факторів, до яких у випадку застосування моделі перелому кістки, у першу чергу, слід віднести нестабільність фіксації кісткових відламків та тяжкість травми. Крім того, процеси загоєння дефекту

компактного шару та звичайного перелому діафіза кістки розрізняються за особливостями травматичного ушкодження (перелом кістки та часткове ушкодження – кортикальний дефект), що визначає різні умови формування та особливості просторового перебігу репаративного остеогенезу.

Отже, результатами проведених нами мікроскопічних досліджень доведено, що при моделюванні травматичного дефекту проксимального метадіафіза ВГК вплив низькоенергетичних ударних хвиль реалізується через розлади мікроциркуляції кісткової тканини переважно капіляри та синусоїди кісткового мозку ділянки травми. Оскільки, мікроциркуляторне русло кістки унаслідок дії радіальної ударної хвилі піддається компресійним деформаціям, об'єм тканинної рідини та крові в судинах при компресії практично не змінюється відбувається вазодилатація та збільшується проникність стінок судин, що супроводжується виходом кров'яних клітин із капілярів та синусоїдів кісткового мозку в оточуюче середовище, яке описано нами як дифузна “інфільтрація” кісткового мозку.

“Дифузна інфільтрація” кісткового мозку призводить до формування масивних ділянок кісткового ендостального регенерату, поєднання і перебудова якого забезпечують відновлення цілісності метадіафізарного відділу ВГК у експериментальних тварин.

УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

У сучасному суспільстві високий рівень травматизму, смертності та інвалідності, внаслідок травми визначають травматологію як надзвичайно важливу галузь медицини. Втрата працездатності в Україні від травми займає перше місце серед усіх інших причин. Тільки переломи кісток є причиною первинної інвалідності в Україні в 13% випадків, такі ушкодження займають друге місце у загальній структурі первинної інвалідності [8, 48]. Ускладнення при лікуванні переломів кісток, в т.ч. порушення репаративної регенерації кісткової тканини, залишаються великою проблемою травматології. Незважаючи на сучасні досягнення в галузі консервативного або хірургічного лікування переломів кісток, відсоток незадовільних результатів (незрощень, псевдоартрозів) свідчить про необхідність пошуку ефективних методів лікування, які усувають розвиток порушень репаративного остеогенезу [14, 28].

В останнє десятиріччя в літературі має місце публікація багатьох наукових праць, присвячених ефективності використання РЕУХТ в ортопедії і травматології, в т.ч. при дегенеративно-дистрофічних захворюваннях хребта і суглобів, а також при порушеннях процесів репаративної регенерації кісткової тканини [24, 38, 173]. Однак, що стосується впливу РЕУХТ на кісткоутворюючі процеси, то серед авторів має місце неоднозначна оцінка дії цього фізичного фактору, крім цього не вивчено механізм дії ударних хвиль, існують різні гіпотези [104, 138, 163]. Тому ми вважали доцільним виконати експериментальне дослідження ряду ланок механізму дії ЕУХТ на процеси репаративного остеогенезу.

Робота основана на експериментальних дослідженнях, які охоплюють 95 кроликів породи шиншила, масою від 2,9 до 3,4 кг, яких розділено на інтактну, контрольну і основну групи. Тваринам контрольної і основної групи в операційній віварію НМАПО імені П.Л.Шупика під комбінованою анестезією (в/м 3% розчин кетаміну, локально 0,5% розчин новокаїну) виконана стандартна модель дірчастого дефекту проксимального метадіафіза

ВГК діаметром 2,5 мм. Кроликам основної групи після отримання дефекту метадіафіза ВГК на ділянку травми проводилась РЕУХТ за допомогою апарату фірми Storz Medical (Siusse), модель MP200, при частоті ударів 1-21 Гц, кількості ударів – 2 тис., робочому тиску 1-5 бар, енергії 0,38 мДж/мм², кількості сеансів ЕУХТ – 4 з інтервалами між сеансами – 3 доби.

Експериментальні дослідження механізму впливу РЕУХТ на процеси репаративного остеогенезу кісткової тканини нами виконано на основі біохімічних, імунологічних і рентген-морфологічних досліджень.

Біохімічні дослідження охоплювали 5 тварин інтактною, 20 – контрольної та 20 – основної групи. У кроликів інтактною групи, а також – контрольної і основної груп через 2, 15, 30 і 45 днів після травми ВГК у СК вивчали активність колагенази, ВФГП і ПФГП, сумарний вміст ГАГ, у кісткових регенератах – вміст колагену та ГАГ після виведення тварин з досліджу.

Імунологічні дослідження виконані на 5 кроликах контрольної та 5 кроликах основної груп у яких до травми ВГК, а також через 2, 15, 30 і 45 діб після травми у СК вивчали рівень ЦТАЛц/Мф, іМ, АЗЦЛц/Мф, ЦАСК, ЦІК, АТ.

Рентген-морфологічні дослідження включають 20 кроликів контрольної та 20 кроликів основної груп, у яких через 5, 15, 30, і 45 діб після травми і виведення тварин з досліджу оперовану ВГК витинали, виконували рентгенографію, готували целоїдинові блоки, гістологічні зрізи фарбували у гематоксиліні-еозині та по ван Гізон.

Результати експериментальних досліджень показали, що у тварин контрольної і основної груп у ранні терміни після травми (2 доба) на фоні катаболічної фази загальної обмінної реакції організму на травму в СК і кісткових регенератах суттєво знижувався вміст біохімічних маркерів важливих для метаболізму кісткової тканини. Так у СК знижувалась активність колагенази відповідно на 16,4% і 19,1% ($p < 0,01$) відносно нормативу. При цьому в СК зростала концентрація ВФГП – відповідно на 19,7% і 16,6% ($p < 0,01$) в обох групах тварин, і знижувалась концентрація

ПФГП відповідно на 19,2% і 17,0% ($p < 0,01$), що свідчило про активні процеси резорбції кісткової тканини, та пригнічення її синтезу. В цей термін дослідження у СК тварин контрольної і основної груп відмічено зниження вмісту ГАГ на 21,0% і 26,3% відповідно по відношенню до нормативу ($p < 0,001$). На 2 добу після травми у кісткових регенератах тварин контрольної групи встановлено зниження вмісту колагену на 29,1%, в основній групі – на 32,6 ($p < 0,001$), при цьому також знижувалась і концентрація ГАГ – на 39,2% у тварин контрольної групи і на 41,9% - основної групи, $p < 0,001$ відносно норми.

У ранньому посттравматичному періоді (2 доба) після травми метадіафіза ВГК у обох групах тварин відбувався “частковий параліч” функціональної активності імунних клітин (фаза виснаження) що супроводжувалось суттєвим падінням рівня ЦТАЛц/Мф на 8,8-40,2% ($p < 0,001$), зниженням АЗЦЛц/МФ на $6,1 \pm 28,2\%$, $p < 0,01$, рівня АТ (імуноглобулінів класу G) на 0,05 опт од ($p < 0,05$), значним підвищенням ІМЛц/Мф на 12,8%-592,1%, підвищенням ЦАСК на 6,8-7,2% ($p < 0,05$), збільшенням рівня ЦІК на 0,219-0,221 опт.од. ($p < 0,01$). Ці імунологічні дослідження показали, що у ранньому посттравматичному періоді (2 доба після травми) у кроликів на фоні загальної метаболічної реакції організму на травму) у СК спостерігається зниження функціональної активності лімфоцитів і макрофагів, зниження імуноглобулінів класу G, також зниження цитотоксичної активності СК. В цей же термін дослідження у СК встановлено різке зростання ІМЛц/Мф яке свідчило про імуностимулюючу дію гуморальних факторів на активність імунних клітин, підвищення ЦАСК за рахунок накопичення запальних цитокінів, які стимулювали проліферацію клітин-мішеней, а також – ЦІК, що ми зв'язуємо з асептичним запальним процесом, який завжди спостерігається при репаративній регенерації кісткової тканини.

Відомо, що загальна обмінна реакція організму на перелом кістки проявляється не тільки в клінічній картині посттравматичного періоду, але і в зміні перебігу обмінних процесів, вона є важливою ланкою направленості репаративного остеогенезу [31, 39, 51]. За рахунок дії нервових і гуморальних факторів, зміни, які відбуваються в обміні речовин характеризуються в перші дні після травми зниженням рівня вмісту в організмі білків, жирів, вуглеводів, виснаженням депо вітамінів (катаболічна фаза), в подальшому інтенсифікується біосинтез відмічених вище інгредієнтів (анаболічна фаза), це необхідно для забезпечення репаративних процесів [52, 55]. Встановлені нами зміни рівня досліджуваних біохімічних і імунологічних маркерів СК і кісткових регенератів тварин обох груп на 2 добу після травми відповідають наявності катаболічної фази загальної метаболічної реакції організму на травму.

При рентгенологічному дослідженні в ранні терміни (5 доба після травми) у кроликів обох груп спостерігали круглої форми дефект проксимального метадіафізу ВГК з чіткими краями, без явищ зміни структури компактної та губчастої кісткової тканини, а також додаткових ушкоджень кісткової тканини у кроликів основної групи після 1 сеансу РЕУХТ. В ці ж терміни дослідження за допомогою гістоморфологічних досліджень в обох групах тварин виявлено ознаки гострої механічної травми, які в кістковій тканині та кістковому мозку проявлялися розладами кровопостачання у вигляді набряку, плазмостазу, кровонаповненням ушкоджених судин та крововиливами. У тварин основної групи після 1 сеансу РЕУХТ додатково на ділянці травми спостерігали розлади гемоциркуляції у вигляді вираженого виходу кров'яних елементів переважно із судин мікроциркуляторного русла, що призводило до дифузної "інфільтрації" кров'яними клітинами кісткового мозку. В обох групах тварин розлади кровопостачання на ділянці травми супроводжувалися явищами проліферації клітин кісткового мозку, що формували поля остеогенної тканини, в якій відмічали ділянки у вигляді тонких перекладок

грубоволокнистої кісткової тканини, яка оточувала фрагменти некротизованої кісткової тканини, що виникли під час нанесення механічної травми. Явища некрозу кісткової тканини відмічали також і в області країв дефекту метадіафіза. Як і при рентгенологічному дослідженні, при вивченні гістологічних препаратів кроликів основної групи після 1 сеансу РЕУХТ додаткових ушкоджень періосту, ендосту, та інших м'яких тканин не встановлено.

Наступні дослідження біохімічних маркерів СК і кісткових регенератів на 15 добу після травми ВГК показали їх відновлення, що відповідало анаболічній фазі загальної обмінної реакції організму на травму. Так у кроликів контрольної групи в СК вміст колагенази перевищував норму на 9,9% ($p < 0,05$), ще більше у тварин основної групи після РЕУХТ – на 21,1% ($p < 0,001$); концентрація ВФГП знижувалась у контрольних тварин на 18,9% відносно норми ($p < 0,001$), тварин основної групи на 7,6% ($p < 0,01$); вміст ПФГП у тварин контрольної групи відповідав нормі – 100,6% ($p > 0,05$), у тварин основної групи – на 10,1% перевищував норму ($p < 0,01$); вміст ГАГ зростав у тварин контрольної групи на 17,5% ($p < 0,01$), у тварин основної групи – на 26,3% ($p < 0,01$). В цей термін дослідження у кроликів обох груп в кісткових регенератах мало місце зростання вмісту колагену – на 8,6% ($p < 0,05$) у кроликів контрольної групи і – на 17,0% ($p < 0,01$) у кроликів основної групи. Показник ГАГ у кісткових регенератах тварин контрольної групи підвищувались до нормативу, складаючи 99,5% ($p > 0,05$), у тварин основної групи на 16,3% ($p < 0,002$) перевищували норматив. В цей термін результати досліджень у СК фракцій гідроксипроліну свідчили про зниження активності процесів резорбції кісткової тканини і підвищення її синтезу. При цьому у кроликів основної групи (після РЕУХТ) відмічена тенденція зміни біохімічних маркерів була більш виражена у порівнянні з кроликами контрольної групи.

Динаміка дослідження біохімічних маркерів СК тварин на 30 добу після травми ВГК показала наступні результати: активність колагенази у СК кроликів контрольної групи знижувались до 6,6% ($p < 0,05$) нижче норми, у кроликів основної групи – на 14,6 ($p < 0,02$) перевищувала норму; вміст ВФГП в СК тварин контрольної групи був нижче норми на 10,6% ($p < 0,01$), як і у кроликів основної групи – на 4,9% ($p < 0,05$) нижче норми; показники ПФГП в СК тварин контрольної і основної групи відповідали нормі, складаючи відповідно 103,8% ($p > 0,05$) і 107,1% ($p < 0,05$); рівень ГАГ у СК кроликів обох груп знижувався, наближаючись до нормативу, проте у тварин контрольної групи ще перевищував норматив на 10,4% ($p < 0,01$), у тварин основної групи – на 19,8% ($p < 0,01$). До цього терміну дослідження у тварин обох груп у кісткових регенератах відмічена подальша тенденція зростання рівня колагену і ГАГ: кількісні показники колагену у тварин контрольної і основної груп перевищували норматив відповідно на 11,4 ($p < 0,05$) і 22,7 ($p < 0,01$), ГАГ – відповідно на 5,0% ($p < 0,05$) і 25,3% ($p < 0,001$).

Проведені імунологічні дослідження засвідчили на 15 та 30 добу після травми розвиток фази компенсації активності імунних клітин у кроликів обох груп, яка характеризувалась відновленням активності лімфоцитів і макрофагів у СК: ЦТАЛц у контрольних тварин була $18,71 \pm 8,43\%$ і $36,18 \pm 1,5\%$ відповідно ($p < 0,01$); у тварин основної групи – $27,43 \pm 6,15$ і $42,74 \pm 8,27$ відповідно ($p < 0,01$); ЦТАМф до 30 доби підвищувалась у контрольних тварин до $18,65 \pm 0,0\%$ ($p < 0,001$) у основної групи тварин – до $27,71 \pm 5,09\%$ ($p < 0,001$). Якщо на 15 і 30 добу АЗЦЛц у тварин контрольної групи у СК ще була нижче нормативу – відповідно $36,45 \pm 0,92\%$ і $36,39 \pm 0,14\%$, то у тварин основної групи (після 4 сеансів РЕУХТ) вона наближалась до рівня нормативу і складала $47,85 \pm 2,53\%$ і $49,07 \pm 3,15\%$ відповідно при $p < 0,05$ між 2 групами тварин. АЗЦМф у СК контрольних тварин до 15 і 30 доби дослідження все ще було нижче нормативу – $8,21 \pm 0,53\%$ і $15,08 \pm 2,89\%$ ($p < 0,001$); у тварин основної групи до 30 доби

дослідження рівень АЗЦМф достовірно перевищував норматив – $31,67 \pm 0,25$ ($p < 0,001$). До 15-30 доби дослідження у тварин контрольної групи відмічено різке зниження ІМЛц/Мф до 6,41%, 6,72% і – 18,19%, - 17,15% ($p < 0,001$), ІМЛц/Мф у кроликів основної групи також був зниженим до 15 доби – 6,11% і 5,49% ($p < 0,001$), проте до 30 доби він не відрізнявся від нормативу – 19,29% і 3,15% ($p < 0,05$) відповідно. На 15-30 добу досліджень у кроликів обох груп відмічено зниження ЦАСК: у контрольних тварин до $17,5 \pm 4,92\%$ і $4,18 \pm 1,32\%$ відповідно при $p < 0,01$, у кроликів основної групи – відповідно до $13,29 \pm 2,37\%$ і $3,14 \pm 1,12$ ($p < 0,01$). В ці ж терміни дослідження рівень АТ у СК кроликів контрольної групи хоча і підвищувався, однак був нижче нормативу – $0,13 \pm 0,049$ опт.од. і $0,16 \pm 0,01$ опт.од. ($p < 0,05$) відповідно. В той же час у групі тварин основної групи цей показник відповідав нормативу: $0,16 \pm 0,01$ опт.од. і $0,16 \pm 0,022$ опт.од. ($p > 0,05$). Що відносно рівня ЦІК на 15 та 30 добу досліджень, то вони у СК тварин обох груп суттєво перевищували норматив і складали у тварин контрольної групи $0,24 \pm 0,016$ опт.од. та $0,15 \pm 0,012$ опт.од. ($p < 0,001$) відповідно і тварин основної групи – $0,185 \pm 0,014$ опт.од. та $0,04 \pm 0,001$ опт.од. ($p > 0,05$).

Як показали результати рентгенологічного дослідження на 15 добу після травми у контрольних тварин чіткість країв дірчастого дефекту ВГК зберігалася, явищ кісткоутворення не спостерігалось, в той же час у тварин основної групи після 2х сеансів РЕУХТ краї дефекту були менш чіткими, оточуючий компактний шар був нерівномірно потовщений, губчата кісткова тканина ущільнена. Тільки на 30 добу у тварин контрольної групи дефект ВГК простежувався менш чітко, компактний шар на ділянці ушкодження кістки був потовщений, губчата кісткова тканина нерівномірно ущільнена. В цей же термін у тварин основної групи після 4х сеансів РЕУХТ спостерігалось зменшення дефекту ВГК, краї якого ущільнювались, спостерігалось більш виражене локальне потовщення компактного шару кісткової тканини. У кроликів основної групи після 4х сеансів РЕУХТ,

додаткових ушкоджень кісткової тканини за рахунок ударних хвиль не відмічалось.

При морфологічному дослідженні тварин контрольної групи за 15 діб на ділянці травми ВГК виявляли прогресуючий остеогенез, потовщення кісткових перекладок ендостального та періостального регенератів, прояви розладів кровопостачання зменшувалися. В цей термін дослідження у тварин основної групи після 2х сеансів РЕУХТ відмічали активні явища проліферації остеогенної тканини, перекладки якої були більш товстими, що відбувалось на фоні проявів дифузних “інфільтраційних” порушень тканинного кровопостачання. Після 2х сеансів РЕУХТ у кроликів основної групи додаткових ушкоджень ударними хвилями кісткової і інших тканин в області травми кістки не спостерігали. За 30 діб після травми у кроликів контрольної групи в області дефекту метафіза ВГК процеси періостального та ендостального кісткоутворення відбувалися на фоні зменшення розладів кровопостачання тканин на ділянці ушкодження. Ендостальні регенерати наближалися назустріч один одному, заповнюючи дефект комплексного шару метадіафіза ВГК. До цього ж терміну експерименту у тварин основної групи після 4х сеансів РЕУХТ в області дефекту ВГК з боку періосту та ендосту були отримані однотипні реактивні відновні зміни, розбіжності полягали тільки в інтенсивності та просторовій характеристиці перебігу репаративної реакції, та проявлялися більшою товщиною та щільністю сформованих кісткових перекладок на ділянці дефекту. У кроликів основної групи після 4х сеансів РЕУХТ, як і після 1-2 сеансів, не виявлено додаткових ушкоджень тканин в області травми ВГК.

При біохімічних дослідженнях на 45 добу після травми ВГК біохімічні маркери у СК тварин обох груп відновлювали свої показники: у СК кроликів контрольної групи вміст колагенази відповідав 98,8% відносно норми ($p > 0,05$), цей показник у кроликів основної групи перевищував норму на 8,6% ($p < 0,05$); вміст ВФГП в СК кроликів контрольної групи наближався до норми, складав 94,7% ($p < 0,05$) і відповідав нормі у кроликів основної групи -

105% ($p>0,05$); концентрація ПФГП в СК кроликів контрольної групи відповідала нормі – 98,8% ($p>0,05$) як у тварин основної групи – 102,2% ($p>0,05$); вміст ГАГ в СК кроликів контрольної груп відповідав нормі, складаючи 102,7% ($p>0,05$), у тварин основної групи перевищував норму на 7,0% ($p<0,05$). До кінця дослідження (45 доба) у кроликів контрольної групи у кісткових регенератах показники колагену перевищували норму на 15,9% ($p<0,001$), у кроликів основної групи – на 21,3% ($p<0,001$). До цього терміну дослідження у кісткових регенератах обох груп тварин вміст ГАГ також перевищував норму на 10,1% ($p<0,01$) у кроликів контрольної групи і – на 25,1% ($p<0,001$) у кроликів основної групи.

Дані біохімічних досліджень свідчать про те, що на 45 добу після травми досліджувані біохімічні маркери в СК обох груп тварин стабілізувались, досягаючи аналогічних показників у інтактних тварин. В той же час під впливом РЕУХТ у кроликів основної групи вміст ключового ферменту в метаболізмі основного білка кісткової тканини колагену – колагенази, як і важливого компоненту основної речовини кісткової тканини – ГАГ перевищували норму. При цьому РЕУХТ сприяла зростанню біосинтезу колагену і ГАГ у кісткових регенератах тварин основної групи і цим створювала сприятливі умови для зрощення дефекту метадіафіза ВГК.

Результати досліджень активності імунних клітин СК на 45 добу після травми засвідчили підвищення ЦТАЛц у СК контрольних кроликів до $39,15\pm 4,56\%$ ($p<0,05$) хоча цей показник був ще нижче норми, у кроликів основної групи – до $56,80\pm 3,03\%$ ($p<0,02$), що перевищувало початковий рівень. Рівень ЦТАМф у СК кроликів контрольної групи не відрізнявся достовірно від нормативу і складав $22,5\pm 2,63\%$, у кроликів основної групи цей показник перевищував норматив, за рахунок стимуляції макрофагів, і складав $45,93\pm 1,17\%$ ($p<0,001$). В цей термін дослідження показник АЗЦЛц підвищувався до $45,0\pm 0,67$ ($p<0,002$) у тварин контрольної групи (ще нижче норми) і до $64,75\pm 3,67\%$ ($p<0,002$) у тварин основної групи (вище норми).

Наприкінці дослідження (45 доба) у СК ІМЛц/Мф у тварин контрольної групи був знижений до 8,11%-8,88% ($p < 0,001$) відповідно, у тварин основної групи відповідно цей показник відповідав нормі – 21,99% і 2,04% ($p > 0,05$). Що стосується рівня цитотоксичності СК (ЦАСК) на 45 добу після травми, то вона складала у контрольних тварин $9,12 \pm 2,25\%$ ($p < 0,05$) тобто була нижче нормативу, у тварин основної групи вона суттєво перевищувала показники інтактних тварин і складала $34,64 \pm 2,67\%$ ($p < 0,001$). Дослідження рівня АТ в СК показало, що до кінця дослідження (45 доба) їх рівень у тварин обох груп відповідав показникам норми – $0,17 \pm 0,02$ опт.од. ($p > 0,05$) у кроликів контрольної групи і – $0,16 \pm 0,017$ опт.од. ($p > 0,05$) у кроликів основної групи. На 45 добу після травми рівень ЦК у СК контрольних тварин знижувався але все ще був вище норми і складав $0,04 \pm 0,02$ опт.од. ($p < 0,001$), в той же час у тварин основної групи знижуючись, він досягав норми – $0,011 \pm 0,004$ опт.од. ($p > 0,05$).

Результати досліджень динаміки імунних маркерів СК у кроликів контрольної та основної груп на 15, 30 і 45 добу після травми ВГК свідчать про розвиток в ці терміни фази компенсації активності імунних клітин, при цьому наприкінці дослідження (45 доба) у тварин контрольної групи ще не спостерігалось відновлення антитілозалежної активності імунних клітин, тоді як у тварин основної групи під впливом 4х сеансів РЕУХТ у відмічені терміни (за винятком 15 доби) досліджувані показники не відрізнялись достовірно від норми, тобто аутологічна СК додана до імунних клітин тварин не сприяла гальмівній дії на їх здатність цитотоксичної дії.

Наприкінці експерименту (45 доба) рентгенологічні дослідження травмованих ВГК засвідчило неповне відновлення цілісності кістки кроликів контрольної та основної груп. Однак під впливом РЕУХТ у тварин основної групи спостерігалось більш виразне ущільнення кісткової тканини травмованої ділянки, в результаті чого дефект мав менш чіткі межі у

порівнянні з тваринами контрольної групи, також спостерігалось зменшення розміру посттравматичного дефекту метадіафіза ВГК.

При морфологічному дослідженні на 45 добу після отриманих наскрізного дефекту проксимального епіметафіза ВГК у контрольних тварин у 1 з 5 тварин відбулося повне відновлення цілісності компактного шару на ділянці дефекту, хоча відновлена ділянка компактної кісткової тканини була в півтора-два рази тонша товщини компактного шару країв дефекту. У випадках відсутності відновлення цілісності кортикального шару виявляли з'єднання атрофічних та загострених країв дефекту сполучною тканиною. До цього терміну дослідження під впливом РЕУХТ у 3 з 5 тварин основної групи мало місце відновлення цілісності кортикального шару ВГК, кісткові регенерати піддавалися активній органотиповій перебудові.

Таким чином, узагальнюючи результати виконаних експериментальних досліджень впливу РЕУХТ на метаболічні, імунологічні процеси в організмі, характер репаративного остеогенезу після виконаного крізного дірчатого дефекту ВГК у кроликів слід відмітити наступне. В ранні терміни посттравматичного періоду (2 доба) у тварин як у СК так і в кісткових регенератах знижується вміст основних біохімічних компонентів метаболізму кісткової тканини – колагену та ГАГ, що відповідає катаболічній фазі загальної обмінної реакції організму на травму. В наступні терміни дослідження (15, 30, 45 доба після травми) у тварин в СК і кісткових регенератів має місце поступове відновлення вмісту як колагену так і ГАГ на фоні анаболічної фази загальної обмінної реакції організму на травму. У порівнянні з кроликами контрольної групи, у яких до кінця дослідження (45 доба) біохімічні маркери у СК (колагеназа, ВФГП, ПФГП, колаген, ГАГ) відновлювали свої показники, у кроликів основної групи вони були достовірно вище норми ($p < 0,05$). Що стосується вмісту колагену і ГАГ в кісткових регенератах, то вони були достовірно вищі у тварин обох груп у порівнянні з нормативом, однак їх показники у тварин основної групи було достовірно вищими у порівнянні з контрольними тваринами ($p < 0,05$). Це

свідчить про зростання біосинтезу основних органічних компонентів кісткової тканини – колагену і ГАГ у тварин основної групи після 4х сеансів РЕУХТ. Підвищений рівень останніх, як у СК, так і у кісткових регенератах створює сприятливі умови для процесів репаративного остеогенезу.

Дослідження активності імунних клітин СК у ранньому посттравматичному періоді (2 доба) показало, що на фоні катаболічної фази загальної обмінної реакції організму на травму у кроликів обох груп спостереження суттєве зниження функціональної активності лімфоцитів, макрофагів і імуноглобулінів класу G ($p < 0,01$), різке підвищення ІМЛц/Мф ($p < 0,001$) за рахунок дії гуморальних факторів СК, які забезпечують наступне підвищення активності цих імунних клітин. Також в динаміці дослідження посттравматичного періоду (2-15 доба) у тварин обох груп в СК відмічено збільшення ЦК ($p < 0,001$) що типово для асептичного запального процесу, яке виникає при процесах репаративного остеогенезу і значне зниження ЦАСК ($p < 0,001$) за рахунок накопичення великої кількості запальних цитокінів, які стимулюють проліферацію клітин-мішеней.

У наступні терміни посттравматичного періоду (15, 30, 45 доба) у обох груп тварин у СК відмічено поступове відновлення функціональної активності лімфоцитів, макрофагів, імуноглобулінів класу G, ІМЛц/Мф, ЦК, ЦАСК. Однак у порівнянні з контрольними тваринами, у яких імунологічні маркери до кінця дослідження (45 доба) повністю не відновлювались ($p < 0,05$) у тварин основної групи після 4х сеансів РЕУХТ ці показники не тільки відновлювались, але і перевищували показники нормативу ($p < 0,05$).

Узагальнюючи результати імунологічних досліджень можна відмітити, що травма ВГК у тварин обох груп у ранньому посттравматичному періоді (2 доба) приводить до різкого зниження функціональної активності імунних клітин СК – фаза виснаження, яка в динаміці дослідження (15, 30, 45 доба) змінюється фазою відновлення активності імунних клітин. Більш інтенсивне відновлення активності імунних клітин у СК кроликів основної групи

відбувалось у кроликів основної групи (після 4х сеансів РЕУХТ), у яких до кінця дослідження імунні маркери перевищували показники нормативу на відміну від кроликів контрольної групи.

Вивчення процесів репаративної регенерації кісткової тканини на основі рентген-морфологічних досліджень показало у кроликів обох груп процеси відновлення цілісності наскрізного дефекту метадіафіза ВГК відбувалися однотипно на фоні посттравматичних розладів місцевого кровопостачання. Однак мали місце розбіжності у характері і ступені виразності цих порушень, так у тварин основної групи після РЕУХТ поряд з набряком, плазмостазом, повнокрів'ям судин, типових і для кроликів контрольної групи, спостерігали розлади гемоциркуляції у вигляді вираженого виходу кров'яних елементів переважно з судин мікроциркуляторного русла, що призводило до дифузної "інфільтрації" кров'яними клітинами кісткового мозку ділянки травми, та поверхонь стінок дефекту кісткової тканини. Відмічені порушення кровопостачання призводили до утворення масивних ділянок кісткового ендостального регенерату, за рахунок поєднання та перебудови останнього відбувається відновлення цілісності метадіафізарного відділу ВГК. При виконанні цього мікроскопічного дослідження впливу РЕУХТ на репаративний остеогенез нами не виявлено негативного ефекту цього фізичного фактору (ударних хвиль) на структуру кісткової та м'яких тканин у вигляді мікропереломів та інших ушкоджень.

Таким чином, результати експериментальних біохімічних, імунологічних, рентгенморфологічних досліджень показали, що механізм впливу РЕУХТ на загоєння травматичного дефекту епіметафіза ВГК характеризується виникненням порушень мікроциркуляції у вигляді "дифузної інфільтрації" кісткового мозку та кісткової тканини ділянки травми клітинами крові за рахунок чого інтенсифікується ендостальне кісткоутворення, крім цього дія ударних хвиль викликає підвищення активності імунокомпетентних клітин сироватки крові, нормалізацію рівня

важливих компонентів основної речовини кісткової тканини – колагену і
ГАГ.

ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі експериментально-теоретично доведено вплив РЕУХТ на активність імунокомпетентних клітин сироватки крові, рівень важливих компонентів основної речовини кісткової тканини – колагену і ГАГ, а також процеси репаративного остеогенезу.

- 1 За даними літератури ЕУХТ з ефективністю використовується в сучасній медицині для лікування “свіжих” переломів кісток, стресових переломів кісток, а також порушень кісткоутворюючих процесів – повільно консолидуючих, незрощених переломів кісток і псевдоатрозів. Проте вивчення ланок механізму дії ударних хвиль на процеси репаративного остеогенезу потребує свого подальшого дослідження, що має важливе теоретичне і практичне значення.
- 2 Результати імунологічних досліджень кроликів на 2 добу після формування дефекту метадіафіза ВГК на фоні катаболічної фази загальної обмінної реакції організму на травму засвідчили виснаження активності імунних клітин СК: падіння ЦТАЛц/Мф на 8,8-40,2 ($p<0,001$), АЗЦЛц/Мф – на 6,1-28,2% ($p<0,01$), рівня АТ (імуноглобулінів класу G) – на 0,05 опт. од. ($p<0,05$); підвищення ІМЛц/Мф на 12,8-592,1%, ЦАСК – на 6,8-7,2% ($p<0,05$), середньомолекулярних ЦІК на 0,219-0,221 опт. од ($p<0,001$).
- 3 У тварин на 15, 30, 45 добу після травми ВГК в динаміці спостереження в період анаболічної фази загальної обмінної реакції організму на травму встановлено поступове відновлення активності імунних клітин СК, хоча повної нормалізації їх рівня наприкінці дослідження (45 доба) у кроликів контрольної групи не відбувалось: нижче нормативу були на 4,7% ($p<0,05$) ЦТАЛц, на 6,2 ($p<0,05$) – АЗЦМф, на 1061-15,4% - ІМЛц/Мф, на 3,2% ($p<0,05$), ЦТАСК. В той же час у кроликів основної групи під впливом РЕУХТ наприкінці дослідження (45 доба) відбувалось не тільки відновлення, але і

підвищення активності імунних маркерів СК вище нормативу на 15,2-41,3 ($p < 0,001$).

- 4 Біохімічні дослідження показали, що при моделюванні травматичного дефекту метадіафіза ВГК у кроликів на 2 добу після травми на фоні катаболічної фази загальної обмінної реакції організму на травму у СК спостерігається виразне зниження рівня вмісту основних метаболічних маркерів кісткової тканини (колагенази, ПФГП, ГАГ) на 19,1-26,3% ($p < 0,001$) відносно нормативу, підвищення рівня ВФГП на 16,6-19,7% ($p < 0,001$). До цього терміну дослідження у кісткових регенератах тварин відбувалось зниження рівня вмісту колагену і ГАГ на 29,1-32,6% ($p < 0,001$), і – 32,2-41,9% ($p < 0,001$).
- 5 Як показали біохімічні дослідження у тварин основної групи з дефектами ВГК після 4-х сеансів РЕУХТ не відбувалось порушень метаболізму кісткової тканини, у динаміці дослідження, на фоні анаболічної фази загальної обмінної реакції організму на травму спостерігалось зростання біосинтезу колагену і ГАГ: рівень цих біохімічних маркерів на 15, 30, 45 добу після травми зростав поступово у СК, досягаючи наприкінці дослідження (45 доба) норми і перевищуючи аналогічні показники у СК контрольних тварин на 3,4-10,0% ($p < 0,05$) і кісткових регенератах – на 5,4-15,0% ($p < 0,05$) (45 доба), що свідчило про активізацію метаболізму колагену і ГАГ.
- 6 Рентген-морфологічними дослідженнями встановлено, що у кроликів з дефектами метадіафіза ВГК після 4-х сеансів РЕУХТ не відбувається додаткових ушкоджень м'яких і кісткової тканини ділянки травми. На 5 добу після травми у тварин основної групи, на відміну від тварин контрольної групи, під впливом ударних хвиль гістологічно виявлені розлади мікроциркуляції кісткової тканини: відбувалась вазодилатація, збільшувалась проникність стінок судин,

спостерігався вихід кров'яних клітин з капілярів та синусоїдів кісткового мозку в оточуюче середовище у вигляді “дифузної інфільтрації” тканин ділянки травми.

- 7 При гістологічних дослідження встановлено, що у тварин основної групи під впливом РЕУХТ “дифузна інфільтрація” кісткового мозку та стінок дефекту кісткової тканини призводить до утворення масивних ділянок кісткового ендостального регенерату. При цьому кількість кісткових перекладок періостального і ендостального регенератів у зоні дефекту ВГК у кроликів основної групи на 15, 30 і 45 добу дослідження достовірно перевищували їх кількість у порівнянні з тваринами контрольної групи ($p < 0,05$), що приводило наприкінці дослідження (45 доба) до повного відновлення цілості метадафіза ВГК у більшості тварин основної групи (у 3 з 5) у порівнянні з тваринами контрольної групи (у 1 з 5).
- 8 Отже, РЕУХТ при ушкодженнях кісток не порушує метаболізм і структуру кісткової тканини, підвищує біосинтез важливих компонентів основної речовини кісткової тканини колагену і ГАГ, інтенсифікує імунокомпетентні клітини СК за рахунок порушень мікроциркуляції ділянки травми кістки у вигляді дифузної інфільтрації тканин кров'яними клітинами активізує ендостальне кісткоутворення, і є перспективним напрямком оптимізації кісткоутворюючих процесів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: руководство / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Аналіз впливу аутологічних матеріалів сполучної тканини на перебіг репаративного процесу при дефекті кістки в експерименті / Г.В.Гайко, А.В.Калашніков, А.Т.Бруско [та ін.] // Вісник ортопедії, травматології та протезування. - 2012. – №1(72). – С. 56-60.
3. Аналіз ускладнень хірургічного лікування переломів плечової кістки з використанням блокованого і неблокованого інтрамедулярного остеосинтезу / В.А.Васюк, О.А.Брагарь, Д.І.Яким'юк [та ін.] // XVII з'їзд ортопедів-травматологів України: збірник наукових праць. - Київ, 2016. – С. 150-151.
4. Андреева Т.М. Травматизм в Российской федерации на основе статистики / Т.М. Андреева [Электронный ресурс] // Социальные аспекты здоровья населения – 2010. - №4(16) – Режим доступности к журн.: <http://vestnik.mednet.ru/content/view.234.30>.
5. Анкин Л.Н. Некоторые аспекты формирования концепции лечения переломов костей в Украине / Л.Н.Анкин, Е.В.Кулаженко, Н.Л.Анкин // Тези доповідей XIV з'їзду ортопедів-травматологів України. - Одеса, 2006. - С. 2-4.
6. Анкин Л.Н. Практическая травматология. Европейские стандарты диагностики и лечения / Анкин Л.Н., Анкин Н.Л.– М.:Книга плюс, 2002. – 480с.
7. Білінський П.І. Обґрунтування і можливості малоконтактного багатоплощинного остеосинтезу / П.І.Білінський // XVI з'їзду ортопедів-травматологів України: збірник наукових праць. - Харків, 2013. - С. 10-12.

8. Бэц Г.В. Тактико-технологические и социальные аспекты лечения переломов в Украине / Г.В.Бэц, И.Г.Бэц // XVII з'їзд ортопедів-травматологів України: збірник наукових праць. - Київ, 2016. – С. 413-414.
9. Васильев А.Ю. Значение ударно-волновой дистанционной терапии в лечении больных с травмами и заболеваниями опорно-двигательного аппарата / А.Ю.Васильев, Е.А.Егорова, А.Н.Ткачѐв // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физкультуры. – 2003. – №2. – С. 28-30.
10. Васильев А.Ю. Экстракорпоральная ударно-волновая терапия в лечении травм и заболеваний опорно-двигательного аппарата / А.Ю. Васильев, Е.А.Егорова. - М.: Медицина, 2005. - 95с.
11. Воробьѐв Н.А. Условия и источники образования хондроидной ткани при регенерации костей / Н.А.Воробьѐв // Проблемы травматологи: сборник. – К.: Гос. мед. изд. УССР, 1955. – С.57-63.
12. Гарибян Э.С. Костный матрикс как индуктор остеогенеза в комплексном лечении замедленной консолидации, несросшихся переломов и ложных суставов длинных костей / Э.С. Гарибян. – Ереван, 1994. – 63 с.
13. Гарилевич Б.А. Оценка эффективности ударно-волновой терапии в реабилитации больных с переломами костей конечностей: / Б.А.Гарилевич, Е.А. Егорова // Сборник трудов Ижевской государственной медицинской академии. – Ижевск, 1999. – Т.37. – С. 114

14. Гнатейко Н.О. Зміни концентрації багатомірних маркерів остеогенезу залежно від способу лікування закритих переломів / Н.О.Гнатейко, А.В.Калашніков // XVII з'їзд ортопедів-травматологів України: збірник наукових праць. - Київ, 2016. – С. 220-221.
15. Гнатейко Н.О. Роль трансформуючого фактора росту В1 в патогенезі сповільненої консолідації переломів кісток / Н.О.Гнатейко // Тези доповідей XIV з'їзду ортопедів-травматологів України. - Одеса, 2006. - С. 252-255.
16. Горидова Л.Д. Оптимізація репаративного остеогенезу (погляд на проблему) / Л.Д.Горидова, К.К.Романенко // Тези доповідей XIV з'їзду ортопедів-травматологів України. - Одеса, 2006. - С. 257-258.
17. Денисюк Б.С. Стабільно-функціональний остеосинтез в ліченні діафізарних переломів бедренної кістки / Б.С.Денисюк, В.М.Касянчук, В.П.Златив // Тези доповідей XIV з'їзду ортопедів-травматологів України. - Одеса, 2006. - С. 17-18.
18. Диденко Г.В. Модифікація протипухолової аутовакцини на основі продуктів метаболізму *V.Subtilis* 7025 при допомозі сорбентів и аутомарофагов / Г.В. Диденко, О.С. Дворщенко, Г.С. Лисовенко // Эксперим. онкология. – 2003. – №2. – С. 116-118.
19. Діафізарні переломи в структурі травматизму серед населення України / Г.В.Гайко, А.В.Калашніков, В.А.Боер [та ін.] // Тези доповідей XIV з'їзду ортопедів-травматологів України. - Одеса, 2006. - С. 9-10.

20. Егорова Е.А. Лечение дегенеративно-дистрофических заболеваний опорно-двигательной системы с применением ударных импульсов / Е.А.Егорова // Вестник восстановительной медицины. – 2006. - №1(15). – С. 28-30.
21. Егорова Е.А. Экстракорпоральная ударно-волновая терапия в лечении переломов костей конечностей / Е.А.Егорова, А.Ю.Васильев // Спортивная медицина. – 2013. – №1 – С. 12-16.
22. Егорова Е.А. Экстракорпоральная ударно-волновая терапия в ортопедической практике / Е.А.Егорова, А.Ю.Васильев, А.Н.Пинчук // Медицинский вестник МВД. – 2003. – №2(3) – С. 9-12.
23. Егорова Е.А. Электромагнитная ударно-волновая терапия в лечении больных с переломами костей конечностей: дис. ... кандидата мед. наук: 14.00.19 / Егорова Елена Алексеевна. – М., 1999. - 183 с.
24. Экстракорпоральна ударно-хвильова терапія як метод неінвазивного лікування ентезопатій / В.М. Чорний, М.Л. Головаха, В.Ю. Юрків [та ін.] // Спортивна медицина. – 2013. – № 1. – С. 22–24.
25. Зулкарнеев Р.Р. Ударно-волновая терапия травм и заболеваний опорно-двигательного аппарата / Р.Р.Зулкареев, К.Е.Валеев, Ю.Р.Степанов // Казанский медицинский журнал. - 2009. – Т. 90, №5. – С. 753-754.
26. Использование экстракорпоральной ударно-волновой терапии в лечении хронического болевого синдрома / А.В.Ивченко, В.Н.Коротнев, В.А.Родичкин // Спортивна медицина. – 2013. - №1. - С. 26-28.

27. Іванов О.М. Застосування кріоконсервованого хоріона при розладах репаративного остеогенезу: дис. ...кандидата мед. наук: 14.01.21/ Іванов Олексій Миколайович. – К., 2016. – 223с.
28. Калашніков А.В. Розлади репаративного остеогенезу у хворих із переломами довгих кісток (діагностика, прогнозування, лікування, профілактика): дис. доктора мед. наук: 14.01.21 / Калашніков Андрій Валерійович. – К., 2003. – 284 с.
29. Калашніков А.В., Малик В.Д. Порівняльна характеристика ефективності оперативного лікування хворих із черезвертлюговими переломами стегнової кістки з використанням різних металевих фіксаторів // Вісник ортопедії, травматології та протезування. - 2016. – №1(88). – С.62-68.
30. Кляцкин С.А. Методика определения гликозаминогликанов орциновым методом в крови больных С.А.Кляцкин, Р.И.Лифшиц // Лабораторное дело. – 1989. – №10. – С. 51-53.
31. Козлов В.И. Дисфункция иммунной системы в патогенезе травматической болезни / В.И.Козлов // Украинский журнал экстремальной медицины. - 2005. - №3. – С. 5-16.
32. Копитчак І.Р. Дослідження впливу тяжкої і комбінованої травми на неспецифічну резистентність організму / І.Р.Копитчак // Експериментальна і клінічна медицина. - 2013. - №4(61). – С. 17-20.
33. Корж Н.А. Современные концепции репаративной регенерации кости / Н.А.Корж, Н.В.Дедух, Л.Д.Горидова // Тези доповідей XIV з'їзду ортопедів-травматологів України. - Одеса, 2006. - С. 270-271.

34. Крель А.А. Методы определения оксипролина в биологических жидкостях и их применение в клинической практике / А.А.Крель, Л.Н.Фурцева / Вопросы медицинской химии. - 1968. – Т.14, В.6. – С.635-640.
35. Левенець В.М. Ударно-хвильова терапія в лікуванні несправжніх суглобів / В.М.Левенець, М.М.Риган, А.О.Веремій // Спортивна медицина. – 2013. - №1. - С.17-21.
36. Левенець В.М. Ударно-хвильова терапія в ортопедії і спортивній медицині / В.М.Левенець, М.М.Риган. – Київ:Фенікс, 2012. - 155с.
37. Лікування хворих з незрощеннями кісткових відламків, несправжніми суглобами та повторними переломами довгих кісток / В.А.Андрейчин, І.В.Шибель, І.Д.Непорядний [та ін.] // XVI з'їзду ортопедів-травматологів України: збірник наукових праць. - Харків, 2013. - С. 225-226.
38. Лук'янцева Г.В., Франк С.Ю., Пастухова В.А. Ударно-хвильова терапія як один з засобів неінвазивного лікування у реабілітації хворих з порушеннями опорно-рухового апарату// Український медичний альманах, 2013. – Том 16, №2. – с. 183-187.
39. Лунева С.Н. Биохимические показатели в оценке рапаративногоостеогенеза у пациентов с различными типами скелетной травмы / С.Н. Лунева, Е.А. Ткачук, М.В. Стогов // Гений ортопедии. – 2010. - №1. – с. 112-115.
40. Место применения радиальной ударно-волновой терапии в реабилитации профессиональных спортсменов / В.Г.Марихин, М.В.Сикорская, Ю.К.Ременюк [и др.] // XVII з'їзд ортопедів-травматологів України: збірник наукових праць. - Київ, 2016. – С. 226-227.

41. Миронов С.П. Применение экстракорпоральной ударно-волновой терапии при лечении хронических дегенеративно-дистрофических заболеваний опорно-двигательной системы /С.П.Миронов, Д.О.Васильев, Г.М.Бурлакова // Вестн. травматологии и ортопедии им. Н.Н.Приорова. – 1999. - №1. – С. 26-29.
42. Моделювання ксеногенних клітинних систем на твердих фазах з використанням пухлиноасоційованих та ембріональних антигенів / О.С. Дворщенко. Г.В. Діденко, М. Г. Чередарчук [та ін.] // Доповіді НАН України. - 2007. - №12. - С.155-161.
43. Опыт применения радиальной ударно-волновой терапии при замедленно консолидирующихся переломах и псевдоартрозах / М.Л. Головаха, И.А.Диденко, М.В.Сикорская [и др.] // XVII з'їзд ортопедів-травматологів України: збірник наукових праць. - Київ, 2016. – С. 235-236.
44. Особенности лечения переломови ложных суставов ладьевидной костиу спортсменов / А.В.Борзых, И.А.Соловьев, И.М.Труфанов [и др.] // Спортивна медицина. – 2013. - №1. – С. 29-32.
45. Островський О.А. Зміни в клітинах і тканинах живих організмів під впливом ударно-хвильової терапії (огляд спеціальної літератури) / О.А.Островський // Спортивна медицина. - 2013.- №1. – С.7-11.
46. Перспективные разработки терапевтического применения ударных волн / Ю.В.Андрянов, Б.А.Гарилевич, Ю.В.Олефир, Ротов А.Е. [и др.] // Альмонах клинической медицины. – 2006. - №12. – С. 104-105.

47. Пинчук А.Н. Экстракорпоральная ударно-волновая терапия в лечении раненых с боевыми повреждениями конечностей: дис. ... кандидата мед. наук: 14.00.22, 14.00.19 / Пинчук Андрей Николаевич. – М., 2005. – 124 с.
48. Попсуйшапка А.К. Частота несращения и замедленного сращения отломков при диафизарных переломах длинных костей конечностей по данным харьковской МСЭК / А.К.Попсуйшапка, О.К.Ужелова, В.А.Литвишко // XVI з'їзд ортопедів-травматологів України: збірник наукових праць. - Харків, 2013. - С. 256-257.
49. Порівняльний аналіз ефективності лікування діафизарних переломів великогомілкової кістки при різних видах остеосинтезу / Г.В.Гайко, А.В.Калашніков, К.В.Вдовиченко [та ін.] // Вісник ортопедії, травматології та протезування. - 2012. – №2(73). – С. 8-11.
50. Самохин А.В. Концепция создания доктрины оказания помощи больным с переломами длинных костей / А.В. Самохин. Н.К Терновой, В.А. Кравченко // Тези доповідей XIV з'їзду ортопедів-травматологів України. - Одеса, 2006. - С. 49-50.
51. Стогов М.В. Биохимические показатели в прогнозировании течения остеорепаративных процессов при скелетной травме / М.В. Стогов, С.Н. Лунева, Е.А. Ткачук // Клиническая лабораторная диагностика. – 2010. - №12. – С. 5-8.
52. Стогов М.В. Оценка метаболического статуса организма при скелетной травме / М.В. Стогов // Гений ортопедии. - 2009. - №3. – С. 103-106.

53. Страфун С.С. Біологічні аспекти репаративного остеогенезу / С.С. Страфун, А.Т.Бруско, А.В.Калашніков // Тези доповідей XIV з'їзду ортопедів-травматологів України. - Одеса, 2006. - С. 285-286.
54. Сулима В.С. Лікування хворих з переломами довгих кісток кінцівок за сучасними стандартами остеосинтеза / В.С.Сулима // XVII з'їзд ортопедів-травматологів України: збірник наукових праць. - Київ, 2016. – С. 411-412.
55. Ткачук Е.А. Особенности метаболических изменений при скелетной травме в условиях применения метода чрезкостного остеосинтеза по Илизарову: дис. ... кандидата мед. наук: 14.00.19 / Ткачук Елена Анатольевна. – Казань. 2012. - 187 с.
56. Фіщенко В.О. Експериментальне дослідження впливу екстракорпоральної ударно-хвильової терапії на регенерацію кісткової тканини в умовах свіжої травми / В.О Фіщенко., Л.О Килимнюк., О.Д. Рушак // XVII з'їзд ортопедів-травматологів України: збірник наукових праць. - Київ, 2016. – С. 209-210.
57. Формування національної концепції лікування діафізарних переломів кінцівок (100-річний досвід інституту імені проф. Сітенка) / А.А.Корж, Н.А.Корж, А.К.Попсуйшапка [та ін.] // Тези доповідей XIV з'їзду ортопедів-травматологів України. - Одеса, 2006. - С. 31-33.
58. Хірургічне лікування великих кісткових дефектів довгих кісток / В.К.Івченко, Д.В.Івченко, О.І.Гвець [та ін.] // XVI з'їзду ортопедів-травматологів України: збірник наукових праць. - Харків, 2013. - С. 241-243.

59. Шарабчиев Ю.Т. Использование экстракорпоральной ударно-волновой терапии в травматологии и ортопедии / Ю.Т. Шарабчиев, Т.В. Дудина, О.Ю. Полянская // Клиническая практика и здоровье. - 2013. - №3. – С. 16-34.
60. Шель Я. Современные представления о фокусированной и радиальной терапии / Я. Шель // Спортивна медицина. – 2013. – № 1. – С. 3–6.
61. Шищук В.Д. Помилки та ускладнення при лікуванні діафізарних переломів стегнової кістки / В.Д. Шищук // XVI з'їзд ортопедів-травматологів України: збірник наукових праць. - Харків, 2013. - С. 268-271.
62. Шляхи удосконалення травматологічної допомоги в Україні / Г.В.Гайко, С.С.Страфун, А.В.Калашніков [та ін.] // XVI з'їзд ортопедів-травматологів України: збірник наукових праць. - Харків, 2013. - С. 4.
63. Alkhawashki H.M. Shock wave therapy of fracture nonunion / H.M. Alkhawashki // Injury. – 2015. – Nov., 46(11). – P. 2248-2252.
64. Application of extracorporeal shock-waves in the treatment of pseudarthrosis of the lower extremity. Preliminary results / J.Vogel, C.Hopf, P.Eysel [et al.] // Arch Orthop. Trauma Surg. – 1997. – Vol. 116. – P. 480-483.
65. Augato P. In vivo effect of shock-waves on the healing of fractured bone / P. Augato, L. Claes, G. Suger // Clin. Biomech (Bristol. Avon). – 1995. - №10. – P. 374-378.
66. Bara T. Nine-years experience with the use of shock waves for treatment of bone union disturbances / T. Bara, M. Synder // Ortop.Traumatol.Rehabil. – 2007. - May-Jun., Vol.9(3). – P. 254-258.

67. Bioeffects of extracorporeal shock-wave lithotripsy. Strategy for research and treatment / J.E. Lingemaman, J.H. McAteer, S.A. Kempson [et al.] // Urol.Clin. North. Am. – 1998. – Vol. 15. – P. 507-514.
68. Biological effect of shockwave: in vivo effect of high-energy pulses on rabbit bone / M. Delius, K. Draenert, Al Dick Y. // Ultrasound Med. Biol. – 1995. - Vol. 21. – P. 1219-1225.
69. Bone healing induced by ESWT / B.Moretti, A.Notarnicola, L.Moretti [et al.] // Clin.cases Miner. Bone. Metab. – 2009. – May., Vol. 6(2). – P. 155-158.
70. Brendel W. Effect of shock wave on the microvasculature / W. Brendel, M. Delius, A. Goetz // Prg. Appl. Microcirculation. – 1987. - № 12. – P. 41-50.
71. Burger R.A. Extracorporeal shock wave therapy of pseudo-arthrosis and aseptic osteonecrosis / R.A.Burger, U.Witzsh, J.Haist // J. Endourol. – 1991. – Vol. 5,(Suppl. 1). – P. 48-50
72. Cheng J.H. Biological mechanism of shockwave in bone / J.H. Cheng, C.J. Wang // Int. J. Surg. - 2015. – №24 (P+B). – P. 143-146.
73. Coleman A.J. A review of the physical properties and biological effects of the high amplitude acoustic field used in extracorporeal lithotripsy / A.J. Coleman, J.E. Sanders // Ultrasonics. – 1993. – Vol. 31. – P. 75-79.
74. Comparison of the effectiveness of gene therapy with vascular endothelial growth factor of shock wave therapy to reduce ischemic necrosis in an epigastric skin flap model in rats / R. Meirer, G. Huemer, M. Ochlbauer [et al.] // J.Plast. Reconstr, Aesthet Surg. – 2007. – Vol. 60. – P. 266-271.

75. Cormack D. The osteogenic potential of extracorporeal shock wave therapy: An in vivo study / D. Cormack, H. Lane, J. Elwain // Irish. Med. Sci. – 1996. – Vol. 165. – P. 20-22.
76. Corneti C.N. Current assessment of fracture healing / C.N. Corneti // Brighton C.T. Bone formation and repair / C.T. Brighton, G.E. Friendlaende, J. Lane. - Rosemont: American Academy of Orthopedic Surgeons, 1994. – P. 499-504.
77. Dahmen G.P. Skrodies: Extracorporale stosswellentherapie (ESWT) in knochennahen Weichteilbereich an der Schulter / G.P. Dahmen // Extracta Orthoped. – 1992. –№ 11. – P. 25-27.
78. Delius M. Extracorporeal shock waves act by shock wave – gas bubble interaction / M. Delius, F. Ueberle, W. Eisenmenger // Ultrasound Med. Biol. – 1998. -№ 24. – P. 1055-1059.
79. Disturbance of cellular calcium homeostasis by in vitro application of shock wave / D.Suhr, F. Brummer, U. Irmer [et al.] // Ultrasound Med. Biol. – 1996. – Vol. 22. – P. 671-679.
80. Divergence of angiogenic and vascular permeability signaling by VEGF: inhibition of protein kinase C suppresses VEGF-induced angiogenesis, but promotes VEGF-induced, NO-dependent vascular permeability / I.Spyridopoulos, C.Luedemann, D.Chen [et al.] // Arterioscler.Thromb.Vasc. Biol. – 2002. – Vol. 22(6). – P. 901-906.
81. Drisoll S.W. Optimizing stability in distal humeral fracture fixation / S.W. Drisoll // J. Shoulder Elbow. Surg. – 2005. – Vol. 14. – P. 186-195.
82. Early effects of extracorporeal shock wave treatment on osteoblast-like cells: a comparative study between electromagnetic and electrohydraulic devices / L. Martini, G. Giavaresi, M. Fini [et al.] // J. Trauma. – 2006. – Vol. 61, № 5. – P. 1198-1206.

83. Effect of extracorporeal shock wave therapy on fracture healing in rat femoral fractures with intact and excised periosteum / B.Oktaş, Z.Orhan, B. Erbil [et al.] // *Eklem Hastalik Cerrahisi*. – 2014. – Vol. 25(3). – P. 158-162.
84. Effect of low-dos shock wave energy of fracture healing: an animal study / O.Seemann, J. Rassweiler, M.Chvapil [et al.] // *J.Endourol*. – 1992. – Vol. 6(3). – P. 219-223.
85. Effects of extracorporeal shock wave therapy on fracture nonunions / M.C.Vulpiani, M.Vetrano, F. Conforti [et al.] // *Am J. Orthop*. – 2012. – Vol. 41. – P. 122-127.
86. Effects of leptin on fracture healing in rat tibia / G. Kerimoglu, E.Yulug, S. Kerimoglu [et al.] // *Eklem. Hastalik. Cerrahisi*. - 2012. – Vol. 24. – P. 102-107.
87. Effects of shock wave therapy on glycosaminoglycan expression during bone healing / P.R.Santos, V.P. Medeiros, Freire Martins de Moura J.P. [et al.] // *Int. J. Surg*. – 2015. – Dec., Vol.24. – P. 120-123.
88. Enhancing mechanical strength during early fracture healing via shockwave treatment: an animal study / R.W.-W. Hsu, C.L. Taib, C.Y.C. Chen [et al.] // *Clinical. Biomechanics*. – 2003. – Vol. 18, Issue 6. – P. 130-136.
89. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe, 18.03.1986, Strasbourg. – Strasbourg, 1986. – 52 p.
90. Expiemental studies: focused and radial shock wave treatment, influence human mesenchimal stem cells / [W.Bloch, V.Delhasse, H.Werlandet et al.] // *Eirgtaltrad congress in shock wave treatment for musculoskeletal pain*. – Berlin, 2008. – P.12.

91. Extracorporeal shock wave accelerates consolidation in distraction osteogenesis of the rat mandible / J.P. Lai, F.S. Wang, C.M. Hung [et al.] // J. Trauma. - 2010. - Vol. 69. – P. 1252-1258.
92. Extracorporeal shock wave promotes growth and differentiation of bone-marrow stromal cells towards osteoprogenitors associated with induction of TGF-beta1 / F.S.Wang, K.D. Yang, R.F.Chen [et al.] // J. Bone. Joint. Surg. - 2002. – Vol. 84(3). – P. 457-461.
93. Extracorporeal shock wave therapy ameliorates hindlimb ischemia in rabbits / K.Oi, Y.Fucumoto, K.Ito [et al.] // J.Exp. Med. – 2008. – Vol. 214. – P. 151-158.
94. Extracorporeal shock wave therapy for chronic painful had syndrome. A prospective double blind, randomized trial assessing the efficacy of a new electromagnetic shock wave device / H. Collwitzer, P. Diehl, A. Koff // J. Foot. Ankle. Surg. – 2007. - Vol. 46. – P. 348-357.
95. Extracorporeal shock wave therapy for delayed union of long bone fractures [Preliminari results of a prospective cohort study] / S. Beutler, G. Regel, H.C. Pape [et al.] // Unfallchirurg. – 1999. – Vol. 102(1). – P. 839-847.
96. Extracorporeal shock wave therapy for nonunion of the tibia / E.A. Elster, A. Stojadinovic, J. Forsberg [et al.] // J. Orthop. Trauma. – 2010. - Vol. 24, № 3. – P. 133-41.
97. Extracorporeal shock wave treatment for defective nonunion of the radius: a rabbit model / O. Bulut, M. Eroglu, H. Ozturk [et al.] // J. Orthop. Surg. – 2006. - Vol. 14(2). – P. 133-137.
98. Extracorporeal shock wave treatment in nonunions of long bone fractures / Z.H.Xu, Q.Jiang, D.Y.Chen [et al.] // Int.Orthop. – 2009. – Jun., Vol. 33(3). – P.789-793.

99. Extracorporeal shock wave treatment of non- or delayed union of proximal metatarsal fractures / R.G. Alvarez, B.Cincere, C. Channappa [et al.] // *Foot Ankle Int.* – 2011. – Aug., Vol.32(8). – P. 746-754.
100. Extracorporeal shock waves induce ventral-periosteal new bone formation out of the focus zone--results of an in-vivo animal trial / T.Tischer, S.Milz, H.Anetzberger [et al.] // *Z. OrthopIhreGrenzgeb.* – 2002. – Vol. 140(3). – P. 281-285.
101. Extracorporeal shock-wave therapy compared with surgery for hypertrophic long-bone nonunions / A. Cacchio, L. Giordano, O. Colafarina [et al.] // *J. Bone. Joint. Surg. Am.* – 2009. – Vol. 91(11). – P. 2589-2597.
102. Extracorporeal shockwave therapy (ESWT) ameliorates healing of tibial fracture non-union unresponsive to conventional therapy / N. Haffner, V. Antonic, D. Smolen [et al.] // *Injury.* – 2016. – Vol.47, № 7. – P. 1506-1513.
103. Extracorporeal shockwave therapy (ESWT) in the treatment of atrophic non-unions of femoral shaft fractures / S.J. Kuo, I.C. Su, C.J. Wang [et al.] // *Int. J. Surg.* – 2015. – Vol.24, № 12. - P. 131-134.
104. Extracorporeal shockwave therapy (ESWT)--First choice treatment of fracture non-unions? / W. Schaden, R.Mittermayr, N.Haffner [et al.] // *Int. J. Surg.* – 2015. – Vol. 24(Pt B). – P. 179-183.
105. Extracorporeal shockwaves versus surgery in the treatment of pseudoarthrosis of the carpal scaphoid / A. Notarnicola, L. Moretti, S. Tafur [et al.] // *Ultrasound. Med. Biol.* – 2010. – Vol. 36(8). – P. 1306-1313.
106. Extracorporeale Stoßwellen in der therapie von wund – und fracturheilung? / G. Haupt, R. Diesch, T. Straub [et al.] // *Urologe.* - 1990. – Vol. 29. – P. 72-74.

107. Frey S. Etude d'une methode d'exploitation et du taux normal de l'hydroxyproline du serum / S. Frey // Biochem. Biophys. etc. – 1965. – Vol.3, № 2. – P. 446-450.
108. Griffin V. Exploring the application of mesenchymal stem cells in bone repair and regeneration / V.Griffin, S.A.Iqbal // J.Bone Jt Surg. – 2011. – Vol. 93, № 4. – P. 427-434.
109. Hayda R.A. Pathophysiology of delayed healing / R.A. Hauda, C.T. Brighton, J.L. Esterhai // Clinorthop. – 1998. - Vol. 355. – P. 31-40.
110. Haupt G. Use of extracorporeal shock waves in the treatment of pseudarthrosis, tendinopathy and other orthopedic diseases / G. Haupt // J. Urol. – 1997. – Vol. 158. – P. 4-11.
111. Heckman J.D. Rockwood and Greens Fractures in Adults / J.D. Heckman. - [5th ed.]. - Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins, 2001.
112. High energy shock wave in medicine / [Chaussy C., Eisenberg F., Jocham D. et al.]. - Stuttgart Theme, 1997. – 198 p.
113. High-energy extracorporeal shock wave treatment of nonunions / J.D. Rompe, T. Rosendahl, C. Scholtner [et al.] // Clinorthop. – 2001. - № 7. – P. 610-617.
114. High-energy shock wave treatment of femoral head necrosis in adults / J. Ludwig, S. Lauber, H.J., Lauber [et al.] // Clin.Orthop.Relat. Res. – 2001. – Vol. 387. – P. 119-126.
115. Hirachi K. Osteogenic potential of the shock wave: Experimental / K. Hirachi // Res. Soc. – 1999. - Vol. 45. – P. 558.
116. Holmes G.B. Treatment of delayed unions and nonunions of the proximal fifth metatarsal with pulsed electromagnetic fields / G.B. Holmes // Foot Ankle. Int. – 1994. – Vol. 15, № 10. – P. 552-556.

117. Howard D. In vitro study of the mechanical effects of shock wave – lithotripsy / D Howard, D. Sturtevant // *Ultrasound Med. Biol.* - 1997. – Vol. 23. – P. 1107-1122.
118. Influence of extracorporeal shock-wave application on normal bone in an animal model in vivo / M. Maier, S. Milz, T. Tischer [et al.] // *J. Bone. Joint. Surg.* – 2002. – Vol. 84. – P. 592-599.
119. Influence of shockwave on fracture healing / G. Haupt, A. Haupt, A. Ekkemkamp [et al.] // *J. Urol.* – 1992. - Vol. 39. – P.529-532.
120. Intraneuronal substance P contributes to the severity of treated arthritis / I.D. Levine, R. Clark, M. Devon [et al.] // *Science.* – 1984. – Vol. 226. – P. 547-549.
121. Ito K. Extracorporeal shock wave therapy as a new and non-invasive angiogenic strategy / K. Ito, H. Fucumoto, Y. Tohoku // *J. Exp. Med.* – 2009. – Vol. 219. – P. 1-9.
122. Johannes E.J. High energy shock waves for treatment of nonunions: an experimental of dogs / E.J. Johannes, S.D. Kaulesar, A.E. Mature // *J. Surg. Res.* – 1994. – Vol. 57. – P. 246-252.
123. Krause H. Physik und technik medizinischer stoßwellensysteme / H. Krause // Rompe J.D. Extracorporealestosswellentherapie / J.D. Rompe. - London: Cnapman and Hall, 1997. – 180 p.
124. Lindy S. Collagenolytic activity in rheumatoid synovial tissue / S. Lindy, J. Halme // *Clin. Chim. Acta.* – 1973. – Vol. 7, № 2. – P. 153-157.
125. Long-term functional outcome and quality of life after successful surgical treatment of tibial nonunions / F.Wichlas, S.Tsitsilonis, A.C. Disch [et al.] // *Int.Orthop.* – 2015. – Vol. 39, № 3. – P. 521-525.

126. Ma H.Z. Upregulation of VEGF in subchondral bone of necrotic femoral heads in rabbits with use of extracorporeal shock waves / H.Z. Ma, B.F. Zeng, X.L. Li // *Calcif. Tissue. Int.* – 2007. – Vol. 81, № 2. – P. 124-31.
127. Macrophage migration induced angiogenesis in ischemic myocardium after direct epicardial shock wave treatment / J. Holfeld, C. Tepekoylu, M. Kofler [et al.] // *Thorac. Cardiovasc. Sur.* – 2012. – Vol. 60. – P. 62-67.
128. Maier M. Molekulare Wirkmechanismen von stosswellen / M.Maier, G, Schmitz, J. Hausdorf // *Extracorporeale stosswellentherapie* / [ed. L. Gebersmiyer]. – Norderstedt: Books on Demand Gmbh, 2004. – P. 42-56.
129. Manual of internal fixation techniques recommended by the AO-ASIF Group / [M.E Muller, M.A. Algower, R. Schneider, H. Willenger]. – [3rd ed. expanded and completely revised]. – Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo: Springer Verlag, 1992. – 750 p.
130. Markel M.D. Noninvasive monitoring techniques for quantitative description of callus mineral content and mechanical properties / M.D. Markel, E.Y. Chao // *Clin.Orthop.Relat. Res.* – 1993. – Vol. 293. – P. 37-45.
131. Ogden J.A. Principles of shock wave therapy / J.A.Ogden, A.Toth-Kischkat, R. Schultheiss // *Clinorthop.* – 2001. – Vol. 387. – P. 8-17.
132. Ohno M. Rapid colorimetric assay for the quantification of leukemia inhibitory factor (LIF) and interleukin-6 (IL-6) / M. Ohno, T.Abe // *J. Immunol. Methods.* – 1991. - № 145. - P. 199-203.
133. Ohtori S. Shock wave application to rat-induced degeneration and reinnervation of sensory nerve fibres / S. Ohtori // *Neuroscience Letters.* – 2001. – Vol. 315. – P. 57-60.

134. Patent Number 7189209 United States, A61B17/2256(20130101). Method for using acoustic shock waves in the treatment of medical conditions / Ogden J.A., Brown R.S., Wheelock A.; Assignee Sanuwave, Inc. Alpharetta G.A.- Family ID: 378333352; Appl. No: 111442, 329; Filled. May 30, 2006.
135. Physical shock wave mediates membrane hyperpolarization and Ras activation for osteogenesis in human bone marrow stromal cells / F.S.Wang, C.J.Wang, H.J.Huang [et al.] // Biochem.Biophys Res. Commun. – 2001. – Vol. 287. – P. 648-655.
136. Physical-technical principles of extracorporeal shockwave therapy (ESWT) / L. Gerdesmeyer, M. Maier, M. Haoke [et al.] // Orthopade. – 2002. - № 31. – P. 610-617.
137. Physical-technical principles of extracorporeal shockwave therapy (ESWT) / L. Gerdesmeyer, M. Maier, M. Haake [et al.] // Orthopade. – 2002. – Vol. 31, №7. – P. 610-617.
138. Predictive role of scintigraphy (BS) in bone union induction using extracorporeal shock wave treatment (ESWT) / M. Czarnowska-Cubała, K. Gwoździwicz, M. Studniarek [et al.] // J. Orthop. – 2013. – Vol. 2. – P. 70-73.
139. Quantification of fracture healing with threedimensional computed tomography / den F.C. Boer, J.A. Bramer, P. Patka [et al.] // Arch. Orthop. Trauma Surg. – 1998. - Vol. 117. – P. 345-350.
140. Radial extracorporeal shock wave therapy (rESWT) induces new bone formation in vivo: results of an animal study in rabbits / H. Collwitzer, T. Gloeck, M. Roessner [et al.]// Ultrasound in Med. Biol. – 2013. – Vol. 39, №1. – P. 126-133.
141. Radiale extrakorporale stoßwellentherapie (ESWT) in der Orthopadie / L. Gerdesmeyer, H. Collwitzer, P. Diehl [et al.] // J. Hiner.Stoffwechs. – 2004. - № 11. – S. 36-39.

142. Ras induction of superoxide activates ERK-dependent angiogenic transcription factor HIF-1alpha and VEGF-A expression in shock wave-stimulated osteoblasts / F.S.Wang, C.J.Wang, Y.J.Chen [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2004. - Vol. 279. – P. 10331-10337.
143. Rompe J.D. Dose-dependent effects of extracorporeal shock wave in fibula-defect in rabbits / J.D. Rompe // *Shock wave application in musculoskeletal disorders* / [ed. Rompe J.D.]. — Thieme. New York, USA, 2012. - № 4. — P. 23-31.
144. Schaden W. Extracorporeal shock wave therapy of nonunion or delayed osseous union / W.Schaden, A.Fischer, A.Sailler // *Clin.Orthop.Relat. Res.* – 2001. - Vol. 387. – P. 90-94.
145. Schleberger R. Non-invasive treatment of long-bone pseudoarthrosis by shock waves (ESWT) / R. Schleberger, T. Senge // *Arch. Orthop. Trauma Surg.* – 1992. - Vol. 111. – P. 224-227.
146. Schmidmacer R. Growth factor and stem cells support healing of bone fractures / R.Schmidmacer // 13th EFORT Congress, 23-25 May 2012 year.
147. Shin C. Neurogenic Substance P stimulates osteogenesis in vitro / C. Shin, C.W.Bernard // *Peptides.* – 1997. – № 18. – P. 3223-3232.
148. Shock wave application pertussis toxin-sensitive bone formation in segmental defect in rats / Y.J. Chen, Y.R. Kuo, K.D. Yang [et al.] // *J. Bone. Miner. Res.* – 2003. – Vol.18, № 21. – P. 2169-2179.
149. Shock wave as biological therapeutic tool: From mechanical stimulation to recovery and healing, through mechanotransduction / M.C. Agostino, K.Craig, E. Tibalt [et. al.] // *Int. J. Surg.* – 2015. – Dec., 24(Pt B). – P.147-153.
150. Shock wave therapy induces neovascularization at the tendon-bone junction. A study in rabbits / C.J.Wang, F.S.Wang, K.D.Yang [et al.] // *J. Orthop. Res.* – 2003. – Vol. 21. – P. 984-989.

151. Shock wave treatment shows dose-dependent enhancement of bone mass and bone strength after fracture of the femur / C.J.Wang, K.D.Yang, F.S.Wang [et al.] // *Bone*. - 2004. – Vol. 34. – P. 225-230.
152. Shock waves in the treatment of stress fractures / B.Moretti, A. Notarnicola, R. Garafalo [et al.] // *Ultrasound. Med. Biol.* - 2009. – Vol. 35, № 6. – P. 1042-1049.
153. Siebert W. Extracorporeal shock waves in orthopedics / W.Siebert, M.Buch // Berlin. Springer verlug. – 1997. – P. 1-245.
154. Stegemann H.J. A simple procedure for the determination of hydroxyproline in urine and bone / H.J. Stegemann // *Biochem. ned.* – 1952. – Vol. 3, № 1. – P. 23-30.
155. Steinberg M.E. A quantative system for staging avascular necrosis / M.E.Steinberg, G.D.Hayken, D.R. Steinberg // *J. Bone. Joint. Surg.* – 1995. – Vol. 77 B. – P. 34-41.
156. Stimulation of bone growth factor synthesis in human osteoblasts and fibroblasts after extracorporeal shock wave application / J. Hausdorf, B. Sievers, M. Schmitt-Sody [et al.] // *Arch. Orthop. Trauma Surg.* – 2011. – Vol.131, № 3. – P. 303-309.
157. Substance P and prostaglandin E2 release after shock wave application to the rabbit femur / M. Maier, B. Averbeck, S. Milz [et al.] // *Clin.Orthop.Relat .Res.* – 2003. – Vol. 406. – P. 237-245.
158. Sukul K. High energy shock waves in the treatment of delayed and nonunion of fractures / K.Sukul, E.Matura // *Int.Orthop.* – 1991. – Vol. 15. – P. 181-184.
159. Sukul K. High-energy shock waves for the treatment of nonunions: an experiment on dogs / K. Sukul, E.Matura // *Sugr. Res.* – 1994. – Aug., Vol. 57(2). – P. 246-232.

160. The antitumor immune response in HER-2 positive, metastatic breast cancer patients / Z.D. Juranic, Z. Neskovic-Konstantinovic, T.P. Stanojkovic [et al.] // J.Transl. Med. – 2005. - № 3. –P. 13.
161. The effect of extracorporeal shock wave treatment (ESWT) on bone defects. An experimental study / M.M. Uslu, O. Bozdogan, S.Güney [et al.] // Bull Hosp.Jt Dis. – 1999. – Vol. 58. – P. 114-118.
162. The effect of high energy shock waves focused on cortical bone: an in vitro study / D.M. Sukul, E.J. Johannes, E.G. Pierik [et al.] // J. Surg Res. – 1993. - Vol. 54. – P. 46-51.
163. The effect of shockwaves on mature and healing of cortical bone / F. Forriol, L. Solchaga, J. Moreno [et al.] // Int. Orthop. - 1994. – Vol. 18. - P. 325-329.
164. The effect of thrombin activation of platelet-rich plasma on demineralised bone matrix osteoinductivity / B.B. Haw, J. Woodel-May, M. Ponticiello [et al.] // J. Bone Joint. Surg. – 2009. – Vol. 91 A, № 6. – P. 1459-1470.
165. The effects of shockwave on bone healing and systemic concentrations of nitric oxide (NO), TGF-beta1, VEGF and BMP-2 in long bone non-unions / C.J.Wang, K.D.Yang, J.Y Ko [et al.] // Nitric Oxide. – 2009. – Jun., Vol. 20(4). – P. 298-303.
166. The primary stability of angle-stable versus conventional locked intramedullary nails / D.Wähnert, Y.Stolarczyk, K.L.Hoffmeier [et al.] // Int.Orthop. – 2012. – Vol. 36. – P. 1059-1064.
167. The role of stem cells in fracture healing and nonunion / H.C. Fayaz, P.V. Giannoudis, M.S. Vrahas [et al.] // Int.Orthop. - 2011. – Vol.35. – P. 1587-1597.

168. Treatment for osteonecrosis of the femoral head: comparison of extracorporeal shock waves with core decompression and bone-grafting / C.J.Wang, F.S.Wang, C.C. Huang [et al.] // J. Bone Joint. Surg. – 2005. – Vol. 87. – P. 2380-2387.
169. Treatment of nonunion with shock waves with special references to carpal scaphoid nonunion / S. Russo, S. Gigliotti, C. Durante [et al.] // Siebert W. Stopwellen-anwendung am Knochen / W. Siebert, M.Burch. - Hamburg, 1997. – P.40-45.
170. Unfocused extracorporeal shock waves induce anabolic effects in osteoporotic rats / O.P. Jagt, T.M. Piscaer, W. Schaden [et al.] // J. Bone Joint. Surg. Am. – 2011. – Vol. 93. – P. 38-48.
171. Use of extracorporeal shock-wave therapy (ESWT) in the treatment of non-union. A review of the literature / K. Bimbaum, D.C. Wirts, C.H. Siebert [et al.] // Arch. Orthop. Trauma Surg. – 2012. – Vol. 122. – P.324-330.
172. Walf J. Das busetz der transformtion der Knochen / J. Walf. – Berlin, 1982. – 123 s.
173. Wang C.J. Biological effects of extracorporeal shockwave in bone healing: a study in rabbits / C.J.Wang, F.S.Wang, K.D.Yang // Arch Orthop. Trauma Surg. – 2008. – Vol. 128. – P. 879-884.
174. Wang C.J. The effects of extracorporeal shockwave on acute high-energy long bone fractures of the lower extremity / C.J.Wang, H.C.Liu, T.H. Fu // Arch Orthop. Trauma. Surg. – 2007. – Vol. 127. – P. 137-142.
175. Wess O. Stoß-und Druckwellen in der Medizin-physicalisch-technische Grundlagen / O.Wess // Orthopadische Praxis. – 2006. –№ 4. – P. 42.
176. Zimmerman G. Trauma: Non-union: Newtrends / G.Zimmerman // 11th EFORT Congress. – Madrid, 2010. – Vol. 10.