

*С.В.Ивашенко, Г.А.Берлов*

## **Физиологическая регенерация костной ткани челюсти кролика после воздействия низкочастотным ультразвуком**

*Белорусский государственный медицинский университет*

В эксперименте изучено восстановление костной ткани после воздействия низкочастотным ультразвуком

Ключевые слова: низкочастотный ультразвук, костная ткань, остеогенез

Ультразвуковая терапия – одна из наиболее распространённых и эффективных физиотерапевтических процедур. В различных областях медицины все более значительное место занимает использование низкочастотного ультразвука с целью консервативного и хирургического воздействия на ткани. Он с успехом используется в самых различных областях медицины: стоматологии, неврологии, ортопедии, дерматологии, терапии и др. В последние годы в лечебную практику стал активно внедряться низкочастотный ультразвук, отличающийся более высокой биологической активностью и простотой применения.

Низкочастотный ультразвук обладает многообразными лечебными свойствами, связанными с его антибактериальным, анальгизирующим, противовоспалительным, противоаллергическим, спазмолитическим, болеутоляющим, гипотензивным, общетонизирующим, рассасывающим и нормализующим действием.

Ультразвуковые волны также оказывают действие на процессы, определяющие проницаемость биологических структур и транспорт веществ через клеточные мембраны. Это дало возможность разработать лекарственный ультрафонофорез и применить его в лечебной практике.

Согласно имеющимся данным, по сравнению с высокочастотным, низкочастотный ультразвук более глубоко проникает в ткани, обладает более выраженным бактерицидным, противоотёчным, разрыхляющими деполимеризующим действием, сильнее изменяет сосудистую и эпителиальную проницаемость, проявляет большую форетическую активность, способен оказывать выраженный противовоспалительный эффект [11]. Наиболее широко и успешно низкочастотный ультразвук используется в гнойной хирургии [1,7], при лечении трофических язв [3], при хронических воспалительных процессах в гинекологии, урологии и пульмонологии [6,9,11], при деструктивном туберкулёзе [10] и других заболеваниях [2]. Всё это указывает на целесообразность и перспективность использования низкочастотного ультразвука в медицинской практике. Оптимальная интенсивность низкочастотного ультразвука составляет 0,6 Вт/см<sup>2</sup> [5].

Tanzer M и соавт. [18] в эксперименте показали, что ультразвук низкой интенсивности усиливает рост костной ткани в пористых внутримедуллярных имплантах, что указывает на возможность его использования с целью усиления биологической фиксации.

Мауг Е и соавт. [16] применяли пульсирующий ультразвук низкой интенсивности для лечения пациентов с ладьевидными переломами. Это ускоряло время заживления примерно на 30%.

Harle J. и соавт. [14] на основании данных экспериментальных исследований установили, что низкочастотный ультразвук обладает потенциально важным эффектом воздействия на функциональную активность соединительнотканых клеток, который может заметно влиять на восстановление тканей и процессы регенерации в естественных условиях.

Korstjens С.М. и др. [15] при исследовании воздействия низкочастотного ультразвука мощностью 30 мВт/см<sup>2</sup> на остеогенез выявили стимулирующий эффект на эндохрящевое окостенение, который, вероятно, объясняется стимуляцией деления костных клеток и выработкой кальцифицированной матрицы.

Другое направление, где использование низкочастотного ультразвука может раскрыть новые возможности физиотерапевтических методов, связано с ультрафонофорезом.

Так, В.М.Мельникова и И.С.Шепелева [8] в эксперименте установили, что при применении низкочастотного ультразвука с частотой  $26,5 \pm 7,5$  кГц. глубина проникновения тетрациклина в бедренную кость для кортикального слоя составляет 300-800 микрон, губчатого вещества-до 5 см.

Л.М.Демнер [13] предложил использовать ультрафонофорез с 10% хлоридом кальция в непрерывном режиме с интенсивностью 0,2 – 0,4 Вт/ см<sup>2</sup> в сочетании с дозированным вакуумом для лечения пародонтоза.

Tezel А. и соавт. [20] доказали увеличение проницаемости кожи, облегчая таким образом, проникновение в нее макромолекул при низкочастотном сонофорезе. Низкие частоты (~ 20 кГц) вызывают ограниченное прохождение по сравнению с рассеяным эффектом, отмечаемом на более высоких частотах (~ 58,9 кГц). Проведенные исследования предоставляют количественное понимание воздействия ультразвука низкой частоты на проницаемость кожи.

Terahara Т., Mitragotri С., Kost J., Langer R. [19] изучили зависимость низкочастотного сонофореза от различных параметров ультразвука, включая расстояние трубки до кожи, интенсивность и частоту. В эксперименте на живом образце кожи свиньи было установлено, что повышение проводимости кожи обратно пропорционально расстоянию излучателя до кожи. По мере увеличения интенсивности происходило повышение проводимости кожи до определенного порога, а затем она понижалась. Интенсивность, при которой происходит максимальное повышение, приблизительно составляет 14 Вт/ см<sup>2</sup> для 20 кГц и 17 Вт/ см<sup>2</sup> для 40 кГц. Эти результаты подтверждают роль кавитаций в низкочастотном сонофорезе.

Sundoram J. с соавт. [17] показали, что применение низкочастотного ультразвука позволяет кратковременно усилить проницаемость клеточных мембран. Этот принцип лежит в основе неразрушающего, нехимического и невирусного метода введения лекарственных веществ в клетку.

В 2004 г. Mitragotri С. и Kost J. [19] установили, что применение ультразвука увеличивает проницаемость кожи для различных молекул. Улучшение

проницаемости, вызванное ультразвуком особенно существенно при низких частотах до 100 кГц.

Ортодонтическое лечение у взрослых затруднено в связи с увеличением плотности компактной пластинки и губчатого вещества костной ткани, снижением ее пластичности, ослаблением обменных процессов. Разработано много различных методов инвазивного и неинвазивного воздействия на костную ткань с целью оптимизации ортодонтического лечения. Ни у кого не вызывает сомнения, что хорошего результата ортодонтического лечения у взрослых можно добиться только при комплексном подходе [4]. Одним из путей решения данной проблемы является применение низкочастотного ультразвука. Он оказывает комплексное биологическое воздействие: микромассаж клеточных структур, тепловой эффект, химические воздействия. Озвучивание низкочастотным ультразвуком повышает проницаемость клеточных мембран, улучшает форез лекарственных веществ [12,13]. Применение низкочастотного ультразвука приводит к реструктуризации костной ткани.

Целью проведенного экспериментального исследования явилась оценка физиологической регенерации костной ткани альвеолярного отростка у кроликов, подвергшихся озвучиванию низкочастотным ультразвуком.

Материал и методы

Эксперимент проведен на 40 кроликах породы шиншилла одинакового веса и возраста. Кроликов разделили на пятнадцать групп. Десять опытных по 3 особи и пять контрольных по 2 особи в каждой. В первой, третьей, пятой и девятой опытных группах проводили озвучивание костной ткани и слизистой альвеолярного отростка нижней челюсти в области центральных резцов ультразвуком частотой 22 кГц до десяти минут по 10 процедур. Во второй, четвертой, шестой, восьмой и десятой опытных группах проводили озвучивание костной ткани и слизистой в этой же области ультразвуком частотой 44 кГц до десяти минут, также по 10 процедур. Животных опытных групп выводили из эксперимента на следующие сутки после окончания процедур, через тридцать, шестьдесят, девяносто и сто двадцать суток, одновременно снимали пару животных из контрольной группы.

Животные находились на стандартном рационе вивария.

Для гистологического исследования брали фрагмент нижней челюсти с наружной и внутренней компактной пластинками и губчатым веществом, фиксировали в 10%-ном растворе формалина, затем декальцинировали в 7%-ном растворе азотной кислоты, заливали в целлоидин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а также по методу Ван-Гизона.

Результаты и обсуждение

Опыт № 1 – 10 процедур ультразвук (УЗ) 22кГц. Сильно разрефигированная кость с многочисленными, крупными неправильной формы межбалочными пространствами, содержащими гиперемированный жировой костный мозг. Межуточное вещество бледно окрашивается эозином, со слабо заметной исчерченностью, местами с почти полным отсутствием линий склеивания, с полнокровными кровеносными сосудами в питательных каналах (рис. 1).

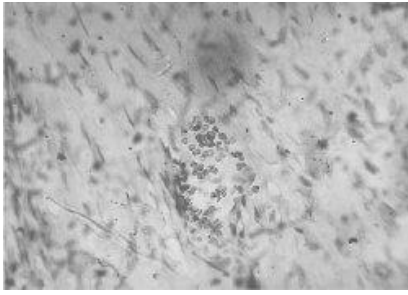


Рис. 1. Гиперемированные кровеносные сосуды в компактном веществе с заметной исчерченностью и бледной окраской. Опыт № 2-10 процедур частотой 22 кГц. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200.

Сравнительно редкие остециты с набухшей, едва окрашивающейся цитоплазмой. Сохранилась умеренно выраженная очаговая мозаичность костного вещества.

Опыт № 2 – 10 процедур, УЗ 44кГц. Структура костной ткани мало отличается от таковой в предыдущем опыте. Некоторыми особенностями здесь являются несколько сильнее выраженная очаговая фибриллярность межучасточного вещества и большее набухание, отёк части остеоцитов.

Опыт № 3 – 30 суток после УЗ 22 кГц. Появление линий склеивания, базофилии стенок питательных каналов, нескольких слоёв костного вещества в них. В компактном веществе ещё сохранились расширенные питательные каналы, отдельные полости.

Опыт № 4 – 30 суток после УЗ 44 кГц. Состояние костной ткани сходно с таковым в опыте № 2, отличием здесь является чёткое отложение молодой костной ткани со стороны базального слоя надкостницы, отделённой от старой костной ткани несколько утолщённой базофильной линией склеивания. Другое отличие-формирование костной ткани на внутренней поверхности стенок питательных каналов и более крупных полостей с уменьшением их объёма и изменением формы – из округлых в продолговатые, параллельные поверхности компактного вещества. Некоторое усиление оксифилии и гомогенизации межучасточного вещества.

Опыт № 5 – 60 суток после УЗ 22 кГц. Здесь отличием от опыта № 3 можно отметить более равномерное усиление компактизации коркового вещества из-за уменьшения в нём питательных каналов, но редко встречаются небольшие полости, содержащие жировой костный мозг. В целом – эта разница незначительна.

Опыт № 6 – 60 суток после УЗ 44 кГц. Различия в структуре костной ткани в сравнении с опытом № 4 едва ли могут быть выявлены. В данном эксперименте встречаются редкие участки довольно выраженной перестройки костной ткани с многочисленными, как бы беспорядочно проходящими базофильными линиями склеивания, с заметно базофильным межучасточным веществом. Местами сохранились неправильной формы отдельные полости с жировым костным мозгом.

Опыт № 7 – 90 суток после УЗ 22 кГц. Изменения костной ткани здесь приближаются к таковым в опыте № 6, отличаясь от неё более распространённой мозаичностью (перестройкой) костной ткани; сильнее

выраженной компактизацией вследствие интенсивно идущего образования молодого костного вещества, формирующего несколько слоёв в стенках межбалочных пространств и питательных каналов.

Опыт № 8 – 90 суток после УЗ 44 кГц. Те же изменения, которые отмечены в опыте № 7. В данном же опыте обращают внимание крупные участки гомогенизации с эозинофилией межучточного вещества компактного слоя, утолщение и большая базофилия линий склеивания, ещё сильнее подчёркивающие перестроечные процессы в костной ткани (рис. 2).

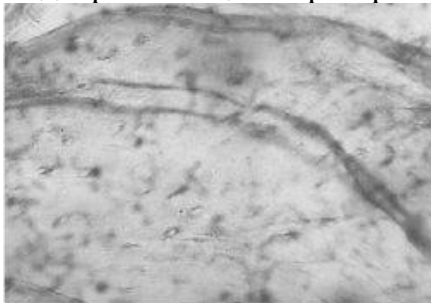


Рис. 2. Гомогенизация, эозинофилия, утолщение, базофилия линий склеивания. Опыт № 16-90 суток после воздействия частотой 44 кГц. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200.

Опыт без №9 – 120 суток после УЗ 22 кГц. Структура костной ткани фактически не отличается от нормы: многочисленные крупные остеоциты, умеренно оксифильное, почти гомогенное межучточное вещество, жировой костный мозг, местами несколько гиперемированный, в межбалочных пространствах, участки заметной перестройки (мозаичности) с наличием довольно чётких базофильных линий склеивания.

Опыт № 10 – 120 суток после УЗ 44 кГц. Гистологическая картина сходна с таковой в предыдущем эксперименте, отличаясь от него несколько большей компактизацией коркового (компактного) вещества. В нём определяются довольно многочисленные, часто идущие параллельно поверхности кости линии склеивания, участки молодой костной ткани среди более старой, реже встречаются или отсутствуют питательные каналы (рис.3).

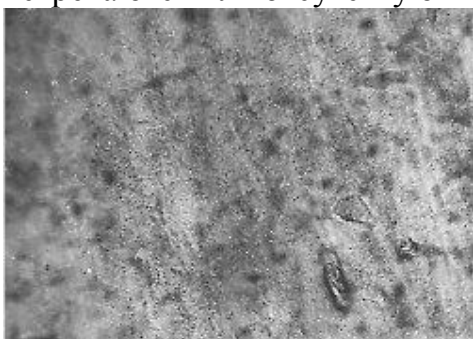


Рис. 3. Усиление компактизации коркового вещества: участки более молодой костной ткани, отсутствие питательных каналов. Опыт № 44-120 суток после воздействия частотой 44 кГц. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200.

Т.О. наблюдалась определённая динамика восстановления костной ткани нижней челюсти кролика в различные сроки после воздействия низкочастотным ультразвуком. Можно было ожидать значительное различие

в этом процессе от воздействия частотой 22 кГц и 44 кГц, однако чётких отличий обнаружено не было. Вопреки предположению, после воздействия ультразвука частотой 44 кГц изменения не только не отставали в своей интенсивности в сравнении с таковыми при воздействии частотой 22 кГц, но и превосходили их в некоторых отношениях.

Наиболее чётко восстановление костной ткани можно отметить на 30 сутки после воздействия ультразвука частотой 22 кГц (опыт № 3): здесь появлялись новые линии склеивания, базофилия стенок питательных каналов, формирование молодой костной ткани в компактном веществе. В этот же срок такие же изменения в виде репарации (регенерации) костной ткани были и в опыте № 4 – на 30 сутки после воздействия ультразвуком частотой 44 кГц, особенно было выражено новообразование костной ткани со стороны базального слоя надкостницы. Изменялись также объём и форма межтрабекулярных полостей, усиливалась гомогенизация и оксифилия межучного вещества.

Исследования позволили установить, что восстановление костной ткани чётко проявляется на 30 сутки после воздействия как частотой 22 кГц, так и частотой 44 кГц. В дальнейшем существенных различий в характере изменений между этими двумя частотами не отмечено.

Усиленное образование молодой костной ткани даже в сроки 120 суток после воздействия частотой 44 кГц наряду с остальными данными даёт основание считать, что воздействие низкочастотным ультразвуком в применённых дозах не угнетает способность костной ткани к восстановлению (рекальцинации), перестройке и выполнению своей функции в постэкспериментальном периоде.

#### Выводы

1. Восстановление костной ткани чётко проявляется на 30 сутки после воздействия низкочастотным ультразвуком.
2. Не отмечено существенных различий в сроках регенерации костной ткани после воздействия ультразвуком как частотой 22 кГц, так и 44 кГц.
3. Воздействие низкочастотным ультразвуком в применённых дозах не угнетает способность костной ткани к восстановлению.

#### Литература

1. Дубров, Э.Я., Яшина, Т.Н. // Ортопедия и травматология.-1978.-№11.-С.80-82
2. Ерохина, Г.А. // Рос. мед. журнал.-1996.-№4.-С.45-48
3. Иванов, В.В. // Хирургия.-1986.-№5.-С.121-125
4. Ивашенко, С.В, Улащик, В.С., Берлов, Г.А. Экспериментальное обоснование применения фонофореза глюконата кальция с витамином Д в ретенционном периоде ортодонтического лечения Современная стоматология 2005, №1.-С.64-66
5. Котляров, В.С. Экспериментально-морфологическое исследование сравнительного действия ультразвуков разной частоты на уровне

гистофизиологической микросистемы: Автореф. дис. на соиск. учён. степ. д-ра мед. наук. Киев, 1990.-36с.

6. Летучих, А.А., Лоцилов, В.И., Мозговой, В.И. и др. // Акушерство и гинекология.-1982.-№4.-С.41-43

7. Либерзон, Р.Д. Обработка ран низкочастотным ультразвуком в профилактике и лечении гнойных осложнений у травматологических больных: Автореф. дис. к.м.н.-М.,1992

8. Мельникова, В.М. Влияние низкочастотного ультразвука на проницаемость антибиотиков в костную ткань /В.М. Мельникова, И.С. Шепелева, В.В. Кузьменко, Э.Б. Базанов, А.И. Голдштейн, Ю.А. Топоров, Ю.Ф. Каменев, А.И. Горелов//Взаимодействие ультразвука с окружающей средой: Тез. докл.; Пушино, 1979.-С.43-45.

9. Плаксин, И.Т., Багарнаков, Е.С., Лысов, А.В. и др. // Хирургия.-1979.-№11.-С.19-23

10. Самосюк, И.З., Мясников, В.Г., Клименко, И.В. // Вопр. Курортологии, физиотерапии и леч. физкультуры.-1999.-№2.-С. 9-11

11. Степаненко, В.И. // Вестник дерматол.-1990.-№9.-С.51-54

12. Улащик, В.С // Вопр. Курортологии, физиотерапии и леч. физкультуры.-2000.-№6.-С. 3-8

13. Ультрафонофорез раствором хлорида кальция в ортодонтии: Метод. рекомендации/Сост.: Л.М. Демнер, Т.И. Коваленко.-Казань, 1988.

14. Harle, J; Salih, V; Mayia, F; Knowles, JC; Olsen, I Ultrasound Med Biol 2001 Apr;27(4): p579-86

15. Korstjens, CM; Nolte, PA; Burger, EH; Albers, GH; Semeins, CM; Aartman, H; Goei, SW; Klein-Nulend, J Orthop Res 2004 May;22(3): p495-500

16. Mayr, E; Rudzki, MM; Rudzki, M; Borchardt, B; Hausser, H; Ruter, A-Handchir Mikrochir Plast Chir 2000 Mar;32(2): p115-22

17. Sundaram, J; Mellein, BR; Mitragotri, S Biophys J 2003 May;84(5): p3087-101

18. Tanzer M; Kantor, S; Boby, JD J Orthop Res 2001 Mar;19(2): p195-9

19. Terahara, T; Mitragotri, S; Kost, J; Langer, R-Int J Pharm 2002 Mar 20;235(1-2): p35-42

20. Tezel, A; Sens, A; Tuchscherer, J; Mitragotri, S Pharm Res 2001 Dec;18(12): p1694-700.