

Ивашенко С. В., Остапович А. А., Чекан В. А.

**СОДЕРЖАНИЕ ОСНОВНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ И ПРОЧНОСТНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ
КОСТНОЙ ТКАНИ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ МОДУЛИРОВАННЫМ
НИЗКОЧАСТОТНЫМ УЛЬТРАЗВУКОМ**

Белорусский государственный медицинский университет, Минск

Институт порошковой металлургии, Беларусь, Минск

Ivashenko S. V., Ostapovich A. A., Chekan V. A.

Belarusian State Medical University, Minsk

Institute of Powder Metallurgy, Belarus, Minsk

**Content of basic elements and bone strength, after exposure of modulated low frequency
ultrasound**

Резюме. Изучено содержание кальция и фосфора в костной ткани нижней челюсти кроликов и её прочностные показатели после воздействия модулированным ультразвуком частотой 22, 44, 60 кГц.

Ключевые слова: модулированный низкочастотный ультразвук, костная ткань, кальций, фосфор, сканирующая электронная микроскопия.

Summary. Were studied content of calcium and phosphorus in bone tissue and bone strength of lower jaw of rabbits after exposure of modulated low-frequency ultrasound of 22, 44 and 60 kHz.

Key words: modulated low frequency ultrasound, bone tissue, calcium, phosphorus, scanning electron microscopy.

Лечение пациентов с зубочелюстными аномалиями и деформациями в сформированном прикусе является одним из важных вопросов современной стоматологии. Распространённость зубочелюстных аномалий в Республике Беларусь по данным различных авторов достаточно высока.

Кроме аномалий, обусловленных нарушениями развития тканей и органов зубочелюстной системы, наблюдаются вторичные деформации зубных рядов в результате кариозного разрушения отдельных зубов, заболеваний периодонта, травм, онкологических заболеваний, ошибок допущенных при протезировании.

Большинство зубочелюстных аномалий и деформаций подлежат комплексному лечению, которое у взрослых затруднено из-за высокой плотности костной ткани и низкой её пластичности. Для ослабления костной ткани и сокращения активного периода ортодонтического лечения применяют инвазивные и неинвазивные методы: остеотомию, коактостеотомию, декортикацию, удаление зубов, дозированный вакуум, вибрационное воздействие, ультразвук высокой частоты, индуктотермию, лазеры, переменное магнитное поле, лекарственные вещества [1,4,7,8,9,10]. В последнее время для сокращения активного периода ортодонтического лечения воздействуют на костную ткань альвеолярного отростка низкочастотным ультразвуком, который может быть непрерывным, импульсным и модулированным [2,3,6].

В доступной литературе нет информации о влиянии модулированного ультразвука низкой частоты на прочностные показатели и минерализацию костной ткани.

Поэтому, **целью** нашего исследования явилась оценка содержания кальция и фосфора в костной ткани нижней челюсти кроликов, подвергшихся воздействию модулированным ультразвуком частотой 22, 44 и 60 кГц.

Материал и методы исследования

Эксперимент проведен на 23 кроликах породы шиншилла, самцах одинакового веса и возраста, 18 опытных и 5 контрольных. Опытных животных разделили на 3 группы. В первой, второй и третьей группах проводили озвучивание костной ткани и слизистой альвеолярного отростка нижней челюсти в области центральных резцов модулированным ультразвуком частотой 22, 44 и 60 кГц по 5, 10 и 15 процедур соответственно. Процедура длилась 10 минут. За это время интенсивность воздействия ультразвука фиксированной частоты увеличивалась каждые 5 секунд на $0,2 \text{ Вт/см}^2$ – от $0,2 \text{ Вт/см}^2$ до $0,8 \text{ Вт/см}^2$, после чего цикл смены интенсивности повторялся. Для проведения эксперимента использовали разработанный нами отечественный аппарат низкочастотной ультразвуковой терапии “АНУЗТ-1-100” ТУЛЬПАН с плоской излучающей головкой диаметром 1 см.

Животные находились на стандартном рационе вивария. После окончания эксперимента животных выводили из опыта под наркозом. Брали озвученный участок нижней челюсти в области резцов с наружной и внутренней компактной пластинкой и губчатым веществом и фиксировали в 10%-ном растворе формалина. После этого, отделяли фрагмент компактной пластинки и губчатого вещества размером 5x8 мм для исследования химического состава и физических свойств.

Определение элементного состава проводилось в Испытательном Центре ГНУ "Институт порошковой металлургии" на сканирующем электронном микроскопе «CamScan 4»

с энергодисперсионным микрорентгеноспектральным анализатором «INCA 350» фирмы «Oxford Instruments» (Англия). Минимальный предел обнаружения элемента – 0.5%. Точный количественный анализ при содержании элемента от 1%. Разрешающая способность данного СЭМ по паспорту – 40 А. Глубина проникновения электронного пучка в образец 1 мкм, область возбуждения 0.5 мкм. Погрешность метода 3 – 5 относительных процентов. Изучали 5 произвольно выбранных участков компактной и губчатой костной ткани как представлено на рисунках 1, 2, 3 и 4.

Испытание образцов костной ткани на сжатие проводили по ГОСТ 4651-82 на машине Instron-1195. Высоту, ширину и толщину образца костной ткани измеряли с погрешностью не более 0,01 мм не менее чем в трёх местах. Для удобства образцу придавали форму параллелограмма с размером грани 5 на 8 мм. Скорость испытания указывали в нормативно-технической документации. Испытания проводили в условиях кондиционирования по ГОСТ 12423-66 при температуре $(23\pm 2)^\circ\text{C}$ и относительной влажности $(50\pm 5)\%$. Устанавливали образец между опорными площадками так, чтобы вертикальная ось образца совпадала с направлением действия нагрузки. Регулировали машину до осуществления соприкосновения образца с площадками. Устанавливали выбранную скорость сближения опорных площадок. Машину приводили в действие и записывали значения определяемых показателей или кривую «нагрузка-деформация» при сжатии.

Результаты исследования обработаны с помощью специальных прикладных программ Statistica 6.0 и Microsoft Excel с вычислением средней арифметической (m), медианы, верхнего и нижнего квартилей, критериев достоверности Манна-Уитни (U), вероятности достоверности сравниваемых величин (p). Различия рассматривались как достоверные при $p < 0,05$ [5].

Результаты и обсуждение

Как видно из данных, представленных в таблице 1, после 5 процедур воздействия модулированным ультразвуком частотой 22 кГц содержание кальция в компактной пластинке озвученного участка костной ткани достоверно снижается, по сравнению с контролем в 1,19 раз и составляет 17,06 весовых %. В дальнейшем эта разница увеличивается с увеличением количества процедур. Так, после 10 процедур озвучивания среднее содержание кальция статистически достоверно уменьшилось до 15,38 весовых %, что в 1,32 раза ниже контрольного значения, а после 15 физиопроцедур составило 12,3 весовых %, что также статистически достоверно ниже контрольного значения в 1,65 раза. Концентрация кальция в компактной пластинке контрольной группы составила 20,30 весовых %.

Аналогично статистически достоверно уменьшается содержание фосфора в компактной пластинке при воздействии модулированным ультразвуком частотой 22 кГц. Так, этот показатель изменился от 11,45 весовых % в контрольной группе до 9,06 весовых % после 5

процедур озвучивания, что отличается в 1,26 раза. После 10 процедур озвучивания концентрация фосфора составила 7,89 весовых %, что статистически достоверно меньше контроля в 1,45 раза. После 15 физиопроцедур содержание фосфора в компактной пластинке достоверно уменьшилось по сравнению с контрольным значением в 1,62 раза и составило 7,07 весовых %.

Так же уменьшается содержание кальция и фосфора в губчатом веществе костной ткани. Так, концентрация кальция в губчатом веществе контрольной группы составила 15,10 весовых %, а после 5 процедур озвучивания статистически достоверно уменьшалась до 12,18 весовых %, что в 1,24 раза ниже контрольного значения. После 10 физиопроцедур концентрация кальция статистически достоверно снизилась до 10,43 весовых %, что в 1,46 раза меньше, чем в контроле. После 15 процедур озвучивания содержание кальция в губчатом веществе отличалось от контрольного значения в 1,64 раза и составило 9,2 весовых %.

Одновременно отмечается снижение уровня фосфора в губчатом веществе. Контрольное значение составило 10,63 весовых %. После 5 процедур озвучивания концентрация фосфора статистически достоверно уменьшилась в 1,25 раза по сравнению с контролем и составила 8,5 весовых %. После 10 процедур озвучивания этот показатель статистически достоверно уменьшился до 7,65 весовых %, что в 1,39 раза ниже контрольного значения. После 15 физиопроцедур содержание фосфора в губчатом веществе продолжило снижаться и составило 6,73 весовых %, что в 1,58 раза меньше, чем в контроле.

Таблица 1 – Содержание (в весовых %) кальция и фосфора в образцах костной ткани при озвучивании модулированным ультразвуком частотой 22 кГц.

Группа	Статистические показатели	Компактная пластинка		Губчатое вещество	
		Са	Р	Са	Р
5 процедур	Медиана	17,07*	9,01*	12,29*	8,52*
	Квартили	(16,95 ; 17,19)	(9,01 ; 9,2)	(12,02 ; 12,37)	(8,36 ; 8,67)
	Среднее	17,06	9,06	12,18	8,50
10 процедур	Медиана	15,39*	7,88*	10,37*	7,69*
	Квартили	(15,36 ; 15,44)	(7,85 ; 7,96)	(10,21 ; 10,48)	(7,64 ; 7,74)
	Среднее	15,38	7,89	10,34	7,65
15 процедур	Медиана	12,37*	7,05*	9,29*	6,72*
	Квартили	(12,08 ; 12,49)	(6,98 ; 7,21)	(9,02 ; 9,38)	(6,59 ; 6,84)
	Среднее	12,30	7,07	9,2	6,73
Контроль	Медиана	20,37	11,25	15,35	10,35
	Квартили	(19,67 ; 20,81)	(11,21 ; 11,93)	(14,69 ; 15,38)	(10,17 ; 11,14)
	Среднее	20,30	11,45	15,10	10,63

*Примечание: *-статистически достоверные различия ($p < 0,05$) при сравнении с группой «контроль».*

Данные элементного состава образцов костной ткани животных после воздействия модулированным ультразвуком частотой 44 кГц представлены в таблице 2. После 5 процедур озвучивания содержание кальция в компактной пластинке уменьшилось в 1,26 раза по сравнению с контрольной группой и составило 16,11 весовых %. После 10 процедур этот показатель уменьшился до 13,18 весовых %, что в 1,54 раза меньше контрольного значения. После 15 процедур озвучивания концентрация кальция продолжила снижаться и составила 11,6 весовых %, что в 1,75 раза отличается от контроля.

Так же в компактной пластинке статистически достоверно уменьшалась концентрация фосфора до 8,74 весовых % после 5 процедур озвучивания, что в 1,31 раза меньше контрольного значения. После 10 процедур озвучивания этот показатель статистически достоверно снизился до 6,98 весовых %, что в 1,64 раза меньше, чем в контроле. После 15 процедур озвучивания содержание фосфора продолжило снижаться до 6,47 весовых %, что в 1,77 раза меньше контрольного значения.

Таблица 2 – Содержание (в весовых %) кальция и фосфора в образцах костной ткани при озвучивании модулированным ультразвуком частотой 44 кГц.

Группа	Статистические показатели	Компактная пластинка		Губчатое вещество	
		Са	Р	Са	Р
5 процедур	Медиана	16,08*	8,76*	11,61*	7,98*
	Квартили	(16,01 ; 16,21)	(8,71 ; 8,79)	(11,51 ; 11,93)	(7,7 ; 8,27)
	Среднее	16,11	8,74	11,7	7,99
10 процедур	Медиана	13,19*	6,88*	9,59*	6,91*
	Квартили	(13,18 ; 13,28)	(6,79 ; 7,22)	(9,44 ; 9,68)	(6,72 ; 6,94)
	Среднее	13,18	6,98	9,56	6,86
15 процедур	Медиана	11,6*	6,49*	8,93*	6,04*
	Квартили	(11,54 ; 11,66)	(6,39 ; 6,56)	(8,75 ; 8,99)	(6,01 ; 6,27)
	Среднее	11,6	6,47	8,93	6,11
Контроль	Медиана	20,37	11,25	15,35	10,35
	Квартили	(19,67 ; 20,81)	(11,21 ; 11,93)	(14,69 ; 15,38)	(10,17 ; 11,14)
	Среднее	20,30	11,45	15,10	10,63

*Примечание: *-статистически достоверные различия ($p < 0,05$) при сравнении с группой «контроль».*

Аналогично статистически достоверно снижается содержание кальция в губчатом веществе. Так после 5 процедур озвучивания этот показатель составил 11,7 весовых %, что в 1,29 раза меньше контрольного значения. После 10 процедур озвучивания содержание кальция статистически достоверно уменьшилось в 1,58 раза и составило 9,56 весовых %. После 15 процедур озвучивания содержание кальция в губчатом веществе продолжило снижаться и составило 8,93 весовых %, что в 1,69 раза меньше, чем в контрольной группе.

Так же в губчатом веществе при озвучивании модулированным ультразвуком частотой 44 кГц статистически достоверно снижалось содержание фосфора. Так, после 5 процедур этот показатель составил 7,99 весовых %, что в 1,33 раза меньше контрольного значения. После 10 процедур этот показатель статистически достоверно отличался от контроля в 1,55 раза и составил 6,86 весовых %. После 15 процедур концентрация фосфора незначительно, но статистически достоверно снизилась до 6,11 весовых %, что в 1,74 раза ниже контрольного значения.

В таблице 3 представлены данные содержания кальция и фосфора в костной ткани после воздействия импульсным ультразвуком частотой 60 кГц.

Таблица 3 – Содержание (в весовых %) кальция и фосфора в образцах костной ткани при озвучивании модулированным ультразвуком частотой 60 кГц.

Группа	Статистические показатели	Компактная пластинка		Губчатое вещество	
		Са	Р	Са	Р
5 процедур	Медиана	14,89*	8,21*	10,79*	7,52*
	Квартили	(14,83 ; 14,91)	(8,01 ; 8,24)	(10,48 ; 10,90)	(7,39 ; 7,54)
	Среднее	14,82	8,12	10,7	7,49
10 процедур	Медиана	12,32*	6,82*	9*	6,57*
	Квартили	(12,11 ; 12,49)	(6,75 ; 6,87)	(8,92 ; 9,21)	(6,32 ; 6,57)
	Среднее	12,32	6,78	9,04	6,48
15 процедур	Медиана	11,2*	6,64*	8,42*	5,78*
	Квартили	(11,06 ; 11,34)	(6,28 ; 6,64)	(8,35 ; 8,47)	(5,72 ; 6,23)
	Среднее	11,22	6,49	8,39	5,94
Контроль	Медиана	20,37	11,25	15,35	10,35
	Квартили	(19,67 ; 20,81)	(11,21 ; 11,93)	(14,69 ; 15,38)	(10,17 ; 11,14)
	Среднее	20,30	11,45	15,10	10,63

*Примечание: * - статистически достоверные различия ($p < 0,05$) при сравнении с группой «контроль».*

Как видно из представленных в таблице данных, концентрация кальция в компактной пластинке после 5 процедур озвучивания составила 14,82 весовых %, что в 1,37 раза ниже контрольного значения. В дальнейшем эта разница увеличивается с увеличением количества процедур. Так, после 10 процедур озвучивания среднее содержание кальция в компактной пластинке статистически достоверно уменьшилось до 12,32 весовых %, что в 1,65 раза ниже контрольного значения, а после 15 физиопроцедур концентрация кальция статистически достоверно снизилась до 11,22 весовых %, что ниже контрольного значения в 1,81 раза.

Аналогично статистически достоверно снижается содержание фосфора в компактной пластинке. Так, после 5 процедур озвучивания этот показатель составил 8,12 весовых %, что в 1,41 раза меньше контрольного значения. После 10 процедур этот показатель меньше контрольного значения в 1,69 раза и составил 6,78 весовых %. После 15 процедур концентрация

фосфора статистически достоверно продолжала снижаться до 6,49 весовых %, что в 1,76 раза ниже контрольного значения.

Одновременно отмечается снижение уровня фосфора в губчатом веществе. После 5 процедур озвучивания концентрация фосфора статистически достоверно уменьшилась в 1,42 раза по сравнению с контролем и составила 7,49 весовых %. После 10 процедур озвучивания этот показатель статистически достоверно уменьшился до 6,48 весовых %, что в 1,64 раза ниже контрольного значения. После 15 физиопроцедур снижение содержания фосфора в губчатом веществе продолжилось и составило 5,94 весовых %, что в 1,79 раза меньше, чем в контроле.

Аналогично, в губчатом веществе костной ткани уменьшается содержание кальция при воздействии модулированным ультразвуком частотой 60 кГц. Так, после 5 процедур озвучивания этот показатель статистически достоверно уменьшился до 10,7 весовых %, что в 1,41 раза ниже контрольного значения. После 10 физиопроцедур концентрация кальция статистически достоверно снизилась до 9,04 весовых %, что в 1,67 раза меньше, чем в контроле. После 15 процедур озвучивания содержание кальция в губчатом веществе отличалось от контрольного значения в 1,8 раза и составило 8,39 весовых %.

Данные исследования образцов костной ткани челюстей кроликов на сжатие приведены в таблице 4.

Таблица 4. Показатели максимальной нагрузки и напряжения контрольных и опытных образцов костной ткани челюсти кролика после 10 процедур

Образцы костной ткани	Статистические показатели	Fmax, Н	σ_{cp} , МПа
Контроль	Медиана	291,63	9,24
	Квартили	(284,41 ; 293,21)	(9,05 ; 9,31)
	Среднее	289,75	9,20
Опыт 22кГц	Медиана	194,72*	5,21*
	Квартили	(189,14 ; 202,36)	(5,05 ; 5,71)
	Среднее	197,63	5,44
Опыт 44кГц	Медиана	171,25*	4,81*
	Квартили	(169,19 ; 178,27)	(4,65 ; 5,11)
	Среднее	173,35	4,92
Опыт 60кГц	Медиана	161,32*	4,01*
	Квартили	(154,43 ; 166,64)	(3,95 ; 4,52)
	Среднее	159,2	4,31

Примечание: Fmax – максимальная нагрузка, предшествующая разрушению

σ_{cp} – напряжение, соответствующее наибольшей нагрузке, предшествующей разрушению.

** - статистически достоверные различия ($p < 0,05$) при сравнении с группой «контроль».*

Как видно из представленных данных, максимальная нагрузка, предшествующая разрушению, у всех образцов различна. Так по сравнению с контролем максимальная нагрузка,

предшествующая разрушению костной ткани челюсти кроликов, подвергшихся воздействию модулированным ультразвуком частотой 22 кГц меньше в 1,47 раза, у кроликов подвергшихся воздействию модулированным ультразвуком частотой 44 кГц – в 1,67 раза, а у кроликов, подвергшихся воздействию модулированным ультразвуком частотой 60 кГц – в 1,82 раза.

Напряжение, соответствующее наибольшей нагрузке, у всех образцов так же различно.

По сравнению с контролем напряжение, соответствующее наибольшей нагрузке костной ткани у кроликов, подвергшихся воздействию модулированным ультразвуком частотой 22 кГц, меньше в 1,69 раза, у кроликов, подвергшихся воздействию модулированным ультразвуком частотой 44 кГц – в 1,87 раза, а у кроликов, подвергшихся воздействию модулированным ультразвуком частотой 60 кГц – в 2,1 раза

Оценивая значения основных элементов, содержащихся в костной ткани челюсти кролика и прочностные показатели костной ткани после воздействия модулированным ультразвуком частотой 22, 44 и 60 кГц, можно сделать выводы, что:

1. Применение модулированного ультразвука низкой частоты вызывает локальную деминерализацию и снижение прочностных показателей костной ткани.
2. Интенсивность изменений в костной ткани зависит от частоты озвучивания и количества процедур. Она является максимальной при частоте озвучивания 60 кГц в количестве 15 процедур.

Литература:

1. Гунько Т.И. Комплексное лечение пациентов с аномалиями зубных рядов с применением лекарственного магнитофореза (экспериментально-клиническое исследование) : Автореф. дис. канд. мед. наук. – Минск, 2011. – 23с.
2. Ивашенко С.В. Лечение зубочелюстных аномалий и деформаций в сформированном прикусе с применением физических и физико-фармакологических методов (экспериментально-клиническое исследование) : Автореф. дис. док. мед. наук. – Минск, 2011. – 42с.
3. Ивашенко С.В. Физические свойства и элементный состав костной ткани после воздействия импульсным низкочастотным ультразвуком в эксперименте / С. В. Ивашенко, А.А. Остапович, В. А. Чекан // Современная стоматология. – 2012. – №1. – С.70–73.
4. Наумович С.А. Повышение эффективности комплексного (ортопедо- хирургического) лечения аномалий и деформаций зубочелюстной системы в сформированном прикусе: Автореф. дис. д-ра мед. наук: 14.00.21/ Бел.гос.мед.ун-т. – Минск, 2001. – 42с.
5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA: учеб. пособие / О.Ю. Реброва– Москва :Медиа Сфера, 2002. – 306с.

6. Улащик, В.С. Ультразвуковая терапия / В.С. Улащик, А.А. Чиркин. – Минск : Беларусь, 1983. – 255 с.
7. Diagnostic ultrasound treatment increases the bone fracture-healing rate in an internally fixed rat femoral osteotomy model / N. Heybeli [et al.] // *Ultrasound Med.* – 2002. – Vol. 21, № 12. – P. 1357-1363.
8. Low-intensity pulsed ultrasound accelerates fracture healing by stimulation of recruitment of both local and circulating osteogenic progenitors / Kumagai K [et al.] // *Orthop Res.* – 2012. – Vol. 13, №2. – P. 36-49.
9. The effect of low intensity pulsed ultrasound in a 3D vivo orthodontic model / T. El-Bialy, B. Lam // *Dental j.* – 2011. – №10. – P. 3-9.
10. Ultrasound enhances the healing of orthodontically induced root resorption in rats / Z. Liu, J. Xu, D. Wang // *Angle Orthod.* – 2012. – №1. – P. 48-55.

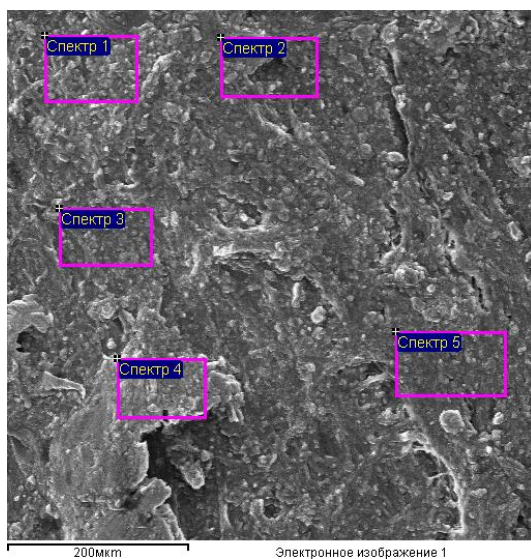


Рисунок 1 – Электронное изображение компактной пластинки костной ткани. Контроль

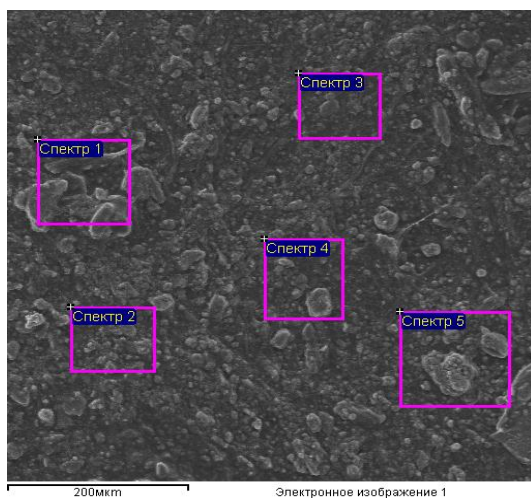


Рисунок 2. – Электронное изображение губчатого вещества костной ткани. Контроль

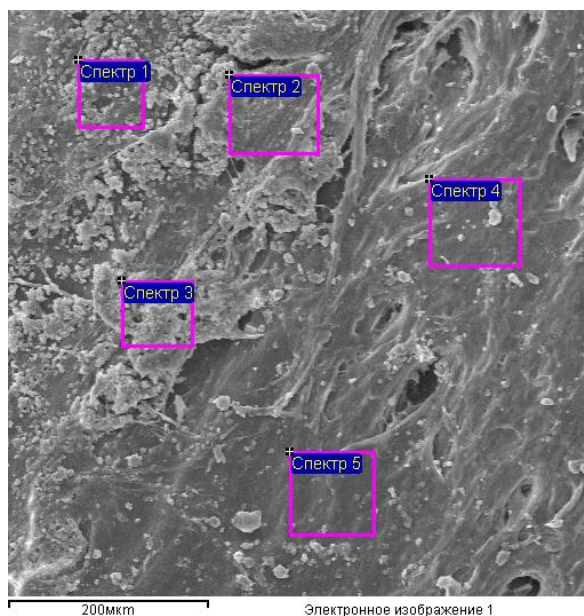


Рисунок 3. – Электронное изображение компактной пластинки костной ткани. Опыт, модулированный НУЗТ, 44 кГц, 10 процедур

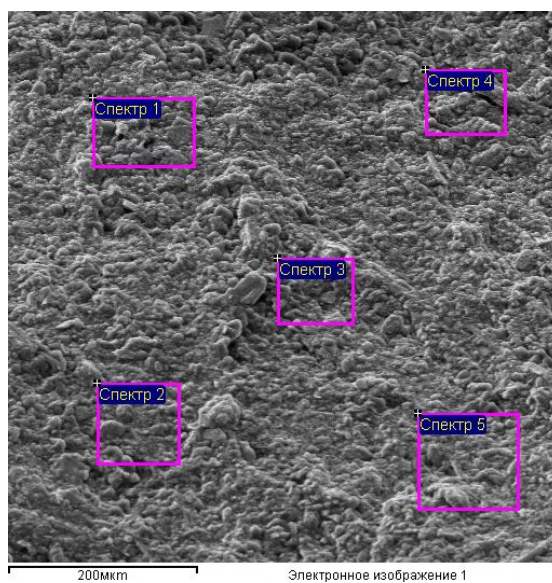


Рисунок 4. – Электронное изображение губчатой костной ткани. Опыт, модулированный НУЗТ, 60 кГц, 10 процедур