

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СТАВРОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

КАРПЮК

Владимир Борисович

**ПРИМЕНЕНИЕ СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ
ЖИРОВОЙ ТКАНИ В ВОССТАНОВИТЕЛЬНО-
РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ХИРУРГИИ ПОЛОСТИ РТА
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ И КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

14.01.14 – стоматология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Научный консультант:

доктор медицинских наук

Перова Марина Дмитриевна

Ставрополь – 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
-----------------------	----------

ГЛАВА 1.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ВОССТАНОВИТЕЛЬНО-РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ХИРУРГИИ

ПОЛОСТИ РТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	17
---	-----------

1.1. Традиционные подходы в восстановительной хирургии опорных тканей челюстно-лицевой области	17
1.2. Некоторые анатомо-физиологические особенности внутриротовых опорных структур в аспекте восстановительной хирургии	23
1.3. Обоснование биологического (биомиметического) подхода к проблеме регенерации костной ткани	26
1.4. Регенеративные и тканеинженерные технологии восстановления кости: методологические основы	36
1.5. Жировая ткань как перспективный источник клеточного материала для регенеративной медицины	47

ГЛАВА 2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	62
--	-----------

2.1. Материал экспериментального исследования	62
2.2. Общий дизайн клинического исследования	66
2.3. Характеристика больных хроническим пародонтитом средней и тяжелой степени	67
2.4. Характеристика пациентов с одонтогенными кистозными образованиями челюстей	72
2.5. Характеристика пациентов с атрофией альвеолярного гребня челюстей	77

2.6. Методика получения стромально-васкулярной фракции жировой ткани пациентов	83
2.7. Методика подготовки содержащего СВФ-ЖТ костнопластического материала	92
2.8. Методы исследования	94
2.8.1. Клиническое обследование	94
2.8.2. Рентгенологические методы исследования	99
2.8.3. Перитестометрия	101
2.8.4. Макроморфометрия	101
2.8.5. Гистологический анализ	102
2.8.6. Иммуногистохимический анализ	105
2.8.7. Цитологический анализ	105
2.8.8. Иммуноцитохимический анализ	107
2.9. Статистическая обработка материала	108

ГЛАВА 3.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

ОСТЕОРЕГЕНЕРАТОРНЫХ СВОЙСТВ

СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ	112
3.1. Результаты	112
3.2. Обсуждение	117

ГЛАВА 4.

ОЦЕНКА ХАРАКТЕРИСТИК СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ

ФРАКЦИИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ЧЕЛОВЕКА	121
4.1. Обзорная морфологическая характеристика СВФ-ЖТ	121
4.2. Иммунофенотип и число клеток СВФ-ЖТ	123
4.3. Обсуждение	125

ГЛАВА 5.

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ В ВОССТАНОВИТЕЛЬНО-РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ХИРУРГИИ ПОЛОСТИ РТА	135
5.1. Клинико-рентгенологическая оценка восстановления аппарата зубодесневого прикрепления при хроническом пародонтите средней и тяжелой степени	135
5.1.1. Морфологическая характеристика полученных результатов	148
5.1.2. Обсуждение результатов исследования	152
5.2. Клинико-рентгенологическая оценка замещения дефектов челюстных костей после удаления кистозных образований одонтогенного генеза	162
5.2.1. Морфологическая характеристика полученных результатов	178
5.2.2. Обсуждение результатов исследования	184
5.3. Клинико-рентгенологическая оценка восстановления объема костной ткани при атрофии альвеолярного гребня челюстей	195
5.3.1. Морфологическая характеристика полученных результатов	204
5.3.2. Обсуждение результатов исследования	207
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	217
ВЫВОДЫ	224
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	227
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	229
СПИСОК ТЕРМИНОВ	231
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	234
ПРИЛОЖЕНИЯ	305

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Качественная реабилитация пациентов с остеодеструктивными и остеодегенеративными изменениями зубочелюстной системы, включающая полную коррекцию анатомических, функциональных и эстетических недостатков, остается актуальной медико-социальной проблемой. Из общего числа обратившихся за стоматологической помощью около 60 % страдают воспалительными заболеваниями пародонта, у трети из них диагностируются тяжелые формы хронического пародонтита с прогрессирующим разрушением околозубных опорных тканей (Грудянов А.И., 2008; Орехова Л.Ю., Чибисова М.А., Серова Н.В., 2013; Шафеев И.Р. с соавт., 2014). Более 40 % операций в практике хирурга-стоматолога занимают вмешательства по поводу одонтогенных кист, при этом частота рецидивов воспалительно-деструктивного процесса за последнее десятилетие существенно не изменилась и достигает 62 % (Семкин В.А., Зарецкая А.С., 2010; Щипский А.В., Годунова И.В., 2016; Morgan T.A. et al., 2005). Растет продолжительность жизни населения; с возрастом, по данным скринингового исследования, увеличивается не только абсолютное количество отсутствующих зубов, но и степень дегенеративных изменений костной ткани челюстей (Бондаренко Н.А., Лосев Ф.Ф., Бондаренко А.Н., 2010). У большинства возрастных пациентов с приобретенной адентией наблюдается выраженная атрофия альвеолярного гребня, что не позволяет выполнить дентальную имплантацию без реконструкции опорной кости (Иванов С.Ю., Мураев А.А., Ямуркова Н.Ф., 2016; Кулаков А.А. с соавт., 2017; De Groot R.J. et al., 2018).

Клинические наблюдения свидетельствуют, что перспективы улучшения результатов восстановления значительно поврежденных или реконструкции полностью утраченных опорных тканей пародонта и челюстей только за счет оптимизации техники аутотрансплантации, совершенствования технологии обработки аллогенных тканей, синтеза новых имплантационных материалов, в

основном, исчерпаны (Алиев С.Э., Назарян Д.Н., Мельников Д.А., 2013; Семченко В.В. с соавт., 2013; Калакуцкий Н.В. с соавт., 2016; Mertens C. et al., 2014). Анализ причин ограниченной эффективности стандартных подходов свидетельствует о необходимости дальнейшего усовершенствования технологии хирургических вмешательств с учетом местных анатомо-физиологических особенностей и на основе современных достижений регенеративной биологии и медицины.

Степень разработанности темы. Одним из перспективных направлений развития восстановительно-реконструктивной хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии считается внедрение регенеративных и тканеинженерных технологий с применением стволовых/стромальных клеток (Деев Р.В. с соавт., 2007; Киселева Е.В. с соавт., 2009; Миланов Н.О. с соавт., 2014; Семенов М.Г., Степанова Ю.В., Трощиева Д.О., 2016; Kuci S. et al., 2012; Jazayeri H.E. et al., 2017). Как правило, источником клеточного материала для реализации таких технологий служат собственные ткани взрослого человека, включая костный мозг и жировую ткань (Кулаков А.А. с соавт., 2008; Мамонов В.Е. с соавт., 2010; Kokaï L.E. et al., 2014). Показано, что мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани (ММСК-ЖТ) легкодоступны, обладают значительной пластичностью и под влиянием факторов микроокружения способны дифференцироваться в клетки, имеющие мезенхимальное происхождение, а также в особых условиях *in vitro* – в клетки эктодермального и энтодермального фенотипов (Трактюев Д.О. с соавт., 2006; Zuk P.A. et al., 2002; Strem V.M. et al., 2005; Frazier T.P. et al., 2016; Lewallen E.A. et al., 2016; Lo Furno D. et al., 2018).

В ряде доклинических исследований продемонстрирована возможность восстановления кости с помощью трансплантации тканеинженерных конструкций на основе культуры ММСК-ЖТ (Алексеева И.С. с соавт., 2012;

Бухарова Т.Б., 2014; Haghghat A. et al., 2011; Wilson S.M. et al., 2012; Streckbein P. et al., 2013; Lee M.K. et al., 2015; Alvira-Gonzalez J. et al., 2016). Вместе с тем имеется ряд объективных причин, затрудняющих широкое внедрение в медицинскую практику регенеративных технологий с применением клеточных культур, полученных вне организма человека, включая вопросы биобезопасности (Жукоцкий А.В., Мелерзанов А.В., 2010; Boguest A.C. et al., 2005; Wang Y. et al., 2005; McLean A.K. et al., 2015).

Стромально-васкулярная фракция жировой ткани (СВФ-ЖТ) представляет собой гетерогенный комплекс нативных клеток и рассматривается многими как перспективный мультифункциональный регенеративный ресурс для клинического применения (Веремеев А.В. с соавт., 2016; Han S. et al., 2015; Guo J. et al., 2016; Nguyen A. et al., 2016; Simonacci F., Bertozzi N., Raposio E., 2017). В состав СВФ-ЖТ входят ММСК-ЖТ (от 1,5 % до 25 % от общего числа ядродержащих клеток), гладкомышечные и эндотелиальные васкулярные клетки, макрофаги и лимфоциты (Zimmerlin L. et al., 2010; Alexander R.W., 2016; Vora P., Majumdar A.S., 2017). Описан широкий спектр ангиогенных, противовоспалительных, иммуномодулирующих цитокинов и факторов роста, секретлируемых клетками СВФ-ЖТ (Hirose Y. et al., 2018).

Представлены положительные результаты применения СВФ-ЖТ при трофических и дегенеративных повреждениях мягких тканей разной локализации (Василевич И.Б. с соавт., 2015; Терюшкова Ж.И. с соавт., 2016; Куо Y.R. et al., 2016; Philandrianos C. et al., 2018). Проводятся попытки замещения костных дефектов черепно-челюстно-лицевой области тканеинженерными конструкциями, включающими свежевыделенную СВФ-ЖТ (Sandor G.K. et al., 2014; Manimaran K. et al., 2016; Pellacchia V. et al., 2016; Prins H.J. et al., 2016).

Однако до сих пор нет полной ясности относительно остеогенных свойств СВФ-ЖТ. Остается дискуссионным вопрос о клинически приемлемой методике выделения этого клеточного материала.

Представленные в литературе единичные и разрозненные наблюдения не позволяют оценить эффективность и безопасность применения СВФ-ЖТ в челюстно-лицевой хирургии и стоматологии. Не уточнены показания, отсутствуют рекомендации по методике применения СВФ-ЖТ в зависимости от характеристик дефекта.

Разработка данной проблемы позволит вывести на качественно новый уровень эффективность лечения и реабилитации пациентов с остеодеструктивными и остеодегенеративными заболеваниями зубочелюстной системы.

Цель исследования: улучшить результаты хирургического лечения и реабилитации пациентов с остеодеструктивными и остеодегенеративными заболеваниями зубочелюстной системы путем совершенствования методов восстановления и реконструкции опорных тканей полости рта.

Задачи исследования:

1. Разработать экспериментальную модель восстановления костной ткани для сравнительного изучения регенераторного остеогистогенеза в условиях внесения в область объемного челюстного дефекта свежевыделенной аутологичной СВФ-ЖТ.

2. Изучить рентгенологические и морфологические особенности экспериментальной остеорегенерации с применением СВФ-ЖТ; на основе полученных результатов оценить регенераторный потенциал и возможность использования СВФ-ЖТ в восстановительно-реконструктивной хирургии полости рта.

3. Разработать протокол обработки жировой ткани для выделения СВФ-ЖТ с повышенной иммунологической и инфекционной безопасностью, адаптировать методику к применению в практическом здравоохранении.

4. С помощью цитоморфологических и иммуноцитохимических тестов изучить клеточно-тканевый состав фракции, определить

иммунофенотип, число и жизнеспособность клеток СВФ-ЖТ, выделенной по собственной методике.

5. Обосновать медицинские показания и разработать методику использования СВФ-ЖТ при лечении остеодеструктивных форм хронического пародонтита, замещении объемных дефектов челюстей после удаления одонтогенных кистозных образований, аугментации/реконструкции кости при атрофии челюстного альвеолярного гребня.

6. В сравнительном исследовании оценить прирост уровня зубодесневого прикрепления в пародонтальных дефектах разной топографии в зависимости от способа лечения. В гистоморфологическом исследовании верифицировать структуру восстановленных околозубных тканей; в иммуногистохимическом исследовании с использованием моноклональных антител к маркеру эндотелиальных прогениторных клеток CD34 оценить активность процессов васкуляризации в пародонтальном регенерате.

7. Провести клинико-рентгенологическую оценку эффективности разработанной методики лечения радикулярных кист и кистогранулем, привести доказательства функциональной полноценности восстановленной кости. В гистоморфологическом исследовании выявить особенности структуры тканевого регенерата в зависимости от способа лечения кистозных образований челюстей.

8. Оценить эффективность применения СВФ-ЖТ для восстановления объема атрофированного альвеолярного гребня челюстей перед дентальной имплантацией, включая сравнительный анализ частоты и структуры послеоперационных осложнений, полученного прироста костной ткани, первичной остеоинтеграции искусственных опор и стабильности кости в нагрузочном периоде готовой ортопедической конструкции, совокупной «выживаемости» дентальных имплантатов в отдаленные сроки наблюдений. Сравнить основные гистоморфометрические показатели субантрального остеорегенерата после синуслифтинга с применением ординарных и содержащих СВФ-ЖТ остеопластических материалов.

9. На основе комплексного анализа результатов исследования обосновать целесообразность внедрения разработанных методов восстановительно-реконструктивной хирургии пародонта и челюстей в широкую клиническую практику.

Научная новизна исследования. Разработана оригинальная экспериментальная модель для изучения влияния локальных привносимых факторов на регенерацию костной ткани. Получены новые сведения об особенностях восстановления челюстной кости в условиях аутотрансплантации СВФ-ЖТ в зону дефекта.

На основании полученных данных разработан способ остеопластики, включающий аутотрансплантацию СВФ-ЖТ (патент РФ на изобретение № 2336841 от 26.10.2006).

Предложена стандартизованная, малоинвазивная методика получения персонифицированного минимально манипулированного клеточного материала для клинического применения в регенеративных целях – аутологичной СВФ-ЖТ.

Предложена методика приготовления полнофункционального костнопластического материала, включающего комбинацию биорезорбируемого остеозамещающего матрикса, аутологичного минимально манипулированного клеточного материала в виде СВФ-ЖТ, а также источника естественных остеоиндуктивных стимулов в виде аутологичной костной крошки.

Разработан клеточно-потенцированный способ восстановления кости альвеолярного гребня челюсти и тканей пародонта с редуцированным регенераторным потенциалом, включающий аутотрансплантацию СВФ-ЖТ в изолированном состоянии или в составе костнопластического материала (Патент РФ на изобретение № 2320285 от 10.05.2006).

Предложен метод выбора для замещения пародонтальных дефектов с неблагоприятной топографией – супраальвеолярных и фуркационных.

Впервые выполнен тонкий аппаратный анализ функционального состояния опорного аппарата зубов после лечения хронического пародонтита новым способом.

Впервые изучена морфологическая картина пародонтального регенерата, формирующегося в ранние сроки заживления в присутствии СВФ-ЖТ.

Впервые в иммуногистохимическом исследовании с молекулярным маркером эндотелиальных прогениторных клеток CD34 изучена активность васкулогенеза в восстанавливаемых тканях пародонта после аутотрансплантации СВФ-ЖТ.

Разработана новая методика лечения одонтогенных кистозных образований челюстей, включающая клеточно-потенцированную остеопластику постцистэктомических объемных костных дефектов.

Впервые проведена гистоморфологическая верификация регенерата, замещающего челюстной дефект в разные сроки после лечения одонтогенных кистозных образований новым способом.

Методом периотестометрии впервые проведена объективная оценка функционального состояния опорного аппарата сохраненных «причинных» зубов у пациентов в разные сроки после лечения одонтогенных кистозных образований.

Предложен способ предимплантационной аугментации/реконструкции атрофированного альвеолярного гребня челюстей с применением содержащих СВФ-ЖТ остеозамещающих материалов.

Впервые проведена комплексная сравнительная оценка эффективности нового способа реконструкции атрофированного альвеолярного гребня челюстей с применением СВФ-ЖТ, включающая анализ послеоперационных осложнений, размеров и гистоморфометрических характеристик реконструированной кости, периимплантатной маргинальной костной потери, первичной остеоинтеграции и долгосрочной «выживаемости» установленных в реконструированную кость дентальных имплантатов.

Теоретическая и практическая значимость. На основании результатов проведенных исследований представлено научное обоснование и предложены пути реализации нового направления в восстановительно-реконструктивной хирургии полости рта, заключающегося в целенаправленном улучшении регенераторных способностей хирургически модифицируемых тканей организма или имплантируемых биоматериалов с помощью аутологичного ресурса мультипотентных клеток и трофических факторов – стромально-васкулярной фракции жировой ткани.

Внедрение материалов исследования в практическое здравоохранение позволит улучшить результаты лечения, снизить травматичность хирургических вмешательств, сократить сроки реабилитации, расширить медицинские показания за счет включения наиболее тяжелых форм патологии, снизить риск осложнений и рецидивов.

Методология и методы исследования. Исследование носит клинико-экспериментальный характер и, по заключению этического комитета Ставропольской государственной медицинской академии, выполнено в рамках утвержденных стандартов.

В экспериментальной части на морских свинках проведена проверка рабочей гипотезы об остеорегенераторных свойствах СВФ-ЖТ. Объект эксперимента – репаративная регенерация костной ткани. Предмет эксперимента – особенности морфологической картины, качественных и количественных показателей остеорепарации в условиях трансплантации в костный дефект СВФ-ЖТ. Использовались морфометрический, рентгенологический и гистологический методы исследования.

Клиническая часть выполнена в дизайне проспективного контролируемого исследования результатов хирургического лечения:

- 1) больных хроническим пародонтитом средней и тяжелой степени;
- 2) пациентов с одонтогенными кистозными образованиями челюстей;

3) пациентов с приобретенной адентией и выраженной атрофией челюстного альвеолярного гребня, нуждающихся в стоматологической реабилитации с применением внутрикостных дентальных имплантатов. Эффективность нового способа лечения оценивали путем анализа динамики показателей каждой группы, сравнения показателей основной и контрольной групп, а также сопоставления собственных результатов с данными литературы. Применялись клинический, рентгенологический, гистологический, иммуногистохимический, гистоморфометрический и статистический методы исследования.

Положения, выносимые на защиту:

1. Прямое внесение СВФ-ЖТ в микроокружение объемных тканевых дефектов индуцирует мощный пролиферативный ответ и дифференцировку привнесенных *in situ* клеточных форм, высокую степень неоваскуляризации первичного межклеточного матрикса с последующим формированием на этой основе органотипического регенерата.

2. Полученные по усовершенствованному протоколу образцы СВФ-ЖТ, в ходе изучения морфологического состава и иммунофенотипа, подтверждают корректность процессинга липоаспирата с высокой эффективностью выхода гетероморфных ядродержащих клеточных форм, включая жизнеспособные пластик-адгезивные фибробластоподобные клетки с экспрессией маркеров ММСК и синтетической активностью *in vitro*.

3. Активация (витализация) биорезорбируемых остеозамещающих матриксов с помощью комбинирования с аутологичной СВФ-ЖТ способствует васкуляризации и остеогенному ремоделированию материала при внесении в зону тканевого дефекта, улучшает ближайшие и отдаленные результаты костной пластики.

4. Применение аутологичной СВФ-ЖТ способно существенно повысить эффективность восстановительно-реконструктивного хирургического лечения

пациентов с тканевыми дефектами вследствие периодонтальных и периапикальных воспалительно-деструктивных процессов, а также регрессивной трансформации беззубого челюстного альвеолярного гребня.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов определяется достаточным количеством экспериментальных и клинических наблюдений, наличием сопоставимых групп сравнения, применением широкого спектра современных объективных методов исследования, качественной статистической обработкой разнообразными методами, адекватными типу анализируемых данных.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на следующих научных форумах: XII Международной конференции челюстно-лицевых хирургов и стоматологов «Новые технологии в стоматологии» (Санкт-Петербург, 22–24 мая 2007 г.); XIV конгрессе Международной конфедерации пластической, реконструктивной и эстетической хирургии (Берлин, 26–30 июня 2007 г.); XIII Международной конференции челюстно-лицевых хирургов и стоматологов «Новые технологии в стоматологии» (Санкт-Петербург, 20–22 мая 2008 г.); XV Международной конференции челюстно-лицевых хирургов и стоматологов «Новые технологии в стоматологии» (Санкт-Петербург, 17–19 мая 2010 г.); Общероссийской научно-практической конференции стоматологического факультета КубГМУ «Современные вопросы стоматологии» (Краснодар, 20–22 мая 2010 г.); XVI Международной конференции челюстно-лицевых хирургов и стоматологов «Новые технологии в стоматологии» (Санкт-Петербург, 16–18 мая 2011 г.); Первом конгрессе Международного общества пластической регенеративной хирургии (Рим, 9–11 марта 2012 г.); конференции «Регенеративная хирургия» (Челябинск, 23–24 сентября 2016 г.); научно-практической конференции «Актуальные вопросы челюстно-лицевой хирургии и имплантологии» (Краснодар, 26–27 октября

2017 г.); Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы стоматологии» (Краснодар, 11–12 октября 2018 г.); II Международной конференции по регенеративной хирургии (Челябинск, 22–24 ноября 2018 г.); XXIV Международной конференции челюстно-лицевых хирургов и стоматологов «Новые технологии в стоматологии» (Санкт-Петербург, 14–16 мая 2019 г.).

Апробация работы состоялась на совместном заседании кафедр хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, терапевтической стоматологии, стоматологии, пропедевтики стоматологических заболеваний, стоматологии общей практики и детской стоматологии, общей хирургии, госпитальной хирургии, факультетской хирургии, поликлинической хирургии с курсом урологии, хирургии и эндохирургии с курсом сосудистой хирургии и ангиологии, патологической физиологии, общей и биологической биохимии Ставропольского государственного медицинского университета.

Публикации. Всего по материалам диссертации опубликована 41 работа, в том числе 24 – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, и издания, приравненные к ним, в том числе 5 работ в изданиях, индексируемых в базах данных Scopus и WoS, и 2 патента РФ.

Реализация результатов исследования. Разработанные методы хирургического восстановления опорных тканей зубочелюстной системы, включающие аутотрансплантацию СВФ-ЖТ, применяются в следующих медицинских учреждениях: ГБУЗ «Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница № 1 имени профессора С.В. Очаповского»

министерства здравоохранения Краснодарского края, ГБУЗ «Краевая клиническая стоматологическая поликлиника» министерства здравоохранения Краснодарского края, стоматологическая поликлиника ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения России. Научные положения диссертации используются в учебном процессе в ряде ФГБОУ ВО Минздрава России: на кафедрах хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии КубГМУ, СтГМУ, ЮУГМУ, СЗГМУ им. И.И. Мечникова; стоматологии № 1 РостГМУ; пародонтологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова.

Личный вклад автора в исследование. Автор лично выполнил аналитический обзор литературы, выбор материала и методов исследования, разработал экспериментальную модель для изучения репаративного остеогистогенеза и провел серию оперативных вмешательств на морских свинках, усовершенствовал и апробировал протокол выделения СВФ-ЖТ из жировой ткани пациентов, оперировал сам и принимал непосредственное участие в выполнении оперативных вмешательств в клинике, осуществил систематизацию и анализ данных экспериментальных и клинических наблюдений, участвовал в обсуждении и интерпретации данных цитологических и морфологических исследований, сформулировал выводы и практические рекомендации.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 319 страницах и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, трех глав собственных исследований с обсуждением результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложений. Работа содержит 73 рисунка, 29 таблиц. Список литературы включает 574 источника, из них 191 на русском и 383 на иностранных языках.

ГЛАВА 1.

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ВОССТАНОВИТЕЛЬНО-РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ХИРУРГИИ ПОЛОСТИ РТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Традиционные подходы в восстановительной хирургии опорных тканей челюстно-лицевой области

Способы хирургической коррекции дефектов опорных тканей челюстно-лицевой области в основном сходны с теми, что применяются в восстановительной хирургии любого другого участка тела и включают работу с местными тканями, трансплантацию ауто-, алло- и ксеногенной кости, имплантацию материалов небиологического происхождения. Каждая из этих реконструктивных стратегий имеет определенные ограничения и испытывает недостаток в клинической предсказуемости результатов.

В литературе описаны различные методики реконструкции челюстного альвеолярного гребня за счет модификации местных костных тканей: сэндвич-пластика, расщепление кости, дистракционный остеогенез и др. Положительными сторонами такого подхода является замещение дефекта собственной костью пациента, идентичной по своим характеристикам утраченной, относительная простота выполнения операции, короткий период заживления, меньшая резорбция по сравнению с аутотрансплантацией костных блоков. К недостаткам можно отнести строго ограниченный диапазон показаний, лимитированный количеством и качеством сохранившихся перифокальных костных и мягких тканей (Иванов С.Ю., Мураев А.А., Ямуркова Н.Ф., 2016).

Метод дистракционного остеогенеза, включающий контролируруемую остеотомию и дозированную дистракцию возникающей костной мозоли до образования регенерата необходимой величины, позволяет одновременно

увеличивать альвеолярную кость и мягкие ткани. Однако оптимальные результаты могут быть получены при мобилизации относительно крупного костного фрагмента, возможности метода ограничены при комбинированных дефектах альвеолярного гребня по высоте и ширине, есть риск ятрогенного повреждения прилежащих анатомических структур при установке дистрактора (Дробышев А.Ю., Чаусская И.Ю., Егорова А.А., 2011; Jensen O.T. et al., 2002; Chiapasco M. et al., 2004).

В хирургической стоматологии рутинно используется метод направленной костной регенерации. При этом эффект достигается за счет отграничения поврежденного участка кости от окружающих мягких тканей барьерной мембраной, что позволяет костной ткани реализовать свой естественный восстановительный потенциал без угрозы преждевременного заполнения дефекта быстро регенерирующим эпителием или соединительнотканым рубцом. На результативность метода значительно влияют размеры и топография дефекта (хорошо заживают 2–3-стенные луночные дефекты, плохо поддаются плоскостные и вертикальные), структура материнской кости (необходим достаточный объем хорошо васкуляризованной губчатой кости с сохранными камбиальными источниками регенерации – стволовыми и остеопрогениторными клетками). Осложнения редки, в литературе описываются расхождение швов, фенестрация мягких тканей с обнажением мембраны, длительная отечность, абсцедирование с несостоятельностью запланированного прироста кости. При использовании нерезорбируемых мембран существует необходимость повторного хирургического вмешательства по их эксплантации (Перова М.Д. с соавт., 2002; Барон А., Нанмарк У., 2015; Khojasteh A. et al., 2017).

Одним из наиболее эффективных подходов является замещение дефекта аутотрансплантатом. Существенным плюсом является органотипичность, то есть полное анатомо-морфологическое сходство результирующего образца с восстанавливаемыми тканями.

Аутокость в виде трансплантата из ребра, бедренной, малоберцовой и подвздошной костей, донорских участков нижней челюсти или из костей свода черепа остается материалом выбора при остеопластике в челюстно-лицевой области (Бельченко В.А., Притыко А.Г., Гончалов Г.В., 2000; Иванов С.Ю., Мураев А.А., Ямуркова Н.Ф., 2016; Вербо Е.В. с соавт., 2017; Калакуцкий Н.В. с соавт., 2017; Буцан С.Б. с соавт., 2018). При этом ряд авторов отмечает высокий процент резорбции аваскулярных трансплантатов вплоть до полного их рассасывания (Кулаков О.Б., Шорстов Я.В., Супрунов С.Н., 2009; Акбай Е., Aydogan F., 2014).

При пересадке в область дефекта нижней челюсти реваскуляризованного костного ауто трансплантата доля успешных операций значительно выше и, по данным литературы, достигает 86–100 % (Решетов И.В. с соавт., 2004; Калакуцкий Н.В., Герасимов А.С., 2010). Однако вероятность полного некроза лоскута в случае тромбоза питающего сосуда, техническая сложность и длительность вмешательства не позволяют рассматривать этот метод пластики как абсолютно безопасный и широкодоступный (Обыденнов С.А., Фраучи И.В., 2000; Решетов И.В. с соавт., 2004; Васильев Ю.С. с соавт., 2009). Нередки интраоперационные осложнения, негативные отдаленные функциональные и косметические последствия в донорском участке тела (Алиев С.Э., Назарян Д.Н., Мельников Д.А., 2013; Калакуцкий Н.В. с соавт., 2016).

Ограниченность объема аутогенного пластического материала, необходимость нанесения дополнительной травмы пациенту, затруднительность формирования лоскута под сложный рельеф челюстно-лицевой области не позволяют использовать аутопластику как единственный и универсальный метод (Алиев С.Э., Назарян Д.Н., Мельников Д.А., 2013; Калакуцкий Н.В. с соавт., 2016; Кравченко Д.В. с соавт., 2017).

Аллогенные костные трансплантаты находят широкое применение в хирургии челюстно-лицевой области (Сысолятин П.Г., Ефимова Т.В., 2001;

Трунин Д.А., Кириллова В.П., Бажутова И.В., 2008; Mishra A.K., Vikas R., Agrawal H.S., 2017). Они имеют высокий остеоиндуктивный потенциал, сравнимый с таковым у аутотрансплантатов (Лекишвили М.В., Панасюк А.Ф., 2008; Шаркеев Ю.П. с соавт., 2010; Edwards J.T., Diegmaun M.H., Scarborough N.L., 1998). Наиболее значимым недостатком аллотрансплантатов является биологическая несовместимость тканей донора и реципиента, с чем связаны неудовлетворительные отдаленные результаты в виде секвестрации, инфицирования и выраженной реакции окружающих мягких тканей. Среди причин осложнений на тканевом уровне описывают ненадежную инкорпорацию, резорбцию пересаженного материала, несостоятельность интерфейса трансплантат/реципиентное ложе (Чергештов Ю.И., Сажина Т.Г., Воложин А.И., 1995; Kondell P.A., Mattsson T., Astrand P., 1996; Tong L., Buchman S.R., 2000). Лиофилизация, деминерализация и облучение снижают иммуногенный потенциал, но отрицательно влияют на прочность и остеогенные свойства костных аллотрансплантатов (Шаркеев Ю.П. с соавт., 2010; Воробьев К.А. с соавт., 2017; Salai M. et al., 2000). Другими ограничениями в использовании этих материалов являются длительные сроки заготовки, ограниченные сроки хранения, возможность инфицирования вирусами гепатита, ВИЧ, юридические нюансы, высокая стоимость импортных препаратов (Deijkers R.L. et al., 1997; Marthy S., Richter M., 1998).

Ограничения и недостатки использования костных ауто- и аллотрансплантатов, а также возрастающая потребность в костнопластическом материале стимулировали разработку биорезорбируемых остеозамещающих костных матриксов из костной ткани животных (Яременко А.И., Галецкий Д.В., Королев В.О., 2011). В современной стоматологии и челюстно-лицевой хирургии широко применяются костнопластические материалы ксеногенного происхождения в виде гранул, блоков, мембран и пластин. Сырьем для их изготовления служит костная ткань крупного рогатого скота, свиней, лошадей. Высокая биосовместимость, легкодоступность и удобство использования

костнопластических ксенобиоматериалов отмечаются многими авторами (Барон А., Нанмарк У., 2015; Иванов С.Ю., Мураев А.А., Ямуркова Н.Ф., 2016). Между тем, основным механизмом их действия остается остеокондукция – оптимизация естественного хода репаративного остеогистогенеза за счет предоставления каркаса для прорастания сосудов и структур новой костной ткани, что малоэффективно при замещении объемных костных дефектов, особенно в условиях остеогенной недостаточности (Деев Р.В., Дробышев А.Ю., Бозо И.Я., 2015). Для придания костнопластическому материалу остеоиндуктивных свойств изучается возможность применения малодифференцированной костной ткани эмбрионов разных животных. Было установлено, что брeфоматрикс из костей плодов кроликов и собак оказывает выраженное стимулирующее действие на камбиальный слой надкостницы и в композиции с гидроксиапатитом способствует быстрому образованию кости в области экспериментального костного дефекта (Трунин Д.А. с соавт., 2008).

Значительный прогресс в восстановительной хирургии челюстно-лицевой области достигнут благодаря использованию материалов искусственного происхождения. Накоплен большой опыт применения имплантатов из полимеров (Неробеев А.И., Белых С.И., Григорьян А.С., 1994; Адамян А.А., Сергиенко Е.Н., Щеголев А.И., 2005; Карнаухова А.В. с соавт., 2006; Кулаков А.А., Григорьян А.С., 2014; Ridwan-Pramana A. et al., 2015), металлов (Бельченко В.А. с соавт., 1996; Медведев Ю.А. с соавт., 2014; Сирак С.В., Щетинин Е.В., Слетов А.А., 2016; Sugar A.W., Kuriakose M., Walshaw N.D., 1992), биокерамики (Безруков В.М., Григорьянц А.С., 1996; Долгалев А.А., Гречишников В.И., Заплешко Н.Н., 1999; Гурин А.Н. с соавт., 2012; Решетов И.В. с соавт., 2012; Тарасенко С.В., Ершова А.М., 2017). Преимуществами такого подхода являются доступность и неограниченный объем материала, относительная простота применения, в определенных клинических ситуациях большая предсказуемость исходов по сравнению с использованием аутогенных или аллогенных тканей. Однако структура

восстанавливаемого органа при этом резко отличается от природного образца. Часто имплантаты не могут нести полноценную функциональную нагрузку. Слабым местом остается интерфейс имплантат/живая ткань, поскольку ткань характеризуется способностью к функциональной адаптации, в то время как синтетический материал биоинертен (Scheller E.L., Krebsbach P.H., Kohn D.H., 2009). Отдаленные осложнения применения имплантатов включают дислокацию, образование фиброзной капсулы, отторжение, потерю прочности вследствие механической и/или химической деградации материала, инфицирование, резорбцию прилегающей к имплантату костной ткани (Григорьян А.С., Топоркова А.К., 2007; Coleman D.L., King R.N., Andrate J.D., 1974; Lilla J.A., Vistnes L.M., Jobe R.P., 1976; Karlan M.S. et al., 1981; Buettner H., Bartley G.B., 1992).

Применение комбинаций материалов из разных химических групп и различных добавок улучшают характеристики имплантатов. Так, для регенерации костной ткани в стоматологии большое распространение получили композиты, состоящие из коллагена и синтетического минерала гидроксиапатита или трикальцийфосфата. В механизме остеопластического действия этих материалов основная роль принадлежит их остеокондуктивным свойствам (Агапов В.С., Аснина С.А., Воложин А.И., 1996; Дробышев А.Ю., 2001; Яременко А.И., Галецкий Д.В., Королев В.О., 2011). Недостатком является низкая способность инициировать построение костной ткани из-за отсутствия специфических стимуляторов-остеоиндукторов, в частности морфогенетических белков (Перова М.Д., 1999). В процессе органотипической перестройки они подвергаются рассасыванию и замещению собственной костной тканью. Однако в некоторых случаях наблюдается превышение скорости рассасывания имплантированного материала над темпами его перестройки или, напротив, замедление резорбции, что приводит к неудовлетворительным клиническим результатам (Кулаков О.Б. с соавт., 2004; Тер-Асатуров Г.П. с соавт., 2010).

Таким образом, восстановительное хирургическое лечение больных с дефектами и деформациями опорных тканей челюстно-лицевой области составляет одну из наиболее сложных задач современной хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, решение которой требует принципиально новых подходов. Из всех используемых остеопластических материалов ни один не является идеальным. Поиски оптимальных средств и методов продолжаются до настоящего времени.

1.2. Некоторые анатомо-физиологические особенности внутриротовых опорных структур в аспекте восстановительной хирургии

Исходы спонтанного или хирургически управляемого восстановления тканей организма в значительной степени зависят от локальной организации репаративного гистогенеза (Данилов Р.К., 2007). В этом отношении черепно-челюстно-лицевая область имеет ряд особенностей.

Так, экспериментальными и клиническими исследованиями было установлено, что кости лица и черепа человека в естественных условиях обладают слабыми регенераторными возможностями. По мнению Н.Ж. Cestero с соавт. (1975), «имеется большая разница в остеогенных потенциях надкостницы черепа и остального скелета», «возможности восстановления кости из фиброзно-надкостничного слоя черепно-лицевой области почти не существует» (Cestero Н.Ж., 1974). Это явление морфологи объясняют филогенетической спецификой костей черепа высших млекопитающих с низкими остеогенными свойствами эндоста и периоста из-за малого содержания остеобластических элементов (Полежаев Л.В., 1957; Зайченко А.И., Потанина М.Н., 1968; Канторова В.И., 1979; Friedman С.Д., 2007).

Известно, что важную роль в функционировании и репарации костного органа играют механические стимулы (Оганов В.С., 2003; Гусева И.Е.

с соавт., 2014). Экспериментальным путем было установлено, что в период функциональной адаптации при отсутствии постоянной механической тяги костный регенерат в области повреждения резорбируется (Шевцов В.И., Чиркова А.М., Дьячков А.Н., 2000). В отличие от остального скелета, череп и срединная часть лица выполняют в основном защитную функцию и не несут тяговой нагрузки, что, возможно, оказывает негативное влияние на процесс восстановления костей челюстно-лицевой области (Friedman С.Д., 2007). Клинические исследования указывают на то, что репаративный остеогенез в посттравматических дефектах челюстей проходит очень медленно – от 6 месяцев до 11 лет и более, а в ряде случаев костные дефекты вообще не заполняются костной тканью (Лысенко Л.Н., 2001; Witsenburg В., Peter Н., Freihofeг M., 1990). Замедление репаративных процессов в костной ране приводит к развитию остеомиелитов, патологическим переломам на месте дефекта, а также значительно увеличивает сроки восстановления формы и величины альвеолярных отростков, что отрицательно сказывается на результатах зубного протезирования и качестве жизни пациентов в целом (Ушкалов Ю.Г., 1972; Перова М.Д., 1999).

Потребность в восстановлении челюстной кости часто возникает на фоне хронических воспалительно-деструктивных и дегенеративных процессов, таких как генерализованный пародонтит, рецидивирующие одонтогенные кисты, атрофия альвеолярного гребня при адентии. В результате ухудшается регионарный кровоток, увеличивается плотность оставшихся оссифицированных структур с редуцированием костномозгового компартмента. Это приводит к дефициту клеток, способных дифференцироваться в необходимые клеточные линии в ходе репаративной регенерации (Перова М.Д., 2005; Ушаков Р.В., Герасимова Т.П., 2017). Подобные состояния, обусловленные разрушением или несостоятельностью камбиальных клеточных элементов костной ткани, некоторые авторы

характеризуют как «остеогенную недостаточность» (Дулаев А.К. с соавт., 2004; Деев Р.В. с соавт., 2007). В этих условиях репаративный процесс в костной ткани не заканчивается восстановлением ее структуры и функции даже при использовании различных остеопластических и остеокондуктивных материалов.

В восстановительной хирургии внутриротовых структур необходимо учитывать микробное окружение, а также возможность наличия нарушений функции иммунной системы пациента (Иорданишвили А.К., 2007; Shigeishi H., Ohta K., Takechi M., 2015). Установлено, что длительно текущий воспалительный процесс в периодонте сопровождается изменением показателей иммунитета, как клеточного, так и гуморального (Орехова Л.Ю. с соавт., 1999; Шинкевич В.И., Кайдашев И.П., 2012; Дурново Е.А., 2007). Частота воспалительных осложнений в послеоперационном периоде лечения одонтогенных кист, по данным В.А. Сёмкина с соавт. (2017), достигает 12 % (Сёмкин В.А., Измайлова З.М., Колотиков П.А., 2017). При костной аутопластике лицевых дефектов, имеющих патологическое сообщение с полостями околоносовых пазух, носа и рта, инфекционно-воспалительные осложнения наблюдаются у 92 % больных (Митрошенков П.Н., 2007).

Анатомические структуры челюстно-лицевой области сложны по тканевому составу, что значительно затрудняет процесс их восстановления, в том числе с помощью методов тканевой инженерии. Например, для полноценного восстановления периодонта требуется одновременно регенерировать альвеолярную кость, цемент и периодонтальную связку. Для восстановления височно-нижнечелюстного сустава требуется сформировать кость и хрящ, причем не в отдельности, а в тонкой конфигурации, повторяющей природный образец и обеспечивающей механическую функцию органа (Mao J.J. et al., 2006; Scheller E.L., Krebsbach P.H., Kohn D.H., 2009).

1.3. Обоснование биологического (биомиметического) подхода к проблеме регенерации костной ткани

В хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии часто возникает необходимость замещения костных дефектов как малого, так и большого размера. В ряде случаев применяющиеся в клинической практике стандартные методы костной пластики не способны оптимально восстановить целостность поврежденных костей в связи с анатомо-физиологическими особенностями и/или приобретенным явлением «остеогенной недостаточности», что определяет необходимость разработки и использования новых костнопластических методов.

Понимание естественной биологии костной ткани создает теоретическую основу для разработки новых технологий хирургического восстановления кости. В изучение репаративного гистоостеогенеза большой вклад внесли отечественные ученые: А.В. Румянцев, С.И. Щелкунов, А.Г. Кнорре, Н.Г. Хрущов, А.А. Клишов, Р.К. Данилов и другие (Клишов А.А., 1984; Лаврищева Г.И., Оноприенко Г.А., 1996; Данилов Р.К., 2004). По мнению Р.К. Данилова (2007), «познание естественных гистогенетических потенций клеток и тканей – оптимальный путь решения многих проблем управляемого гистогенеза, в том числе при повреждении тканей» (Данилов Р.К., 2007).

Развитие и функционирование челюстно-лицевого скелета в течение всей жизни индивида обеспечивается процессами роста, моделирования (формообразования), ремоделирования и репарации. Ниже представлен краткий обзор механизмов формирования кости в эмбриогенезе и при заживлении переломов.

Эмбриональный гистогенез, по определению А.А. Клишова (1984), это «комплекс координированных во времени и пространстве процессов пролиферации, клеточного роста, миграции, межклеточных взаимодействий,

дифференциации, детерминации, программированной гибели клеток и некоторых других». Все вышеназванные процессы в той или иной мере наблюдаются и в репаративном гистогенезе, составляя основу проявления восстановительных потенций при повреждении ткани (Клишов А.А., 1984).

Различают два способа образования кости в процессе эмбриогенеза. При интрамембранном способе процессы окостенения происходят путем непосредственной минерализации мезенхимальной ткани. Клетки мезенхимальной ткани получают сигналы для начала дифференцировки в остеобласты. Такой способ остеогенеза наиболее характерен для формирования костей черепа. Так образуются лобные, теменные, височные и носовые кости, верхняя и нижняя челюсти. В процессе энхондрального остеогенеза мезенхимальные клетки дифференцируются, формируя хрящевой зачаток. В хрящевой ткани происходит гипертрофия хондроцитов, минерализация матрикса и в итоге – замена на дифференцированные клетки кости. Резорбция и замещение минерализованного хряща обеспечиваются внедрением в структуру хрящевого зачатка остеокластов и кровеносных сосудов. Дальнейшая минерализация матрикса и дифференцировка проникших в хрящевой зачаток остеогенных клеток приводят к образованию костной ткани. Этот механизм лежит в основе образования длинных трубчатых костей, а в составе черепа так образуются носовая перегородка, часть комплекса носовых костей, затылочная кость в области основания черепа и нижнечелюстного сустава (Синельников Р.Д., Синельников Я.Р., 1989).

По мнению ряда исследователей, вышеописанные особенности эмбрионального остеогистогенеза необходимо учитывать при разработке методов восстановления черепно-челюстно-лицевых костей, т.к. при этом может потребоваться применение подходов, отличных от используемых при регенерации трубчатых костей. Это представление поддерживается выявленными различиями в реакции остеобластов на механические и молекулярные сигналы в зависимости от их происхождения (Uddstromer L., Ritsila V., 1979; Allen M.R., Hock J.M., Burr D.B., 2004; Mao J.J. et al., 2006).

Регенераторный остеогенез бывает физиологическим и репаративным. В процессе нормальной жизнедеятельности костная ткань подвергается постоянной физиологической регенерации, в результате чего адаптируется к изменяющимся условиям «внешнего механического поля», поддерживает свои механические свойства и непрерывно обновляется со скоростью от 2 до 10 % в год (Воложин А.И. с соавт., 2005; De Baat P., Heijboer M.P., De Baat C., 2005).

При повреждении запускаются процессы репаративной регенерации, направленные на заживление перелома и восстановление анатомической целостности кости. Репаративный остеогенез наиболее интересен с точки зрения биомиметики, т.е. изучения закономерностей заживления костной раны для последующего их копирования при разработке новых биотехнологических методов восстановления кости (Glowacki J. et al., 1981).

Изучению вопросов репаративной регенерации кости посвящено большое количество работ отечественных и зарубежных авторов (Корж А.А., Белоус А.М., Панков Е.Я., 1972; Виноградова Т.П., 1974; Лаврищева Г.И., Оноприенко Г.А., 1996; Иорданишвили А.К., Гололобов А.К., 2002; Гололобов В.Г., Деев Р.В., 2003; Афанасьев В.В., 2010; Швырков М.Б., 2012; Усиков Д.В. с соавт., 2014; Reddi A.H., 1998; Oppenheimer A.J., Mesa J., Buchman S.R., 2012). На основании литературных данных процесс остеорепарации в наиболее общих чертах можно представить следующим образом. В первые дни после травмы в области перелома развивается воспалительный процесс. Из сгустков крови и поврежденных тканей выходят биологические активные вещества, под влиянием которых повышается проницаемость микроциркуляторного русла, в окружающие ткани проникает богатый белками транссудат и начинается миграция лейкоцитов. Примерно через сутки реакция нейтрофилов уменьшается и им на смену приходят лимфоциты и макрофаги.

На втором этапе под воздействием клеток воспаления в прилежащих мягких тканях усиливается пролиферация фибробластов и других клеток.

Костные отломки подвергаются резорбции с высвобождением остеоиндукторов – костных морфогенетических белков (КМБ), которые влияют на индуцибельную систему мезенхимальных мультипотентных клеток, в которую входят клетки периоста, эндоста, костного мозга и перициты (Reddi A.H., 1998). Эти клетки превращаются в преостеобласты, которые в результате пролиферации создают огромное количество остеобластов. Построение новой кости начинается с синтеза остеобластами коллагенового матрикса (Reddi A.H., 1975). Создавая внеклеточный костный матрикс, остеобласты синтезируют не только коллаген и гликозаминогликаны, но и неколлагеновые белки, в том числе факторы роста, остеоонектин и остеокальцин.

Остеонектин запускает следующий этап остеогенеза – минерализацию органического матрикса кости. В результате этого процесса остеобласты замуровываются в кость и превращаются в остеоциты.

Остеокальцин стимулирует миграцию и активацию остеокластов на заключительном этапе репаративной регенерации. Остеокласты, резорбируя кость, высвобождают КМБ, которые стимулируют остеогенез.

В дальнейшем происходит ремоделирование сосудистого и костного компонентов, завершается построение остеонов и придание новообразованной кости органоспецифической архитектоники. Заживление перелома путем каскадной дифференциации ткани с образованием грубоволокнистой кости и пластинчатой кости наиболее часто встречается в мозговом и лицевом черепе (Friedman C.D., 2007). При подвижности отломков, большом диастазе между краями кости процесс заживления затягивается и идет через образование хрящевой мозоли.

На клеточно-молекулярном уровне механизмы физиологической и репаративной регенерации во многом схожи. В основе лежит высоко скоординированный процесс ремоделирования костной ткани, который обеспечивает замещение поврежденного участка и сохранение структурной

целостности костного органа. Резорбция и костеобразование происходят последовательно и требуют синхронизированной активности многих клеток, включая остеокласты, остеобласты, остеоциты, активные мезенхимальные клетки и некоторые иммунные клетки.

Остеокласты – гигантские многоядерные клетки, образуются путем дифференцировки макрофагально-моноцитарных клеток костного мозга с развитием уникальной способности к резорбции минерализованного костного матрикса. Остеокласты отличаются высокой концентрацией лизосом, содержащих набор кислых гидролаз для расщепления макромолекул остеоида. Характеризуются высокой активностью H^+ -АТФ-азы, карбоангидразы, а также способностью выделять в среду тартрат-резистентную кислую фосфатазу (Камилов Ф.Х., Фаршатова Е.Р., Еникеев Д.А., 2014). Макрофагальный колоний-стимулирующий фактор CSF-1 (colony-stimulating factor) и RANKL (receptor activator of NF- κ B ligand) являются основными цитокинами, регулирующими экспансию и дифференцировку клеток-предшественниц остеокластов (Raggatt L.J., Partridge N.C., 2010). В экспериментах *in vivo* потеря активности CSF-1 и RANKL приводит к полному отсутствию остеокластов и остеопетрификации (Kong Y.Y. et al., 1999). Остеопротегерин (osteoprotegerin, OPG) является растворимым рецептором для RANKL и обратным регулятором остеокластогенеза. Отключение функции OPG у экспериментальных животных ведет к избыточному остеокластогенезу с выраженным остеопорозом. В настоящее время считается, что соотношение экспрессии RANKL/OPG определяет степень дифференцировки остеокластов и их функцию (Jabbar S. et al., 2011).

Остеобласты являются специализированными костеобразующими клетками, которые играют важную роль в ремоделировании кости: экспрессируют остеокластогенные факторы, продуцируют белки костного матрикса и участвуют в минерализации костной ткани (Karsenty G., 2008).

Остеобласты представляют собой популяцию клеток разной степени дифференцировки, включая линию незрелых клеток, дифференцирующихся и зрелых, продуцирующих матрикс. Степень дифференцировки влияет на функциональный вклад клеток в ремоделирование кости. Показано, что незрелые остеобласты управляют остеокластогенезом, в то время как зрелые остеобласты обеспечивают продукцию матрикса и минерализацию (Raggatt L.J., Partridge N.C., 2010). Остеобласты развиваются из мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток. Дифференцировка остеобластов контролируется фактором транскрипции RUNX2 (runt-related transcription factor 2), также известном как CBF A1 (core-binding factor A1) (Franceschi R.T. et al., 2003; Komori T., 2017).

В процессе формирования кости остеобласты окружаются минерализующимся матриксом и подвергаются конечной дифференцировке в клетки, называемые остеоид-остеоцитами. По мере минерализации костного матрикса клетки замуровываются полностью и становятся остеоцитами, лежащими в заполненных жидкостью ячейках – лакунах. В количественном соотношении остеоциты составляют 90–95 % всех клеток кости (Bonewald L.F., 2007). Остеоциты, подобно дендритам нейронов, формируют сетчатую структуру в каналцах минерализованной матрицы. Этим обеспечивается взаимодействие остеоцитов между собой, а также контакт со структурами на поверхности кости (Kamioka H., Nonjo T., Takano-Yamamoto T., 2001). Остеоциты отвечают за механическую прочность кости, их сеть формирует остеоархитектонику в соответствии с механическим напряжением и микроповреждениями, которые накапливаются в процессе естественной скелетной нагрузки (Verborgt O. et al., 2002). Остеоциты инициируют и направляют процесс ремоделирования, который восстанавливает поврежденную кость.

T- и B-лимфоциты – главные компоненты адаптивной иммунной системы, также участвуют в поддержании костного гомеостаза.

В экспериментах *in vivo* блокирование Т- и В-лимфоцитов приводит к выраженному остеопорозу (Li Y. et al., 2007). В-лимфоциты продуцируют более 50 % общего костномозгового остеопротегерина (OPG) – основного фактора супрессии формирования остеокластов и резорбции кости. Есть данные, что Т-клетки работают кооперативно с В-клетками и увеличивают продукцию OPG посредством стимуляции рецепторов CD40/CD40L (Li Y. et al., 2007).

Резидентные тканевые макрофаги находятся в контакте со зрелыми матрикс-продуцирующими остеобластами на участке ремоделирования кости. В исследованиях *in vivo* установлено, что дефицит макрофагов приводит к полной потере эндостальных остеобластов, что говорит о важной их роли в поддержании пула остеогенных клеток (Chang M.K. et al., 2008).

Ремоделирование кости выполняется кооперацией резорбирующей кость остеокластов и формирующей кость остеобластов, расположенных в пределах временных анатомических структур, называемых «базовыми многоклеточными единицами» (basic multicellular units – BMUs). BMU представляет собой купол или навес из клеток, который ограничивает остеоремоделирующий компартмент на поверхности кости (Hauge E.M. et al., 2001). Эта уникальная пространственная и временная кооперация клеток необходима для обеспечения координации последовательных стадий ремоделирующего процесса: активации, резорбции, реверсии, формирования и завершения.

Стадия активации. Первая стадия ремоделирования кости включает детекцию иницирующего сигнала. Этот сигнал может иметь несколько форм, включая прямое механическое напряжение кости с повреждением ее структуры и гормональную активацию (эстрогенами или паратиреоидными гормонами) в ответ на системные изменения в гомеостазе. Повреждение костного матрикса приводит к апоптозу остеоцитов и активации остеокластогенеза. В спокойном состоянии остеоциты секретируют трансформирующий фактор роста β (TGF- β), который ингибирует остеокластогенез. Апоптоз остеоцитов ведет к снижению локального уровня

TGF- β , что отключает ингибирующие сигналы и стимулирует процесс формирования остеокластов (Heino T.J., Hentunen T.A., Vaananen H.K., 2002). Остеобласты в ответ на сигналы, генерированные остеоцитами, рекрутируют предшественников остеокластов в участок ремоделирования. Экспрессия остеопротегерина (OPG) снижается, а CSF-1 и RANKL, напротив, увеличивается, что способствует формированию остеокластов и их последующую активность.

CSF-1 и RANKL работают в кооперации; CSF-1 способствует пролиферации и выживанию предшественников остеокластов и управляет распространением, подвижностью и цитоскелетной организацией зрелых клеток. RANKL также вызывает пролиферацию предшественников остеокластов и дополнительно координирует их дифференцировку в многоклеточные остеокласты, способствует их резорбционной активности, продлевает жизнь зрелых клеток (Raggatt L.J., Partridge N.C., 2010). Матриксные металлопротеиназы секретируются остеобластами в ответ на ремоделирующие сигналы и деградируют неминерализованный остеоид на поверхности кости, обнажая RGD-локусы адгезии, которые необходимы для прикрепления остеокластов (Yang C.M. et al., 2004).

Стадия резорбции. Остеокласты прикрепляются к RGD-локусам посредством молекул адгезии β -интегрин и создают изолированное микроокружение под клеткой, известное как «запечатанная зона». Ионы водорода протонной помпой закачиваются в «запечатанную зону» и начинается растворение минерализованного матрикса, формируются резорбтивные лакуны Хоушипа (Teitelbaum S.L., 2000).

Стадия реверсии. После завершения остеокластической резорбции, лакуны Хоушипа остаются покрытыми непереверенным деминерализованным матриксом. Мононуклеарные реверсивные клетки удаляют эти остатки коллагена и подготавливают поверхность для последующего формирования новой кости остеобластами. На основе морфологического анализа

предполагали, что реверсивные клетки являются моноцитными макрофагами (Tran Van P., Vignery A., Baron R., 1982). Позже появились сообщения, что эти клетки относятся к остеобластной линии, учитывая позитивную экспрессию щелочной фосфатазы и отсутствие маркера моноцитных макрофагов МОМА-2 (monocyte + macrophage antibody-2) (Everts V. et al., 2002).

Стадия формирования. Природа сигнала, который координирует переход от стадии реверсии к стадии формирования, остается дискуссионной. Предполагалось, что сигнальные молекулы находятся в костном матриксе и освобождаются в процессе его резорбции (Tang Y. et al., 2009). Позже появились доказательства, что служащие сигналом факторы продуцируются остеобластами (Martin T.J., Sims N.A., 2005). В настоящее время рассматриваются несколько возможных механизмов, включая растворимые молекулы сфингозин-монофосфата (sphingosine 1-phosphate) и двунаправленный сигнальный комплекс EphB4·ephrin-B2 (cell-anchored EphB4·ephrin-B2 bidirectional signaling complex). Сфингозин-монофосфат секретируется остеокластами, индуцирует рекрутинг предшественников остеобластов и способствует выживанию зрелых остеобластов. Рецепторы EphB4 экспрессируются на остеобластах, тогда как остеокласты экспрессируют лиганд ephrin-B2. При связывании лиганда с рецептором в остеобластах увеличивается остеогенная дифференцировка, а обратный сигнал подавляет в предшественниках остеокластов дифференцировку путем ингибирования остеокластогенного каскада c-Fos/NFATc1. Этот сигнальный комплекс обеспечивает синхронность активации формирования кости и ингибирования костной резорбции в момент смены стадий ремоделирующего процесса (Raggatt L.J., Partridge N.C., 2010).

Механические стимулы могут трансформироваться в биохимический сигнал к формированию кости остеоцитами. В спокойном состоянии остеоциты экспрессируют склеростин (sclerostin) – растворимую молекулу, которая связывается с LRP5/6 (low density lipoprotein receptor-related

protein-5/6) и прямо блокирует Wnt-сигналинг, индуктор костного формирования. Механическое повреждение кости ингибирует экспрессию остеоклестами склеростина, отменяя этим ингибирование Wnt-сигналинга, и запускает формирование кости (Li X. et al., 2005; Robling A.G. et al., 2008).

В стадии формирования происходит апоптоз остеокластов и привлечение остеогенных клеток. Хемотаксису преостеобластов и остеобластов способствуют остеокальцин, трансформирующий фактор роста β (TGF- β) и фрагменты коллагена I типа (Камилов Ф.Х., Фаршатова Е.Р., Еникеев Д.А., 2014). Две категории факторов влияют на дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток в остеобласты – химические сигналы и физическое напряжение цитоскелета клеток, которое активирует сигнальные пути (Захаров Ю.М., 2013). Важнейшими регуляторами остеогенной дифференциации являются факторы роста: костные морфогенетические белки, инсулиноподобный фактор роста, факторы роста фибробластов, β -катенин и др. (Захаров Ю.М., 2013; Komori T., 2017). Механическая активация остеогенных клеток осуществляется посредством связи β 1-интегринов клеточной поверхности с белками внеклеточного матрикса (коллаген, ламинин, фибронектин и др.), рецепцией напряжения внутриклеточными актином и миозином с включением сигнальной передачи к ядру клетки, вызывающей экспрессию транскрипционного фактора c-Fos и рост продукции инсулиноподобного фактора роста, интерлейкина-8, простагландинов, стимулирующих остеогенез (Захаров Ю.М., 2013).

Мезенхимальные стволовые клетки и ранние предшественники остеобластов попадают в резорбционную лауну, дифференцируются в остеобласты и секретируют молекулы, которые формируют замещающую костную ткань. Коллаген I типа является основным органическим компонентом кости. Неколлагеновые белки, включая протеогликаны, гликозилированные белки, малые интегрин-связанные лигандные белки, G₁-содержащие белки и липиды составляют оставшуюся часть органического материала кости (Камилов Ф.Х., Фаршатова Е.Р., Еникеев Д.А., 2014).

Остеоид через 10–15 суток начинает минерализовываться. Точный механизм этого процесса изучается. Известно, что щелочная фосфатаза, нуклеотидная пирофосфатаза/фосфодиэстераза и протеин прогрессирующего анкилоза (ANK) способствуют созданию оптимальной внеклеточной концентрации неорганического фосфата (Kim H.J. et al., 2010).

Стадия завершения. Когда резорбированный участок кости полностью замещается, цикл ремоделирования заканчивается. Наиболее вероятным сигналом для завершения процесса ремоделирования служит возобновление экспрессии остеоцитами склеростина (Raggatt L.J., Partridge N.C., 2010).

Таким образом, формирование, развитие и ремоделирование костной ткани осуществляется сложным взаимодействием ряда клеточных форм и регуляторных молекул, воздействие на которые может служить основой для разработки новых способов восстановительной хирургии челюстно-лицевой области.

1.4. Регенеративные и тканеинженерные технологии восстановления кости: методологические основы

Современный биомиметический подход, основанный на понимании и использовании (имитации) естественных законов развития и функционирования биологических систем, значительно расширил возможности направленной регенерации тканей, делая ее более управляемой, предсказуемой и эффективной (Хлусов И.А. с соавт., 2011; Glowacki J. et al., 1981; Scheller E.L., Krebsbach P.H., Kohn D.H., 2009). В последнее десятилетие существенных успехов достигла тканевая инженерия кости (Баласанова К.В., Золотопуп Н.М., Елистратов П.А., 2012; Люндуп А.В. с соавт., 2013; Байдик О.Д., Титаренко М.А., Сысолятин П.Г., 2015; Scheller E.L., Krebsbach P.H., Kohn D.H., 2009; Ueyama Y. et al., 2016; Fang D. et al., 2017; Kakabadze A. et al., 2017; Maglione M. et al., 2017; Scarano A. et al.,

2017; Shan X., Hu D., 2017; Colangeli W. et al., 2018; Mu S. et al., 2018), периодонта (Грудянов А.И., 2012; Бармашева А.А., Николаенко Н.С., Самусенко И.А., 2013; Мирошниченко В.В., Урамаева А.В., 2018; Li H. et al., 2009; Duan X. et al., 2011; Tobita M. et al., 2013; Aimetti M. et al., 2014; Han J. et al., 2014; Monsarrat P. et al., 2014), дентальных структур (Мальшев И.Ю., Янушевич О.О., 2017; Feng R., Lengner C., 2013; Iohara K. et al., 2013; Nakashima M., Iohara K., 2014), а также височно-нижнечелюстного сустава (Дюрягин Н.М. с соавт., 2014; Brown V.N. et al., 2012; Shu W. et al., 2015; Wang F. et al., 2017; Helgeland E. et al., 2018; Van Bellinghen X. et al., 2018) путем комбинации биоматериалов, стволовых клеток и рекомбинантных факторов роста. Однако результаты исследований эффективности и безопасности применения этих подходов не всегда однозначны. Кроме того, существует значительная проблема адаптации экспериментального опыта к нуждам и возможностям клинической практики.

Одним из перспективных направлений развития восстановительной хирургии челюстно-лицевой области является внедрение регенеративных и тканеинженерных технологий с применением стволовых/стромальных клеток (Баласанова К.В., Золотопуп Н.М., Елистратов П.А., 2012; Люндуп А.В. с соавт., 2013; Еремин И.И. с соавт., 2015; Решетов И.В. с соавт., 2016; Семенов М.Г., Степанова Ю.В., Трощиева Д.О., 2016; Мирошниченко В.В., Урамаева А.В., 2018; Fishero V.A. et al., 2015; Jazayeri H.E. et al., 2017; Colangeli W. et al., 2018).

Метод стимуляции регенерации поврежденных тканей и органов, основанный на трансплантации живых клеток, называют клеточной терапией. Наряду с теми областями медицины, в которых трансплантация клеток уже прочно вошла в практику (например, онкогематология), этот подход все шире применяется в кардиологии, травматологии, артрологии и многих других сферах. Сформировалось новое направление медицины – регенеративная или стимулирующая хирургия.

Рассматриваются три основных механизма действия трансплантированных клеток:

- 1) непосредственная дифференцировка в коммитированные клетки поврежденных тканей;
- 2) паракринная регуляция морфофункциональной активности резидентных клеток за счет выделения биологически активных субстанций, оптимизирующих репаративный гистогенез;
- 3) неспецифическая стимуляция регенеративных процессов за счет иммунной реакции организма на введение чужеродного белка (Владимирская Е.Б. с соавт., 2005; Kan I., Melamed E., Offen D., 2005; Knight M.N., Hankenson K.D., 2013; Amable P.R. et al., 2014).

При этом механизмы действия клеточной терапии и возможности восстановления структуры и функции в каждом конкретном случае нуждаются в изучении.

Тканевая инженерия – создание трехмерных тканевых структур – представляет собой наиболее перспективную стратегию регенеративной медицины, основанную на последних достижениях фундаментальной науки, клинических дисциплин и инженерных технологий. В соответствии с принципами биомиметики, три компонента ткани – клетки, внеклеточный матрикс и система сигналинга – находятся в «зоне интереса» и являются потенциальными объектами манипулирования в тканевой инженерии. Исходя из этого, для практической реализации задач по построению биологических тканей необходима идентификация источников клеток, подходящих носителей для них, а также обеспечение адекватными пространственными и временными сигналами, необходимыми для управления этими процессами. Каждый из компонентов этой триады представляет отдельную стратегию в тканевой инженерии: клеточную трансплантацию, кондукцию и индукцию соответственно (Spector M., 1999; Shrivats A.R., McDermott M.C., Hollinger J.O., 2014).

В большинстве сообщений о разработке новых регенеративных и тканеинженерных подходов приводятся результаты применения стволовых клеток. При этом основополагающее понятие отрасли клеточных технологий – «стволовая клетка» – имеет неоднозначную трактовку и требует уточнения. Согласно учению о клеточно-дифференной организации тканей, стволовыми могут называться только исходные клетки гистогенетического ряда: самоподдерживающаяся, т.е. способная к делению неограниченное количество раз, популяция клеток, которая в определенных условиях микроокружения может дифференцироваться в разных направлениях. В отличие от них полустволовые клетки-предшественники (коммитированные, прогениторные), составляющие следующую часть гистогенетического ряда, способны пройти лишь несколько циклов деления с последующей дифференцировкой только в один преобладающий тип клеток (Хрущов Н.Г., 1991). Именно такие малодифференцированные клетки, способные давать несколько поколений более дифференцированных клеток-потомков, в научной литературе часто называют стволовыми. Таким образом, с точки зрения широкого определения объекта клеточных технологий термин «стволовая клетка» имеет более широкую трактовку – «любая недифференцированная или малодифференцированная клетка, которая способна поддерживать собственную популяцию и продуцировать, по крайней мере, один тип коммитированных клеток-предшественников» (Терминология, используемая в практике клеточных технологий, КТТИ, 2007).

На 4–5-й день развития эмбриона из внутренней клеточной массы бластоцисты можно выделить эмбриональные стволовые клетки (ЭСК), которые обладают плюрипотентностью, т.е. способны дифференцироваться в любую специализированную клетку взрослого организма. В настоящее время с ЭСК выполнено большое количество экспериментальных исследований с весьма обнадеживающими результатами. Высокие пластические свойства вместе с низкой экспрессией антигенов гистосовместимости делают эти

клетки интересными для серийного воспроизводства и использования в тканевой инженерии (Wobus A.M., Boheler K.R., 2005). Некоторые клеточные линии в культуре удавалось поддерживать в течение 2 лет, при этом культуры проходили до 450 циклов самоудвоения без признаков анеуплоидии и малигнизации (Репин В.С., Ржанинова А.А., Шаменков Д.А., 2002). Вместе с тем имеются результаты исследований, ставящие под сомнение ближайшие перспективы клинического применения ЭСК. Данные, полученные в работе Т.Т. Глазко (2010), свидетельствуют о генетической нестабильности ЭСК в культуральных условиях с тенденцией к изменению хромосомного баланса в сторону увеличения копийности хромосом, несущих гены активации клеточной пролиферации (Глазко Т.Т., 2010). В экспериментах *in vivo* с трансплантацией ЭСК человека не удавалось получить костную ткань (Кузнецов С.А. с соавт., 2010). Во многих странах исследования ЭСК ограничены законодательством.

Фетальные стволовые клетки, которые получают из абортивного материала со сроком гестации 9–12 недель, обладают сходными с ЭСК свойствами (Zhang Z.Y. et al., 2009). Изучение и использование такого биоматериала также требует решения ряда этических вопросов.

В тканях взрослого организма присутствует несколько видов стволовых клеток, которые имеют ограниченный дифференцировочный потенциал по сравнению с плюрипотентными эмбриональными стволовыми клетками, но отсутствие этических проблем значительно облегчает их исследование и применение. Для регенерации соединительных тканей наибольший интерес представляют мезенхимальные стволовые клетки (МСК) – недифференцированные клетки сформировавшегося плода и взрослого организма, способные к самообновлению и дифференцировке в клетки мезенхимального происхождения: остеобласты, хондроциты, фибробласты, тендоциты, миоциты, кардиомиоциты, адипоциты и др. Тканевой нишей данного вида стволовых клеток является

соединительнотканная основа (строма) костного мозга, жировой ткани, паренхиматозных и трубчатых органов (Сухих Т.Г. с соавт., 2002; Caplan A.I., 1991; Mauney J.R., Volloch V., Kaplan D.L., 2005; Meirelles L.S., Nardi N.B., 2009).

Учитывая трудности морфологической верификации и выявления четких различий между истинными МСК и клетками-предшественниками, специалистами предложен и широко используется обобщающий термин «мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки» (ММСК) – «гетерогенная популяция клеток стромы костного мозга и некоторых иных источников, способная к дифференцировке в клетки, имеющие мезенхимальное происхождение, а также в особых условиях *in vitro* – в клетки эктодермального и энтодермального фенотипа» (Терминология, используемая в практике клеточных технологий, КТТМ, 2007). В состав популяции ММСК могут входить клетки разной степени дифференцировки: как истинные покоящиеся МСК, так и ранние предшественники специализированных клеток (коммитированные, прогениторные клетки). Считаю целесообразным использовать данную терминологию в своей работе.

В течение последних десятилетий мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки костного мозга (ММСК-КМ) являются объектом пристального внимания исследователей (Шубич М.Г., 2001; Мамонов В.Е. с соавт., 2010; Kuznetsov A., Robey P.G., 2000; Bianco P. et al., 2001). Эти клетки представляют собой привлекательный ресурс для применения в регенеративной хирургии и тканевой инженерии благодаря способности размножаться в культуре и дифференцироваться по множественным клеточным линиям (Pittenger M.F. et al., 1999). Доля ММСК в костном мозге не превышает 0,01–0,001 %, и с возрастом их количество уменьшается. Так, если у новорожденного одна ММСК приходится на 10 тыс. клеток костного мозга, то в 50 лет – на 400 тыс. клеток, а в 80 лет – на 1–2 млн клеток (Pittenger M.F. et al., 1999). Важная особенность этих клеток – рост культуры

клонами, которые удается многократно пассировать и получать миллионы генетически однородных прогениторных мультипотентных клеток. Они сохраняют маркеры слабо дифференцированных клеток (SH2, SH3, коллаген I и III типа, фибронектин, рецепторы адгезии VCAM и ICAM, кадгерин, CD44+, CD71+, CD90+, CD120a+, CD124+) и не имеют антигенов кроветворной клетки (CD34-, CD14-, CD45-). За 2–3 пассажа удается нарастить от 50 до 300 млн незрелых клеток. В зависимости от условий микроокружения *in vitro* и *in vivo* (состав культуральной среды, напряжение кислорода, межклеточные взаимодействия и др.) эти клетки способны дифференцироваться по нескольким направлениям – остео-, хондро- и адипогенному (Pittenger M.F. et al., 1999). Например, до 95 % адипоцитов возникают из ММСК-КМ при добавлении в среду культивирования трех сигналов: изобутил-1-метилксантина, дексаметазона и индометацина. Из того же пула клеток с помощью трансформирующего фактора роста β (TGF- β) получают однородную популяцию хрящевых клеток. Клетки костной ткани образуются из той же культуры с помощью трех сигналов: β -глицерофосфата, аскорбиновой кислоты и дексаметазона (Pittenger M.F. et al., 1999; Minguell J.J., Erices A., Conget P., 2001).

Изучена способность ММСК-КМ регенерировать кость как в исследованиях по установлению молекулярных и клеточных механизмов остеогенеза, так и в ходе разработки способов лечения, основанных на использовании клеточных технологий (Осепян И.А., Чайлахян Р.К., Гарибян Е.С., 1987; Фатхудинов Т.Х., Гольдштейн Д.В., Григорьян А.С., 2005; Лосев В.Ф., 2009; Мамонов В.Е. с соавт., 2010; Майборodin И.В. с соавт., 2012; Ohgushi H., 2014).

Однако остается нерешенным ряд принципиальных вопросов, что затрудняет внедрение данной технологии в практику. Для развития эффективных методов лечения с использованием культуры ММСК-КМ критической является проблема поддержания стабильных характеристик

клеточных клонов *in vitro* (Sonoyama W. et al., 2005). Есть данные, что традиционные методы культивирования ограничивают клиническую ценность клеток из-за постепенной потери ими пролиферативного и дифференцировочного потенциалов (Boguest A.C. et al., 2005; Bonab M.M. et al., 2006; Di Battista J.A. et al., 2014; Wang X. et al., 2015), при пассировании появляются трансформированные клетки, способные к канцерогенезу *in vivo* (Wang Y. et al., 2005). Кроме этого, сама процедура эксплантации костного мозга болезненна и не может по степени риска превосходить основное заболевание (Auquier P. et al., 1995; Nishimori M. et al., 2002).

Значительный практический интерес вызывает использование в регенеративных целях готового клеточного материала, что избавляло бы пациента от инвазивной процедуры по забору ткани-донора стволовых клеток, а также исключало потерю времени на размножение собственных клеток до терапевтической дозы. В настоящее время в мире растет число биотехнологических компаний, занимающихся производством и реализацией аллогенных клеточных продуктов (Зорин В.Л., Зорина А.И., Черкасов В.Р., 2009). Однако эффективность применения и механизм действия аллогенных клеток нуждаются в уточнении. Немаловажным сдерживающим фактором внедрения коммерческих клеточных продуктов является их высокая стоимость. Кроме того, сохраняют актуальность вопросы контроля качества и биологической безопасности продукции, выпускаемой лабораториями клеточных технологий (Жукоцкий А.В., Мелерзанов А.В., 2010; ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах» от 23.06.2016 № 180-ФЗ).

В настоящее время разработаны различные биоматериалы для использования в качестве носителя клеток, которые, как внеклеточный матрикс, способны поддерживать клеточное прикрепление (кондукцию), а в некоторых случаях и обеспечение сигналов, необходимых для построения новой ткани (индукцию). Особенности строения каждой воспроизводимой ткани или органа диктуют свои требования к материалу, из которого

готовится засеваемый клетками каркас тканеинженерной конструкции, т.н. скаффолд (scaffold). Например, для регенерации костей скаффолд, по мнению специалистов, должен иметь следующие характеристики: высокопористая структура с сообщающейся системой пор, способствующей диффузии жизнеобеспечивающих клетку веществ и прогрессивному клеточно-тканевому росту; биорезорбируемый материал с контролируемой скоростью элиминации, соответствующей темпу развития ткани; химический состав поверхности, поддерживающий прикрепление клеток, их пролиферацию и дифференцировку. Механические свойства скаффолда должны обеспечить сохранение опорной функции кости на время заживления. Геометрия тканеинженерной конструкции определяет размер и форму будущего регенерата, и поэтому материал носителя должен легко обрабатываться и подгоняться по размеру дефекта (Деев Р.В. с соавт., 2011; Решетов И.В. с соавт., 2016; Lutolf M.P., Hubbell J.A., 2005; Shakya A.K., Kandalam U., 2017).

Проведено тестирование материалов на основе производного природного полимера хитина – хитозана (Гурин А.Н. с соавт., 2014; Яременко А.И. с соавт., 2016; Im S.Y. et al., 2003), ортофосфатов кальция – гидроксиапатита и трикальций фосфата (Гурин А.Н. с соавт., 2012; Wang L. et al., 2010), синтетических биорезорбируемых полимеров – полилактида, полигликолида, полилактогликолида (Кулаков А.А., Григорьян А.С., 2014; Jager M. et al., 2005), деминерализованных костных аллотрансплантатов (Щепкина Е.А. с соавт., 2010; Mauney J.R. et al., 2005); коллагеновой губки (Carstens M.H., Chin M., Li X.J., 2005; Jager M. et al., 2005), полиэфиров (Шишацкая Е.И., Волова Т.Г., 2010). Каждый из перечисленных материалов имеет свои преимущества и недостатки, и на сегодняшний день среди специалистов нет единого мнения относительно «идеального» носителя клеток для тканевой инженерии кости.

Для инженерии хрящевой ткани использовались скаффолды из альгинатного гидрогеля (Петренко А.Ю. с соавт., 2010; Caterson E.J. et al.,

2001), полимолочной кислоты (Noth U. et al., 2002), фибринового сгустка (Жур К.В. с соавт., 2010).

Общепризнано, что для воссоздания биологической ткани клетки должны быть обеспечены соответствующими пространственными и временными сигналами, обеспечивающими их рост, тканеспецифическую дифференцировку, а также синтез достаточного по объему и функционально полноценного внеклеточного матрикса. Гормонами, регулирующими активность клеток, являются факторы роста, которые могут стимулировать или ингибировать клеточную пролиферацию, дифференцировку, миграцию, адгезию, апоптоз и экспрессию генов (Mitchell A.C. et al., 2016). К настоящему времени многие факторы идентифицированы как стимуляторы остеогенеза с потенциалом применения в тканевой инженерии костей: костные морфогенетические белки (Чеканов А.В. с соавт., 2010; Azari K. et al., 2002), трансформирующий фактор роста β (Massague J., Wotton D., 2000; Lai C.F., Cheng S.L., 2002), фактор роста фибробластов (Mansukhani A. et al., 2000), инсулиноподобный фактор роста (Nixon A.J. et al., 2000), тромбоцитарный фактор роста (Canalis E. et al., 1989) и некоторые другие. Большинство из них находится только на стадии разработки, а некоторые уже нашли практическое применение.

В стоматологии для улучшения регенерации костной ткани локально используют обогащенную тромбоцитами плазму (platelet-rich plasma – PRP), что, по сути, представляет собой способ доставки тромбоцитарных факторов роста в высокой концентрации в область костного дефекта (Иванов П.Ю., Журавлев В.П., Макеев О.Г., 2011; Garg A.K., 2000; Jalaluddin M. et al., 2018).

Перед применением ММСК могут подвергаться направленной преддифференцировке с помощью тех же стимулов, что применяют в экспериментах *in vitro* для демонстрации их мультилинейного потенциала. Например, для индукции остеогенеза используется DAG-обогащенная среда, содержащая дексаметазон, аскорбиновую кислоту и β -глицерофосфат

(Jager M. et al., 2005). Хондрогенная среда содержит инсулин и трансформирующий фактор роста β_1 (Ogawa R. et al., 2004).

Костные морфогенетические белки (КМБ) инициируют и поддерживают хондрогенез и остеогенез *in vitro*. Установлено, что 15-минутная экспозиция ММСК-ЖТ с КМБ-2 индуцирует остеогенный, а с КМБ-7 хондрогенный тип цитодифференцировки (Knippenberg M., 2006). КМБ-2 в комбинации с аскорбиновой кислотой способны индуцировать остеогенез в более короткие сроки, чем это происходит при использовании данного белка в комбинации с дексаметазоном (Volk S.W. et al., 2005). В модели на кроликах имплантация в сегментарный костный дефект тканеинженерного графта, состоящего из носителя полилактогликолида, засеянного 1 млн ММСК-КМ с добавлением 5 мг КМБ в качестве индуктора, давала лучшие результаты формирования кости в сравнении с результатами имплантации носителя с клетками без индуктора или только носителя (Hu J.J. et al., 2005).

Рекомбинантный КМБ-2 сегодня является доступным внеклеточным имплантатом под коммерческим наименованием INFUSE Bone Graft (Medtronic, США), в котором белок связан с резорбируемой коллагеновой губкой. В экспериментальных исследованиях показано, что такой имплантат превращает недифференцированные МСК в остеобласты и способствует неоваскулогенезу (Carstens M.H., Chin M., Li X.J., 2005). Проведены клинические испытания INFUSE Bone Graft в ортопедической и челюстно-лицевой хирургии (McKay W.F., Peckham S.M., Vadura J.M., 2007). Рекомбинантный КМБ-7 был тестирован при лечении длительно несрастающихся переломов трубчатых костей с обнадеживающим результатом (Kanakaris N.K. et al., 2008).

Однако, по мнению ряда исследователей, для широкого применения костных морфогенетических белков требуются более совершенный контроль доставки и полное понимание их биологической активности в кости и других тканях (Sfeir C. et al., 2005; Epstein N.E., 2013). Регенерация биологических

тканей у человека с помощью введения факторов роста требует большого количества рекомбинантного материала, что может быть нереалистичным при массивных дефектах (Sfeir C. et al., 2005). Кроме того, эффект возможен лишь при наличии достаточной популяции недифференцированных прогениторных клеток, способных отвечать на индукцию. Такая популяция может отсутствовать у возрастных или ослабленных пациентов, а также при других состояниях, сопровождающихся «остеогенной недостаточностью» (Деев Р.В. с соавт., 2007).

Таким образом, тканевая инженерия представляет собой прогрессивное направление биомедицинской науки, которое позволит эффективно преодолевать многие проблемы восстановительной хирургии челюстно-лицевой области. Однако остается нерешенным ряд принципиальных вопросов, что ограничивает внедрение результатов тканеинженерных разработок в рутинную клиническую практику и создает предпосылки к развитию альтернативных подходов (Деев Р.В., Дробышев А.Ю., Бозо И.Я., 2015).

1.5. Жировая ткань как перспективный источник клеточного материала для регенеративной медицины

Костномозговая ткань является классическим источником ММСК с установленными характеристиками и высоким регенераторным потенциалом. Тем не менее практическое использование ММСК-КМ для реализации клеточно-потенцированных хирургических технологий имеет существенные недостатки, включая высокую инвазивность процедуры получения ткани-донора и ограниченный объем клеточного материала. Поиск альтернативных источников стволовых/стромальных клеток, работа с которыми была бы лишена вышеуказанных недостатков, остается актуальной задачей.

Известно, что строма жировой ткани подобно ретикулярной ткани костного мозга является производной эмбриональной мезенхимы и играет

важную роль в поддержании стабильных морфофункциональных характеристик дефинитивного органа. Примерно 10 % популяции адипоцитов обновляется ежегодно за счет непрерывных процессов апоптоза и адипогенеза (Spalding K.L. et al., 2008). Учитывая мезенхимальное происхождение и значительный потенциал к самообновлению, легкую доступность и относительное обилие в теле человека, жировая ткань многими рассматривается как перспективный, клинически приемлемый ресурс ММСК (Трактюев Д.О. с соавт., 2006; Алексеева И.С. с соавт., 2012; Миланов Н.О. с соавт., 2014; Zuk P.A. et al., 2001; Gimble J.M. et al., 2007; Kokai L.E., Marra K., Rubin J.P., 2014).

В начале 2000-х гг. появились первые публикации о том, что из жировой ткани пациентов, полученной при косметической операции липосакции, выделена фракция пластик-адгезивных стромальных клеток, которые имеют фибробластоподобную морфологию и отвечают критериям стволовой клетки: способны к самоподдержанию популяции, клоногенному росту и дифференцировке в множественные типы специализированных клеток (Zuk P.A. et al., 2001; Mizuno H. et al., 2002). P. Zuk с соавт. (2002) с целью доказать присутствие стволовых клеток в жировой ткани культивировали выделенные из липоасpirата клетки (processed lipoaspirate cells) в специальных условиях при низкой плотности посева, чтобы было возможно проследить формирование колонии из единичной клетки (Zuk P.A. et al., 2002). Так были получены клоны клеток, способных к дифференцировке по любой из трех тканевых линий – костной, жировой или хрящевой. При изоляции и экспансии клеток сохранялись морфологические характеристики и профиль CD-маркеров. Авторы назвали эти клоногенные клетки «стволовыми клетками жировой ткани» (ADSCs – adipose derived stem cells) (Zuk P.A. et al., 2002).

При сравнительном изучении двух популяций ММСК, полученных из липоасpirата и из костного мозга одного и того же индивида, не обнаружено

значительных различий по количеству пластик-адгезивных клеток, кинетике роста и старения популяции, способности к мультилинейной дифференцировке (Мусина Р.А., Бекчанова Е.С., Сухих Г.Т., 2005; De Ugarte D.A. et al., 2003; Strioga M. et al., 2012; Helene V. et al., 2015). Клетки из этих двух источников имеют сходный профиль поверхностных маркеров (Lee R.H. et al., 2004).

Данные о количестве мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани (ММСК-ЖТ) противоречивы, и у разных авторов значения колеблются от 5 тысяч до 2 миллионов в 1 мл жира (Повещенко О.В. с соавт., 2008; Aust L. et al., 2004; Dragoo J.L. et al., 2005; Strem B.M. et al., 2005; Jurgens W.J. et al., 2008; Kamakura T., Ito K., 2011). Важно отметить, из одного грамма жировой ткани может быть выделено в 500 раз больше стволовых/стромальных клеток, чем из такого же объема костного мозга (Bora P., Majumdar A.S., 2017).

В работе С.Е. Волчкова с соавт. (2010) с целью определения оптимального тканевого источника для создания банка клеток исследованы образцы пуповинной крови (ПК), костного мозга (КМ) и липоасpirата (ЛА). При этом источники распределились следующим образом: по частоте колониобразования – КМ (100 %) = ЛА (100 %) > ПК (15,33 %); по доле колониобразующих единиц – ЛА (0,25 %) > КМ (0,0005 %) > ПК (0,000059 %); по максимальному количеству удвоений культуры – ПК (60) > КМ (31) > ЛА (27); по скорости удвоения клеточной культуры (уд/час) – ПК (0,0466) > КМ (0,0376) > ЛА (0,0262). Морфологическое исследование и кластерный анализ показали схожесть клеток из разных источников. Учитывая данные лабораторных исследований, этические оценки и особенности получения материала, авторы исследования пришли к выводу, что для быстрого и безопасного получения большого количества ММСК оптимальным источником является липоасpirат (Волчков С.Е., Тюмина О.В., Волова Л.Е., 2010). В аналогичном исследовании Y. Хи с соавт.

(2005) показано, что частота формирования колоний и стабильность дифференцировочной способности у ММСК-ЖТ выше по сравнению с ММСК-КМ (Xu Y. et al., 2005).

В настоящее время точный набор молекулярных маркеров для верификации ММСК-ЖТ находится в стадии обсуждения (Dominici M. et al., 2006; Bourin P. et al., 2013). Есть данные, что эти клетки образуют иммунофенотипически неустойчивую динамическую систему (Сергеева Н.С. с соавт., 2006; Mitchell J.B. et al., 2006; Baer P.C., 2014). Тем не менее по данным литературы можно выделить ряд наиболее часто используемых CD-маркеров, который и взят нами за основу для тестирования стромальных клеток, полученных из жировой ткани пациентов по собственной модифицированной методике (таблица 1).

Таблица 1 – Иммунофенотипическая характеристика мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани по данным литературы

Маркер	Источник данных							
	1	2	3	4	5	6	7	8
CD13	97 %	100 %	#	8,9*	+	#	#	+
CD31	#	5 %	–	2,2*	–	–	0,16 %	–
CD34	4 %	30 %	–	3,6*	–	+	6,84 %	+
CD44	93 %	#	+	16,9*	+	#	93,28 %	+
CD90	98 %	95 %	+	25,9*	+	+	3,58 %	+
CD105	90 %	90 %	+	8,4*	+	–	88,45 %	+
C-kit/CD117	2 %	0 %	#	#	+	#	#	#

Примечания: 1 – С.З. Шарифуллина с соавт., 2004; 2 – Е.В. Парфенова с соавт., 2006; 3 – Н.В. Ламовская с соавт., 2010; 4 – P.A. Zuk et al., 2002; 5 – В.М. Strem et al., 2005; 6 – K.Yoshimura et al., 2006; 7 – Y.J. Ryu et al., 2013; 8 – A. Mildmay-White, W. Khan, 2017; (*) – интенсивность флюоресценции; (%) – доля клеток, несущих маркер; (+) – клетки положительны по маркеру; (–) – клетки отрицательны по маркеру; (#) – нет данных

Регенераторный потенциал ММСК-ЖТ в полной мере был продемонстрирован в исследованиях *in vitro* и *in vivo*. Показано, что под влиянием специфических факторов индукции ММСК-ЖТ дифференцируются

в клетки жировой ткани (Mauney J.R. et al., 2007; Ferraro G.A. et al., 2013; Frazier T.P. et al., 2016), хондроциты (Rada T. et al., 2013), остеобласты (Сергеева Н.С. с соавт., 2006; Григорян А.С. с соавт., 2015; Zuk P.A. et al., 2002; Varma M.J. et al., 2007; Calabrese G. et al., 2016; Lewallen E.A. et al., 2016), миоциты (Mizuno H. et al., 2002; Di Rocco G. et al., 2006; Huri P.Y. et al., 2018), нейроны (Ashjian P.H. et al., 2003; Lo Furno D. et al., 2018), эндотелиальные клетки (Cao Y. et al., 2005; Szoke K. et al., 2012), кардиомиоциты (Planat-Benard V. et al., 2004; Van Dijk A. et al., 2008). В то же время неясными остаются перспективы применения ММСК-ЖТ в регенерации костной ткани – одном из актуальных направлений восстановительной стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. Данные ряда исследователей подтверждают тезис о том, что ММСК жировой ткани и костного мозга имеют идентичную способность к дифференцировке в остеобласты (De Ugarte D.A. et al., 2003; Hattori H. et al., 2004; Nicok K.C. et al., 2004). В ряде работ *in vivo* показана успешная регенерация кости с помощью трансплантации размноженных в культуре ММСК-ЖТ (Haghighat A. et al., 2011; Wilson S.M. et al., 2012; Streckbein P. et al., 2013). Для индукции остеогенеза применяются разные методы, включая преддифференцировку ММСК-ЖТ в остеогенной среде (Бухарова Т.Б., 2014; Lee J.A. et al., 2003; Ogawa R. et al., 2004; Conejero J.A. et al., 2006; Yoon E. et al., 2007), обработку клеток и/или носителя костными морфогенетическими белками (Levi B. et al., 2010; Fan J. et al., 2014; Lee M.K. et al., 2015), генетическую модификацию аденовирусами, несущими гены для синтеза КМБ (Dragoo J.L. et al., 2003; Peterson B. et al., 2005; Yang M. et al., 2005), обработку носителя фибронектином (Di Bella C. et al., 2008; Alvira-Gonzalez J. et al., 2016). Предпринимаются попытки трансплантировать клетки в экспериментальный дефект кости на носителях из фибринового клея (Dragoo J.L. et al., 2003; Streckbein P. et al., 2013), коллагена (Hattori H. et al., 2004; Peterson B. et al., 2005; Haghighat A. et al., 2011), полигликолида (Lee J.A. et al., 2003), полилактида

(Бухарова Т.Б., 2014; Dragoo J.L. et al., 2003; Conejero J.A. et al., 2006; Yoon E. et al., 2007; Di Bella C. et al., 2008), полилактогликолида (Levi B. et al., 2010; Buschmann J. et al., 2012; Lee M.K. et al., 2015), гидроксиапатита и трикальцийфосфата (Hicok K.C. et al., 2004; Levi B. et al., 2010; Alvira-Gonzalez J. et al., 2016), хитозана (Fan J. et al., 2014).

Однако в отдельных исследованиях встречаются противоположные выводы. Например, G.I. Im с соавт. (2005) установили, что ММСК-ЖТ имеют низкий потенциал для остеогенной дифференцировки и продукции минерализованного матрикса по сравнению с ММСК-КМ, авторы критически оценивают жировую ткань в качестве источника стволовых клеток (Im G.I., Shin Y.W., Lee K.B., 2005). Напротив, J.L. Dragoo с соавт. (2003) пришли к выводу, что при соответствующей индукции ММСК-ЖТ продуцируют больше остеогенных клеток с более выраженной минерализацией внеклеточного матрикса, чем при применении ММСК-КМ (Dragoo J.L. et al., 2005).

Обычно ММСК-ЖТ изолируют из клеточной суспензии ферментативно диссоциированной жировой ткани. Эта лишенная зрелых адипоцитов клеточная суспензия, состоящая из ММСК, васкулярных эндотелиальных и гладкомышечных клеток, перицитов, макрофагов, лимфоцитов и преадипоцитов, известна как стромально-васкулярная фракция жировой ткани (СВФ-ЖТ) (Bourin P. et al., 2013).

Состав и соотношение клеточных типов, входящих в состав СВФ-ЖТ, варьируют по данным разных источников (Zimmerlin L. et al., 2010; Dong Z. et al., 2013; Alexander R.W., 2016; Bora P., Majumdar A.S., 2017). В обобщенном виде информация отражена в таблице 2.

В доклинических исследованиях установлено, что СВФ-ЖТ оказывает ангиогенный, противовоспалительный и дифференцировочный эффекты в области трансплантации (Kim Y.M. et al., 2008; Fu S. et al., 2013; Semon J.A. et al., 2013).

Таблица 2 – Клеточные популяции стромально-васкулярной фракции жировой ткани (по L. Zimmerlin с соавт., 2010; Z. Dong с соавт., 2013; R.W. Alexander, 2016; P. Vora и Majumdar A.S., 2017)

Тип клеток		Процентное содержание среди всех ядродержащих клеток, % (мин–макс/ М ± m)
ММСК	МСК	27,9 ± 5,2
	Эндотелиальные прогениторные клетки	12,7 ± 2,9
	Периваскулярные клетки	1–15
	Фибробласты	1–10
	Преадипоциты	1–5
Гладкомышечные клетки		1–5
Эндотелиальные клетки		2,5 ± 0,8
Лейкоциты		28,1 ± 2,4
Макрофаги		
Моноциты		
Т-клетки		

МСК, прогениторные эндотелиальные и периваскулярные клетки стимулируют неоваскуляризацию путем дифференцировки в клетки внутренней выстилки и стенки микрососудов (Miranville A. et al., 2004; Planat-Benard V. et al., 2004; Kim Y.M. et al., 2008; Szoke K. et al., 2012; Zakhari J.S. et al., 2018). Установлена секреция клетками СВФ-ЖТ основных ангиогенных факторов – фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), фактора роста гепатоцитов (HGF), фактора роста фибробластов (FGF). В условиях гипоксии уровень экспрессии и секреции этих факторов увеличивается в 2–5 раз (Парфенова Е.В.с соавт., 2006; Rehman J. et al., 2004; Pallua N. et al., 2014). В нескольких работах показана возможность сборки эндотелиальных клеток СВФ-ЖТ в зачаточную сосудистую сеть (Traktuev D.O. et al., 2009; Koh Y.J. et al., 2011).

Установлено, что трансплантация СВФ-ЖТ уменьшает экспрессию иммунокомпетентными клетками провоспалительных факторов – фактора

некроза опухоли (TNF- α ,) и интерлейкина-6 (IL-6) (Premaratne G.U. et al., 2011). В ряде работ показано, что СВФ-ЖТ не снижает общее количество иммунных клеток в микроокружении, но увеличивает долю противовоспалительных M2-макрофагов (Dong Z. et al., 2013; Bowles A.C. et al., 2017). M2-макрофаги, как известно, участвуют в удалении нежизнеспособных клеток, координируют процессы ремоделинга резорбируемого скаффолда тканеинженерной конструкции (Badylak S.F. et al., 2008).

Дифференцировочный эффект показан при выполнении трансплантации СВФ-ЖТ, содержащей помеченные клетки (Fu S. et al., 2013; Bliley J.M. et al., 2015). В исследовании S. Fu с соавт. (2013) экспрессирующие зеленый флуоресцентный белок клетки СВФ-ЖТ смешивали с жировой тканью и имплантировали мышам иммунодефицитной линии. Иммунофлюоресцентный анализ прижившегося липографта выявил дифференцировку клеток СВФ-ЖТ в адипоциты, а также инкорпорацию части клеток СВФ-ЖТ в новообразованные кровеносные сосуды (Fu S. et al., 2013).

Первые сообщения о клиническом применении СВФ-ЖТ появились в 2007–2008 годах. К. Yoshimura с сотрудниками обогащали свободный микролипотрансплатат СВФ-ЖТ и применяли его для косметического увеличения груди, отмечая при этом улучшенную приживаемость жировой ткани (Yoshimura K. et al., 2008). Группа G. Rigotti использовала СВФ-ЖТ для заживления ран после лучевой терапии рака груди (Rigotti G. et al., 2007).

В настоящее время (начало 2019 г.) на электронном ресурсе www.clinicaltrials.gov доступна информация о проведении более 80 клинических испытаний с применением СВФ-ЖТ при широком круге заболеваний и патологических состояний. Получены положительные результаты применения СВФ-ЖТ при трофических и длительно незаживающих ранах (Василевич И.Б. и соавт., 2015; Cervelli V. et al., 2011; Куо Y.R. et al., 2016), постлучевых ректовагинальных свищах (Терюшкова Ж.И. с соавт., 2016), болезни Крона (Philandrianos C. et al., 2018),

остеоартрозах (Смышляев И.А. с соавт., 2017; Bansal H. et al., 2017), контурных деформациях мягких тканей лица и тела (Малаховская В.И., 2013; Lee S.K. et al., 2012), дефектах периферических нервов (Салафутдинов И.И. с соавт., 2011), стриктуре уретры (Котенко К.В. с соавт., 2015). Имеются единичные наблюдения применения культуры ММСК-ЖТ и свежевыделенной СВФ-ЖТ в хирургии опорных тканей челюстно-лицевой области (Sandor G.K. et al., 2014; Manimaran K. et al., 2016; Pellacchia V. et al., 2016; Prins H.J. et al., 2016).

Многими специалистами СВФ-ЖТ рассматривается как равный или даже в чем-то превосходящий культивированные ММСК-ЖТ ресурс для разработки методов регенерации тканей (Bora P., Majumdar A.S., 2017). Краткая характеристика сравниваемых клеточных ресурсов в аспекте клинического применения представлена в таблице 3.

Таблица 3 – Сравнительная характеристика выделяемых из жировой ткани клеточных материалов для клинической регенерации тканей

Признак	Стромально-васкулярная фракция жировой ткани	Культура мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани
Доступность	Клинические условия	Лаборатория стандарта GMP
Время подготовки материала	90–120 мин	2–3 недели
Максимальная доза	Ограничена объемом доступного жирового депозита индивида	Почти не ограничена
Диапазон применения	Аутотрансплантация	Аутотрансплантация и аллотрансплантация
Регенераторные свойства	Ангиогенные, иммуномодулирующие, дифференцировочные	Иммуномодулирующие, дифференцировочные
Клинические риски	Инфекционный, иммунологический	Иммунологический, инфекционный, онкогенный
Специальные регламентирующие законодательные акты	Не определены	ФЗ-180 «О биомедицинских клеточных продуктах»

Отсутствие стадии размножения клеток вне организма человека является значительным преимуществом СВФ-ЖТ, так как при этом нет потери времени на лабораторный этап в специальных условиях стандарта GMP (good manufacturing practice), исключается вероятность контаминации материала органическими и неорганическими компонентами питательных сред, нет риска трансформации клонированных клеток (Boguest A.C. et al., 2005; Shahdadfar A. et al., 2005; Wang Y. et al., 2005; McLean A.K. et al., 2015).

ММСК-ЖТ после первого пассажа имеют сниженный уровень экспрессии антигенов гистосовместимости, поэтому могут применяться как для аутогенной, так и для аллогенной трансплантации (McIntosh K. et al., 2006). СВФ-ЖТ, вследствие присутствия разных типов клеток, способных вызывать иммунологические реакции, подходит только для аутологичного применения (Bora P., Majumdar A.S., 2017).

СВФ-ЖТ присуща вариабельность клеточного состава в зависимости от возраста донора, массы тела и области забора жировой ткани (Buschmann J. et al., 2013; Dos-Anjos Vilaboa S. et al., 2014; Grasy J. et al., 2016). Условия культивирования, плотность посева и состав среды могут влиять на степень пролиферации и дифференцировки ММСК-ЖТ (Sotiropoulou P.A. et al., 2006).

В ряде работ проведена сравнительная оценка терапевтического потенциала свежевыделенной СВФ-ЖТ и культивированных ММСК-ЖТ.

В исследовании Y. Hirose (2018) сопоставлены трофические факторы, секретируемые клетками свежевыделенной СВФ-ЖТ и культуры ММСК-ЖТ, полученными от одного и того же донора (Hirose Y. et al., 2018). Установлено, что клетки СВФ-ЖТ выделяют более широкий спектр растворимых белков, включая:

- макрофагальные воспалительные белки -1α и -1β (MIP- 1α , -1β);
- гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF);
- хемокин макрофагов (MDC);
- интерлейкины -6, -7, -8, -12p40 (IL-6, -7, -8, -12p40);

- моноцитарные хемоаттрактантные белки -1 и -3 (MCP-1, -3);
- интерферон-индуцируемый белок (IP-10);
- фактор роста эндотелия сосудов (VEGF);
- фактор роста фибробластов -2 (FGF-2);
- тромбоцитарный фактор роста ВВ (PDGF-BB);
- гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF);
- фактор некроза опухоли - α (TNF- α);
- RANTES (RANTES);
- антагонист к рецептору интерлейкина-1 (IL-1ra);
- FMS-like tyrosine kinase 3 ligand (FLT3L);
- growth-related oncogene (GRO).

При идентичных условиях уровень содержания 11 из 20 тестируемых факторов был статистически значимо выше в среде культивирования СВФ-ЖТ по сравнению с ММСК-ЖТ. Некоторые факторы секретировались только СВФ-ЖТ. По мнению авторов исследования, СВФ-ЖТ является более мультифункциональным ресурсом для клеточной терапии, чем культура ММСК-ЖТ. Секретируемые клетками СВФ-ЖТ факторы могут обеспечивать разнообразные клинически полезные паракринные эффекты, такие как иммуномодуляция, антиапоптоз, ангиогенез, способствовать хемотаксису, пролиферации и дифференцировке местных стволовых и прогениторных клеток (Hirose Y. et al., 2018).

Проведена сравнительная оценка потенциала СВФ-ЖТ и культуры ММСК-ЖТ для создания васкуляризованной тканеинженерной конструкции. Результаты исследований показали, что клетки СВФ-ЖТ способны в равной степени выполнять те же функции, что и культура ММСК-ЖТ: *in vitro* дифференцироваться в сосудистые гладкомышечные клетки и секретировать факторы миграции гладких миоцитов, *in vivo* генерировать колонизированный клетками скаффолд с первичным сосудистым компонентом (Krawiec J.T. et al., 2017).

Изучена способность ММСК-КМ, ММСК-ЖТ и СВФ-ЖТ к эктопическому формированию кости в составе тканеинженерной конструкции. Наивысшая степень формирования кости установлена после имплантации иммунодефицитным мышам конструкции с ММСК-КМ, затем следовали конструкции, включающие СВФ-ЖТ и рекомбинантный КМБ-2. Агрегация ММСК-ЖТ с микрочастицами фосфата кальция улучшала эктопическое формирование кости, но менее эффективно, чем бесклеточная индукция КМБ-2 (Fennema E.M. et al., 2018).

Иммуномодуляторный и противовоспалительный эффекты СВФ-ЖТ и ММСК-ЖТ сопоставлены в экспериментальной модели аутоиммунного энцефаломиелита (Bowles A.C. et al., 2017). Выявлена индукция регуляторных Т-клеток с уменьшением воспалительной реакции в тканях ЦНС после введения обоих клеточных препаратов. В селезенке экспериментальных животных выявлены пониженные уровни активности Т-хелперов и повышенные уровни противовоспалительного интерлейкина-10. Клетки СВФ-ЖТ оказывали более выраженные эффекты, чем ММСК-ЖТ (Bowles A.C. et al., 2017).

Анализ данных литературы показывает, что оба рассматриваемых ресурса имеют сходные регенераторные свойства, но, в отличие от ММСК-ЖТ, СВФ-ЖТ может быть получена быстрее и с минимальным контактом с реагентами, поэтому является относительно безопаснее и регулируется меньшим числом законодательных актов (Bora P., Majumdar A.S., 2017).

Принцип выделения СВФ-ЖТ основан на бережной ферментативной диссоциации жировой ткани до состояния отдельных жизнеспособных клеток с последующим фракционированием клеточной суспензии на центрифуге (Zuk P.A. et al., 2001; Yu G. et al., 2011). Стандартный протокол изоляции СВФ-ЖТ включает следующие этапы:

- приготовление 0,1 % раствора коллагеназы в фосфатном буфере;
- распределение жировой ткани в стерильные емкости и промывка раствором фосфатного буфера;

- добавление в промытую жировую ткань эквивалентного объема 0,1 % раствора коллагеназы первого типа в фосфатном буфере и обработка на водяной бане при 37 °С;

- центрифугирование, удаление супернатанта из адипоцитов и жидких липидов;

- очистка клеточного осадка от примеси эритроцитов лизирующим раствором;

- ресуспендирование осадка в 1 % растворе альбумина телячьей сыворотки, проводка через клеточный фильтр (Yu G. et al., 2011).

Процесс выделения СВФ-ЖТ из жировой ткани может быть осуществлен с использованием автоматизированных закрытых систем. Основным недостатком такого способа является высокая стоимость оборудования и расходных материалов, связанная с этим низкая доступность подобных устройств для широкого практического использования (Aronowitz J.A., Ellenhorn J.A., 2013).

Приводятся сведения о неферментативных методах изоляции СВФ-ЖТ (Aronowitz J.A., Lockhart R.A., Nakakian C.S., 2015). По данным Y. Yao с соавт. (2017), процесс перекачки липоаспирата между двух шприцев в течение 1 минуты через переходник со скоростью потока 10 мл в секунду позволяет получить СВФ-ЖТ (Yao Y. et al., 2017). Такие способы изоляции СВФ-ЖТ называют интраоперационными, и сообщается о сходных характеристиках клеточного продукта, получаемого этим способом и традиционным способом ферментативной дигестии липоаспирата. Предложены специальные названия – тканевая СВФ-ЖТ, экстрацеллюлярный матрикс/СВФ, механический эмульсификат жировой ткани, panofat. Представлены случаи с положительными клиническими результатами применения такого материала (Tonnard P. et al., 2013; Kemaloglu C.A., 2016; Tamburino S. et al., 2016; Bi H.S. et al., 2018; Van Dongen J.A. et al., 2018). Однако, по мнению R.W. Alexander (2016),

механическая эмульсификация не создает истинную клеточную СВФ-ЖТ, так как не способна обеспечить приемлемую клеточную селекцию и концентрацию. Выполненное им тестирование образцов показало относительно небольшое количество жизнеспособных клеток в смеси с клеточным дебрисом и клетками крови (Alexander R.W., 2016). По данным другого сравнительного исследования, ферментативный и неферментативный методы дают сходный по свойствам клеточный продукт, однако количество стромальных клеток значительно выше при использовании коллагеназной дигестии (Shah F.S. et al., 2013).

По мнению А.В. Веремея с соавт. (2016), отсутствие оптимизированных и стандартизированных технологий выделения аутогенных стволовых клеток является негативным фактором, ограничивающим внедрение клеточных технологий в практику. Ими же сформулированы основные требования к оптимальному протоколу получения стволовых клеток: биологическая безопасность, стабильные количественные и качественные характеристики клеточного материала, возможность реализации протокола медицинским персоналом в клинических условиях, низкая стоимость оборудования и расходных материалов (Веремея А.В. с соавт., 2016). Решение данной задачи облегчит использование клеточных технологий специалистами, повысит доступность качественной медицинской помощи для пациентов.

Таким образом, анализ литературы показал, что проблема эффективного восстановления опорных тканей челюстно-лицевой области остается весьма актуальной. При этом технические решения в виде усовершенствования техники пересадки свободных и несвободных лоскутов, разработки новых имплантационных материалов имеют определенные ограничения и, по-видимому, исчерпали свой резерв клинической эффективности и безопасности применения. В настоящее время ведется активный поиск клинически приемлемых методов клеточной

трансплантологии и тканевой инженерии для восстановления значительно поврежденных тканей челюстно-лицевой области. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* убедительно показана возможность регенерации кости, периодонта, дентальных структур, височно-нижнечелюстного сустава путем применения комбинации биоматериалов, стволовых клеток и факторов роста. Вместе с тем существует ряд объективных причин, затрудняющих внедрение таких биотехнологий в широкую практику: не определен оптимальный источник стволовых/стромальных клеток, нет ясности относительно изменения свойств культивированных клеток, в частности малоизученной остается возможность онкогенной трансформации клеток, недостаточно изучена роль индуктора дифференцировки и носителя клеток при подобных манипуляциях.

Современный этап развития восстановительной хирургии анатомических структур челюстно-лицевой области основывается на новых биомиметических принципах и нуждается в доступной, безопасной и эффективной регенеративной технологии.

ГЛАВА 2.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа состоит из экспериментального и клинического разделов. Проведение экспериментов организовано в соответствии с принципами «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985). Все пациенты, включенные в клиническую часть исследования, подписали добровольное информированное согласие на участие в комплексной реабилитации зубочелюстной системы с применением СВФ-ЖТ. По заключению этического комитета Ставропольской государственной медицинской академии, диссертационное исследование не вызывает возражений с точки зрения медицинской этики, поскольку выполняется в рамках утвержденных стандартов (протокол заседания № 6 от 17 декабря 2010 года).

2.1. Материал экспериментального исследования

Эксперимент проводили на 12 морских свинках 8–10 месячного возраста с массой тела 600–800 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и корму.

СВФ-ЖТ получали из липоасpirата паховой жировой подушки животного в соответствии с методикой P. Zuk с соавт. (Zuk P.A., et al., 2001).

Под внутривентральным тиопенталовым наркозом (40 мг на кг массы тела животного) и местной анестезией 40 мл 0,25 % раствора лидокаина с адреналином (1 : 1000000) выполняли липоасpirацию из области паховой жировой подушки в объеме 5 мл. Полученный жир промывали физиологическим раствором и помещали в стерильный пластиковый мешок, куда добавляли 30 мг коллагеназы I типа, растворенной в 35 мл фосфатного буфера (EUROBIO Biotechnology, Франция) для создания 40 мл 0,075 %

раствора. Осуществляли экспозицию на водяной бане при 37°C в течение 30 мин. Далее после повторного промывания материала в фосфатном буфере и центрифугирования в течение 10 мин при 2750 об/мин получали 0,2–0,4 мл СВФ-ЖТ в виде плотного осадка.

Под внутрибрюшинным тиопенталовым наркозом и местной анестезией 0,25 % раствором лидокаина с адреналином (1 : 500000) после удаления шерсти и антисептической обработки операционного поля делали разрез по нижнему краю угла и тела нижней челюсти длиной 2,5 см. Послойно рассекали мягкие ткани до кости, распатором выполняли поднадкостничную отслойку и скелетировали тело и угол нижней челюсти. С помощью корончатой фрезы создавали сквозной дефект диаметром 5 мм (рисунок 1). Для нижней челюсти морской свинки такой размер дефекта является критическим, поскольку значительно превышена дистанция «остеогенного скачка» и вероятность спонтанного восстановления кости отсутствует.

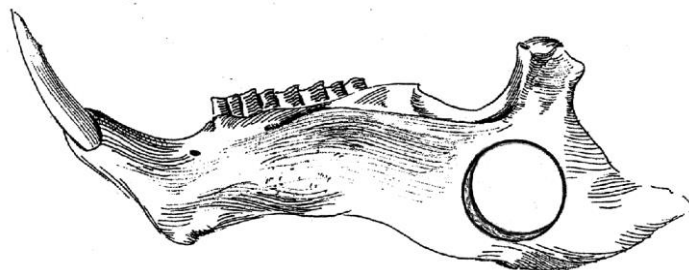


Рисунок 1 – Схематическое изображение нижней челюсти морской свинки со сформированным сквозным дефектом критического размера

Слева в дефект трансплантировали СВФ-ЖТ с добавлением костной крошки (эксперимент). Справа в дефект вводили только эквивалентный объем костной крошки (контроль). Осуществляли гемостаз и рану послойно ушивали резорбируемой монофиламентной нитью монокрил 4-0. Основные этапы операции представлены на рисунках 2–7. Длительность операции, включая этап выделения СВФ-ЖТ, составляла около 2 часов. Интраоперационно и в течение 5 суток после операции всем животным вводили раствор пенициллина 200 тыс. ед. подкожно.



Рисунок 2 – Положение и фиксация анестезированной морской свинки при проведении липоаспирации из области паховой жировой подушки



Рисунок 3 – Формирование сквозного дефекта нижней челюсти корончатой фрезой диаметром 5 мм

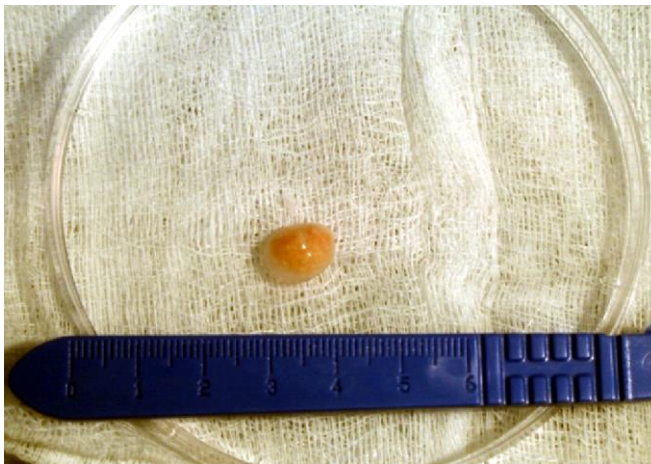


Рисунок 4 – Готовый к применению трансплантат – СВФ-ЖТ, смешанная с костной крошкой



Рисунок 5 – Дефект, заполненный СВФ-ЖТ в композиции с костной крошкой – «эксперимент»



Рисунок 6 – Контралатеральный дефект, заполненный только костной крошкой – «контроль»



Рисунок 7 – Вид в конце операции – раны ушиты резорбируемым монофиламентным шовным материалом

После операции каждое животное содержалось в отдельной клетке. Для уменьшения жевательной нагрузки в рацион питания были включены зеленые сочные корма. Летальные исходы (6 из 18 прооперированных животных, 33,3 %) случались в первые четверо суток после вмешательства. В 1 случае выявлен двусторонний перелом нижней челюсти и геморрагическое пропитывание тканей, в 2 случаях выявлены признаки перитонита, в 3 случаях причина смерти не установлена.

Через 12 недель животных выводили из эксперимента введением летальной дозы тиопентала натрия (120 мг/кг). Отсепаровывали кожу, нижнюю челюсть с окружающими область операции мягкими тканями извлекали и помещали на двое суток в 10 % нейтральный формалин. После фиксации материал промывали в проточной воде 24 часа. Для оценки восстановления челюстной кости использовали макроморфометрию, рентгенологический и гистологический методы исследования.

2.2. Общий дизайн клинического исследования

В настоящее проспективное контролируемое клиническое исследование включены пациенты, отвечающие следующим критериям: 1) наличие патологии, соответствующей теме исследования; 2) возраст старше 18 лет; 3) общесоматическое здоровье или контролируемые нетяжелые хронические заболевания; 4) адекватный уровень гигиены ротовой полости; 5) желание участвовать в исследовании и возможность соблюдать график контрольных осмотров в течение всего периода наблюдения.

Исключали следующие категории пациентов: 1) беременные или кормящие грудью; 2) имеющие аллергические реакции на препараты и материалы, используемые в исследовании; 3) имеющие патологию гайморовых пазух; 4) перенесшие онкологические заболевания; 5) длительно и много курящие.

Принцип отбора пациентов в исследование – «по обращаемости». При поступлении пациента, отвечающего вышеуказанным критериям, после подробного информирования предлагали сделать выбор одного из двух вариантов лечения. На основании промежуточного анализа данных, для улучшения однородности групп применяли элемент стратификационной рандомизации, то есть при распределении учитывали прогностические признаки, которые могли бы существенно повлиять на результаты лечения (например, вид пародонтального дефекта, размер кистозного образования). Среди однородных по данному признаку клинических случаев вид лечения распределялся равновероятно.

В контрольные сроки 6, 12 и 24 месяцев анализировали три категории показателей, включая: 1) частоту осложнений и положительных результатов; 2) выраженность клинических симптомов заболевания; 3) результаты аппаратурных, рентгенологических и лабораторных тестов.

Эффективность нового способа лечения оценивали путем анализа динамики показателей каждой группы, сравнения показателей основной и контрольной групп, а также сопоставления собственных результатов с данными литературы. Вывод о превосходящей эффективности делался на основании статистически значимого превалирования в группе средних значений и относительных величин, ассоциированных с наилучшими исходами.

2.3. Характеристика больных хроническим пародонтитом средней и тяжелой степени

Под наблюдением находились 158 больных хроническим генерализованным и локализованным пародонтитом средней и тяжелой степени (ХПСТС), которым проводилось хирургическое лечение в Краснодарском Центре пародонтологии и дентальной имплантации и в стоматологической поликлинике ФГБОУ ВО КубГМУ в период 2005–2017 гг.

Возраст пациентов варьировал от 28 до 60 лет, средний возраст составил 42 [38; 45] года. Мужчин было 75 (47,5 %), женщин – 83 (52,5 %). У 52 пациентов (32,9 %) имелись хронические заболевания сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, эндокринной системы в стадии компенсации или стойкой ремиссии. В период исследования они наблюдались врачами соответствующего профиля.

В основную группу (ОГ) вошли 95 больных, лечение которых включало аутотрансплантацию СВФ-ЖТ. В контрольную группу (КГ) вошли 63 больных с лечением по стандартной методике направленной регенерации тканей пародонта.

При сравнении структуры основной и контрольной групп по полу статистически значимые различия отсутствовали ($p = 0,238$, по критерию хи-квадрат). Разница в возрасте исследуемых также была статистически незначима ($p = 0,05$, по критерию Манна – Уитни).

Распределение пациентов по возрасту и полу в наблюдаемых группах представлено в таблице 4.

Таблица 4 – Распределение больных пародонтитом по возрасту и полу

Возраст (лет)	Основная группа						Контрольная группа					
	Муж.		Жен.		Всего		Муж.		Жен.		Всего	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
28–30	1	1,1	1	1,1	2	2,1	0	0	1	1,6	1	1,6
31–40	22	23,2	18	18,9	40	42,1	12	19,1	14	22,2	26	41,3
41–50	21	22,1	23	24,2	44	46,3	9	14,3	22	34,9	31	49,2
51–60	7	7,4	2	2,1	9	9,5	3	4,8	2	3,2	5	7,9
Итого:	51	53,7	44	46,3	95	100	24	38,1	39	61,9	63	100

В ОГ хирургическое лечение проведено на 582 участках пародонта, в КГ – на 376 участках.

До операции величина потери зубодесневого прикрепления (ПоЗДП) соответствовала хроническому пародонтиту средней и тяжелой степени, составляя более 7 мм. Статистически значимых различий групп сравнения по

исходным параметрам состояния ротовой полости и пародонтального статуса не было ($p > 0,05$, по t-критерию Стьюдента) (таблица 5).

Таблица 5 – Исходные показатели клинического состояния ротовой полости (в баллах) и пародонтального статуса (в мм) у больных пародонтитом, $M \pm m$

Показатель	Основная группа, n = 95	Контрольная группа, n = 63	p
Десневой индекс	1,94 ± 0,08	2,03 ± 0,13	0,557
Гигиенический индекс	2,30 ± 0,09	2,23 ± 0,11	0,623
Индекс кровоточивости	1,72 ± 0,04	1,78 ± 0,06	0,407
Пародонтальный индекс	6,76 ± 0,41	5,87 ± 0,29	0,079
Рецессия десневого края	2,20 ± 0,08	2,01 ± 0,07	0,076
Глубина зондирования	5,10 ± 0,11	5,32 ± 0,09	0,124
Потеря зубодесневого прикрепления	7,80 ± 0,22	7,32 ± 0,17	0,086

С целью повышения достоверности оценки результатов лечения решено выявить потенции предлагаемого подхода в сопоставлении с объемом сохранных костных стенок альвеолы, т.е. с учетом топографии пародонтального дефекта.

Внутрикостный дефект (ВКД), характеризующийся потерей костной ткани с формированием одно-, двух- или трехстенного кармана, дно которого располагается апикальнее сохранного края альвеолярной кости, наблюдался в 447 случаях (46,7 %).

Супраальвеолярный дефект (САД), сопровождающийся потерей костной ткани с формированием кармана, дно которого располагается корональнее редуцированного гребня альвеолярной кости, наблюдался в 296 случаях (30,9 %).

Фуркационный дефект (ФД) с потерей костной ткани в межкорневой области многокорневого зуба наблюдался в 215 случаях (22,4 %).

Структура наблюдаемых групп по видам пародонтальных дефектов не имела статистически значимых различий ($p = 0,126$, по критерию хи-квадрат). Распределение видов пародонтальных дефектов в основной и контрольной группах представлено в таблице 6.

Таблица 6 – Распределение видов пародонтальных дефектов у больных пародонтитом

Вид дефекта	Основная группа						Контрольная группа					
	Верхняя челюсть		Нижняя челюсть		Всего		Верхняя челюсть		Нижняя челюсть		Всего	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
ВКД	151	26,0	110	18,9	261	44,9	96	25,6	90	23,9	186	49,5
САД	101	17,4	93	16,0	194	33,4	50	13,3	52	13,8	102	27,1
ФД	66	11,2	61	10,5	127	21,7	49	13,0	39	10,4	88	23,4
Итого:	318	54,6	264	45,4	582	100	195	51,9	181	48,1	376	100

Примечание: ВКД – внутрикостный; САД – супраальвеолярный; ФД – фуркационный.

Исходная потеря зубодесневого прикрепления (ПоЗДП) определялась у больных ОГ и КГ с учетом топографии пародонтальных дефектов во время хирургического вмешательства. Соответствующая характеристика клинического материала отражена в таблице 7.

Таблица 7 – Исходная потеря зубодесневого прикрепления (в мм) при разных видах пародонтальных дефектов

Вид дефекта	Основная группа		Контрольная группа		p
	M ± m	n	M ± m	n	
Внутрикостный	7,95 ± 0,18	261	7,51 ± 0,17	186	0,076
Супраальвеолярный	7,69 ± 0,21	194	7,28 ± 0,18	102	0,139
Фуркационный	7,77 ± 0,22	127	7,26 ± 0,2	88	0,089

Согласно результатам проведенного с помощью t-критерия Стьюдента сравнения, значения исходной ПоЗДП не имели существенных различий при любой топографии пародонтальных дефектов ($p > 0,05$).

Клинический протокол хирургического лечения хронического пародонтита в группах исследования

Оперативному вмешательству предшествовала консервативно-гигиеническая фаза, включающая санацию ротовой полости, иммобилизацию подвижных зубов, коррекцию мукогингивальных нарушений, изготовление защитных временных ортопедических конструкций на период

хирургического лечения и реабилитации. При наличии сопутствующих хронических общесоматических заболеваний перед операцией пациенты проходили курсовое лечение у специалиста соответствующего профиля.

Под проводниковой и инфльтрационной анестезией Ubistesin 4 % сулькулярным разрезом формировали слизисто-надкостничный лоскут в пределах одного или двух квадрантов зубного ряда на всю глубину пародонтальных карманов. Проводили кюретаж пародонтальных карманов, поверхности корней зубов очищали от зубных отложений и инфицированного цемента механически или ультразвуковым аппаратом, дефекты обрабатывали 0,1 % раствором гипохлорита натрия в течение 10 минут. В ОГ санированные пародонтальные дефекты заполняли СВФ-ЖТ (протокол выделения СВФ-ЖТ подробно описан в параграфе 2.6). При глубоких пародонтальных дефектах дополнительно вводили один из гранулированных остеокондукторов – резорбируемое микрокристаллическое биостекло биоситалл («Биосит-Элкор», Санкт-Петербург), ксеноматериал Bio-Oss (Geistlich Pharma AG, Швейцария), аллопластический материал Bone Ceramic (Straumann, Швейцария). Поверх очага регенерации моделировали и фиксировали биосовместимую барьерную мембрану из политетрафторэтилена (НПК «Экофлон», Санкт-Петербург). Лоскут укладывали на место, рану ушивали вертикальными матрацными, перекрестными и узловыми швами, используя монофиламентный шовный материал. Область операции покрывали пародонтальной повязкой Voco Pac на двое суток. Послеоперационный уход включал антисептическую обработку полости рта 0,05 % раствором хлоргексидина или 0,1 % раствором натрия гипохлорита, аппликации гелем Метрогил Дента. Швы удаляли на 12-е сутки. Время нахождения мембран в тканях – от 2 до 8 недель.

В КГ лечение отличалось тем, что в санированных пародонтальных дефектах формировали сгусток крови из костномозговых пространств и участков витальной периодонтальной связки, вводили гранулированный остеокондуктор под барьерную мембрану. СВФ-ЖТ не использовали.

2.4. Характеристика пациентов с одонтогенными кистозными образованиями челюстей

Лечение 112 пациентов с одонтогенными кистозными образованиями челюстей проводилось в МБУЗ «Стоматологическая поликлиника № 3» г. Краснодара, в стоматологической поликлинике ФГБОУ ВО КубГМУ и в отделении челюстно-лицевой хирургии ГБУЗ «Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница № 1 имени профессора С.В. Очаповского» в период с 2003 по 2017 год.

Возраст пациентов варьировал от 20 до 69 лет со средним значением 52 [48; 56] года. Мужчин было 68 (60,7 %), женщин – 44 (39,3 %). 36 человек (32,1 %) из общего числа наблюдаемых имели хронические общесоматические заболевания в стадии компенсации или ремиссии.

За единицу наблюдения принят каждый случай оперативного лечения отдельного кистозного образования. Всего в исследование вошло 125 случаев (у 13 из 112 пациентов было выявлено и пролечено по два кистозных образования). Основную группу составили 58 случаев (у 52 пациентов), в которых после цистэктомии для восстановления челюстной кости применяли остеопластику с аутотрансплантацией СВФ-ЖТ. В контрольной группе из 67 случаев (у 60 пациентов) использовали общепринятые способы оперативного лечения кистозных образований – цистэктомию с заживлением под кровяным сгустком, цистэктомию с имплантацией в костный дефект остеопластического материала, цистотомию.

Исследуемые группы были сопоставимы по полу ($p = 0,056$, по критерию хи-квадрат) и возрасту ($p > 0,05$, по критерию Манна-Уитни) пациентов. Результаты сравнения половозрастной структуры исследуемых групп представлены в таблице 8.

По локализации преобладали дефекты верхней челюсти – 85 случаев (68 %), из которых на фронтальном участке было 62 (49,6 %), в зоне премоляров – 16 (12,8 %), в зоне моляров – 7 (5,6 %). В 13 случаях кистозные

образования были связаны с верхнечелюстным синусом: в 9 из них наблюдалась резорбция кости без повреждения мягкотканной выстилки (мембраны Шнайдера); в 4 случаях – с наличием ороантрального соустья. На нижней челюсти проведено лечение 40 кистозных образований (32 %): на фронтальном участке – 12 (9,6 %), в зоне премоляров – 26 (20,8 %), в зоне моляров – 2 (1,6 %).

Таблица 8 – Распределение случаев оперативного лечения кистозных образований челюстей по возрасту и полу пациентов

Возраст (лет)	Основная группа						Контрольная группа					
	Муж.		Жен.		Всего		Муж.		Жен.		Всего	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
20–30	3	5,2	1	1,7	4	6,9	0	0	1	1,5	1	1,5
31–40	2	3,4	2	3,5	4	6,9	6	9,0	6	9,0	12	18,0
41–50	9	15,5	6	10,4	15	25,9	9	13,4	7	10,5	16	23,9
51–60	16	27,6	10	17,2	26	44,8	23	34,3	9	13,4	32	47,7
60–69	5	8,6	4	6,9	9	15,5	4	6,0	2	3,0	6	9,0
Итого:	35	60,3	23	39,7	58	100	42	62,7	25	37,3	67	100

При сравнении структуры наблюдаемых групп по локализации кистозных образований с помощью критерия хи-квадрат статистически значимые различия отсутствовали ($p > 0,05$). Распределение кистозных образований челюстей по локализации в группах сравнения представлено в таблице 9.

Таблица 9 – Распределение кистозных образований челюстей по локализации

Локализация дефекта		Основная группа		Контрольная группа		Всего	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%
Верхняя челюсть	Фронтальный участок	29	23,2	33	26,4	62	49,6
	Зона премоляров	7	5,6	9	7,2	16	12,8
	Зона моляров	3	2,4	4	3,2	7	5,6
Нижняя челюсть	Фронтальный участок	6	4,8	6	4,8	12	9,6
	Зона премоляров	12	9,6	14	11,2	26	20,8
	Зона моляров	1	0,8	1	0,8	2	1,6
Итого:		58	46,4	67	53,6	125	100

Размеры подлежащего восстановлению участка челюстной кости колебались в значительных пределах: от 7–10 мм – после удаления кистогранулем и небольших кист, до 30 мм и более (по наибольшему диаметру) – после удаления гигантских кист, выходящих за пределы обеих кортикальных пластин челюсти.

При сравнении распределения костных дефектов по размерам были выявлены статистически значимые различия между наблюдаемыми группами ($p < 0,001$, по критерию хи-квадрат). Распределение случаев по размерам дефекта в наблюдаемых группах представлено в таблице 10.

Таблица 10 – Распределение костных дефектов челюстей по размерам при одонтогенных кистозных образованиях

Размеры дефекта (по наибольшему диаметру, мм)	Основная группа		Контрольная группа		Всего	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
< 10	5	4,0	36	28,8	41	32,8
10–20	18	14,4	23	18,4	41	32,8
21–30	26	20,8	2	1,6	28	22,4
> 30	9	7,2	6	4,8	15	12
Итого:	58	46,4	67	53,6	125	100

Исходя из представленной таблицы, в ОГ преобладали костные дефекты размерами 21–30 мм (44,8 % в структуре группы), тогда как в КГ чаще отмечались дефекты небольших размеров – менее 10 мм (53,7 %).

Бессимптомное течение кист и кистогранулем наблюдалось в 75 случаях (60,0 %), рецидивирующее – в 50 случаях (40,0 %). Структура наблюдаемых групп по характеру течения заболевания не имела статистически значимых различий ($p = 0,942$, по критерию хи-квадрат).

Клинический протокол хирургического лечения одонтогенных кистозных образований в группах исследования

До операции проводили подготовку расположенных в пределах кисты зубов: пломбировали корневые каналы, шинировали подвижные зубы. За

30 минут до вмешательства осуществляли медикаментозную седацию. С профилактической целью вводили антибиотик широкого спектра действия.

Под проводниковой анестезией Ubistesin forte 1,7 ml на вестибулярной поверхности альвеолярного отростка в проекции кистозного образования выполняли разрез слизистой оболочки полуовальной или трапециевидной формы до кости, выкраивали слизисто-надкостничный лоскут с основанием, обращенным в сторону переходной складки. По величине лоскут должен быть больше кисты, чтобы в конце операции он свободно перекрывал костный дефект, и линия швов располагалась над интактной костью. Слизисто-надкостничный лоскут отслаивали распатором, поднимали и удерживали крючками или на лигатурах. Над кистой высверливали отверстия по периметру будущего дефекта и соединяли их между собой фиссурным бором. При наличии костной узуры ее расширяли кусачками и фрезой, смещая тупфером оболочку кисты. С помощью распатора, хирургической ложки и углового элеватора полностью отслаивали оболочку кисты от кости, резецировали верхушки корней. При необходимости выполняли ретроградное пломбирование зубных каналов. Проводили кюретаж полости до здоровых костных структур, сглаживали острые костные края. Оголенные корневые поверхности обрабатывали гелем ЭДТА (PrefGel, США). После точного анализа размеров и конфигурации дефекта определяли объем и состав трансплантата. В 19 случаях костных дефектов с наибольшим размером до 20 мм изъян заполняли только СВФ-ЖТ. Для пластики 14 костных дефектов более значительных размеров использовалась СВФ-ЖТ с добавлением измельченной кости, взятой у пациента во время операции из внутриротовых донорских участков. Для устранения 25 больших костных дефектов, в том числе с повреждением одной или обеих кортикальных пластинок челюстей, часто сформированных кистами с рецидивирующим течением по поводу которых уже было выполнено от 1 до 3 оперативных вмешательств, дополнительно к СВФ-ЖТ и костной крошке в состав трансплантата вводили гранулированный остеокондуктор (Bio-Oss,

Швейцария). Резорбируемую коллагеновую мембрану (Bio-Gide, Швейцария) помещали под слизисто-надкостничный лоскут перед ушиванием раны. Данные о составе трансплантата и количестве случаев применения в ОГ представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Особенности применения СВФ-ЖТ после удаления кистозных образований челюстей разного размера

Размеры дефекта	Состав трансплантата	Количество случаев
До 10 мм	СВФ-ЖТ	5
От 10 до 20 мм	СВФ-ЖТ	14
	СВФ-ЖТ + аутокостная крошка	4
От 21 до 30 мм	СВФ-ЖТ + аутокостная крошка	10
	СВФ-ЖТ + аутокостная крошка + гранулы Bio-Oss	16
Более 30 мм	СВФ-ЖТ + аутокостная крошка + гранулы Bio-Oss	9

В КГ при небольших и средних размерах костного дефекта заживление проводили под кровяным сгустком (28 случаев, из них размер дефекта до 10 мм – 26, от 10 до 20 мм – 2 случая) или с использованием остеозамещающего материала в сочетании с барьерной мембраной (33 случая, из них до 10 мм – 10, от 10 до 20 мм – 21, от 21 до 30 мм – 2 случая); при больших размерах кистозных образований (более 30 мм) применяли цистотомию (6 случаев).

После внесения трансплантата в костную полость слизисто-надкостничный лоскут укладывали на место и рану ушивали без натяжения. Дренажи и давящие повязки не использовали.

В течение часа после операции пациенты оставались под наблюдением в клинике. В этот период для уменьшения отека и послеоперационной болезненности к области вмешательства прикладывали холод. Назначали противовоспалительные средства (дексалгин 25 мг 2 раза в сутки в течение 5 дней), антисептические полоскания рта (0,05 % раствор хлоргексидина 6–8 раз в сутки до снятия швов). Явку на контрольный осмотр назначали через 48 часов, швы снимали через 2 недели после операции.

2.5. Характеристика пациентов с атрофией альвеолярного гребня челюстей

Исследование основано на наблюдении 141 пациента с вторичной адентией и сопутствующей выраженной атрофией альвеолярного гребня челюстей. Всем пациентам требовалось увеличение объема костной ткани перед дентальной имплантацией. Лечение и последующее клиническое наблюдение проводились с 2006 по 2019 год в Краснодарском Центре пародонтологии и дентальной имплантации (на базе МБУЗ СП № 3, г. Краснодар) и с 2016 года – в стоматологической поликлинике ФГБОУ ВО КубГМУ.

Возраст пациентов колебался от 45 до 78 лет, составляя в среднем 57 [52; 63] лет. Мужчин было 61 (43,3 %), женщин – 80 (56,7 %). У 17 пациентов (12,1 %) имелись общесоматические заболевания, включая сердечно-сосудистую, гастроэнтерологическую и эндокринную патологию. В период исследования эти пациенты наблюдались профильными специалистами и получали целевую терапию постоянно или курсами. В исследование не вошли пациенты с неконтролируемыми общими соматическими заболеваниями.

За единицу наблюдения принят каждый случай аугментационно-реконструктивной костной пластики для подготовки беззубых атрофированных участков альвеолярного гребня к дентальной имплантации. Всего было 229 таких случаев, включая 107 операций поднятия дна верхнечелюстной пазухи методом открытого синуслифтинга, 122 реконструктивные операции на альвеолярном отростке верхней челюсти и альвеолярной части нижней челюсти.

В основную группу (ОГ) вошли 112 случаев предимплантационной аугментации/реконструкции атрофированного альвеолярного гребня, выполненных 68 пациентам с использованием костных аутотрансплантатов

и остеозамещающих материалов в комбинации с аутологичной СВФ-ЖТ. В контрольной группе (КГ) из 117 случаев пластики 73 пациентам применялись такие же методики аугментации/реконструкции альвеолярного гребня челюстей, но без использования СВФ-ЖТ.

Анализ состава исследуемых групп выявил сопоставимое распределение по полу ($p = 0,690$, по критерию хи-квадрат) и возрасту ($p > 0,05$, по критерию Манна-Уитни). Соответствующие данные представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Распределение случаев остеопластики атрофированного альвеолярного гребня челюстей по возрасту и полу пациентов

Возраст (лет)	Основная группа						Контрольная группа					
	Муж.		Жен.		Всего		Муж.		Жен.		Всего	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
45–50	20	17,8	30	26,8	50	44,6	21	18,0	26	22,2	47	40,2
51–60	19	17,0	22	19,6	41	36,6	20	17,1	21	17,9	41	35,0
61–70	5	4,5	14	12,5	19	17,0	8	6,8	18	15,4	26	22,2
71–78	0	0	2	1,8	2	1,8	0	0	3	2,6	3	2,6
Итого:	44	39,3	68	60,7	112	100	49	41,9	68	58,1	117	100

По результатам дооперационной компьютерной томографии степень атрофии челюстного альвеолярного гребня соответствовала категории С (недостаточная кость) и категории D (выраженный дефицит костной ткани) по классификации Misch и Judi (Misch С.Е., Judy К.В., 1987). Средние значения остаточной высоты альвеолярного гребня составляли $5,04 \pm 0,16$ и $5,49 \pm 0,17$ мм, остаточной ширины – $3,13 \pm 0,06$ и $3,46 \pm 0,01$ мм в основной и контрольной группах соответственно. Таким образом, исходные параметры подлежащего восстановлению участка альвеолярного гребня не имели различий по высоте ($p = 0,055$), но по ширине степень атрофии кости в ОГ была более значимой, чем в КГ ($p < 0,001$, по t-критерию Стьюдента).

В основной группе по новой клеточно-потенцированной методике выполнено 55 операций синуслифтинга 35 пациентам, 26 реконструктивных

операций на альвеолярном отростке верхней челюсти 15 пациентам, 31 операция на альвеолярной части нижней челюсти 18 пациентам.

В контрольной группе по общепринятой методике выполнено 52 операции синуслифтинга 32 пациентам, 28 реконструктивных операций на альвеолярном отростке верхней челюсти 20 пациентам, 37 операций на альвеолярной части нижней челюсти 21 пациенту. Распределение клинического материала по видам хирургических вмешательств представлено в таблице 13.

Таблица 13 – Виды оперативных вмешательств у пациентов с атрофией альвеолярного гребня челюстей

Вид оперативного вмешательства	Основная группа		Контрольная группа		Всего	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Синуслифтинг открытый	55	24,0	52	22,7	107	46,7
Реконструкция альвеолярного отростка верхней челюсти	26	11,4	28	12,2	54	23,6
Реконструкция альвеолярной части нижней челюсти	31	13,5	37	16,2	68	29,7
Итого:	112	48,9	117	51,1	229	100

При сравнении структуры наблюдаемых групп по видам оперативных вмешательств с помощью критерия хи-квадрат статистически значимые различия отсутствовали ($p = 0,749$).

Клинический протокол остеопластики при атрофии альвеолярного гребня челюстей в группах исследования

На этапе планирования проводили диагностическое восковое моделирование окончательной ортопедической конструкции в артикуляторе, определяли необходимость и объем аугментационных хирургических вмешательств, изготавливали навигационные шаблоны для размещения искусственных опор в нужных позициях и с корректной ангуляцией.

Перед реконструктивным хирургическим вмешательством проводили санацию зубов, удаление несостоятельных ортопедических конструкций,

профессиональную гигиену полости рта с контролем устойчивости навыка пациента по индивидуальному уходу за зубами и деснами, лечение воспалительно-деструктивных заболеваний пародонта с устранением пародонтальных карманов, предварительную коррекцию протетики, изготовление не опирающихся на участок реконструкции временных ортопедических конструкций, например, эстетических капп на период лечения.

Синуслифтинг. После премедикации, проводниковой инфраорбитальной и инфильтрационной анестезии производили разрез по гребню альвеолярного отростка в мезио-дистальном направлении с дополнительным вертикальным рассечением тканей у зубов, ограничивающих дефект. Распатором отслаивали слизисто-надкостничный лоскут, обнажая передне-латеральную поверхность верхней челюсти. Для формирования полуовального костного окна в проекции верхнечелюстной пазухи проводили распил кортикального слоя с помощью тонкого шаровидного бора в сопровождении обильной ирригации. Препарирование кости проводили строго на ее толщину, без повреждения мембраны Шнайдера. Смещение костного фрагмента осуществляли аккуратно с одновременным отслаиванием мембраны кюретой. Далее продолжали подъем мембраны по периметру остеотомического окна, последовательно, начиная с верхнего участка, затем с мезиального и дистального и, наконец, со дна пазухи. После смещения мембраны и формирования пространства, достаточного для введения нужного объема остеозамещающего материала, проводили проверку целостности выстилки – неповрежденная мембрана должна совершать движения в такт с носовым дыханием пациента. При необходимости, защищая мембрану Шнайдера, увеличивали размер костного окна (оптимальная длина 10–15 мм, высота 5–6 мм). Костные осколки, образующиеся в процессе остеотомии, собирали для использования при последующей трансплантации. Подготовленное пространство заполняли остеозамещающими материалами с низкой скоростью резорбции – гранулами Bio-Oss (Geistlich Pharma AG, Швейцария) или Calcitos (BioTech, Италия).

Объем костнопластического материала в зависимости от протяженности дефекта, пневматизации верхнечелюстной пазухи и степени атрофии кости колебался от 1,2 до 3,5 см³. В контрольной группе гранулированный остеокондуктор использовали согласно инструкции производителя: увлажняли физиологическим раствором и смешивали с кровью пациента. В основной группе использовали тот же остеозамещающий материал, но содержащий аутологичную СВФ-ЖТ. Латеральное костное окно перекрывали резорбируемой барьерной мембраной, рану ушивали без натяжения.

Реконструкция альвеолярного гребня верхней и нижней челюстей. Под местной анестезией с предварительной медикаментозной седацией проводили разрез слизистой оболочки десны по вершине редуцированного альвеолярного гребня с продолжением по десневой борозде с вестибулярной поверхности соседних зубов. Делали послабляющий вертикальный разрез, значительно выходящий за пределы переходной складки. Распатором отслаивали полнослойный лоскут с мобилизацией, достаточной для первичного закрытия раны без натяжения. Кортикальную кость воспринимающего ложа перфорировали тонким шаровидным бором для стимуляции капиллярного кровотечения из микрососудов костного мозга и лучшей интеграции с костнопластическим материалом. В качестве каркасов использовали аутологичные кортикальные блоки толщиной до 1,5 мм, взятые из области наружной кривой линии нижней челюсти и фиксированные к реципиентному кортексу винтами, или гетерологичные кортикальные блоки и костные пластины толщиной 200, 400 и 600 микронов (Lamina, OsteoBiol; Osteoplant Flex Cortical, BioTech, Италия). Подготовленную таким способом зону регенерации кости заполняли гранулированным остеозамещающим материалом ксеногенного происхождения (BioGen, BioTech, Италия; Bio-Oss, Geistlich Pharma AG, Швейцария) и измельченной аутологичной костью, полученной трепаном из внутриротовых донорских участков. Поверх реконструкта укладывали мембрану (Heart, BioTech, Италия; Evolution, OsteoBiol, Италия;

Bio-Gide, Geistlich, Швейцария; e-PTFE, Gore-Tex, США; рПТФЭ, Экофлон, СПб., Россия), щечный и нёбный лоскуты укладывали на место, рану ушивали без натяжения матрацными и перекрестными швами (полипропилен, 5-0/4-0; политетрафторэтилен 4-0/5-0, США). В контрольной группе использовали обычные костнопластические материалы, в основной группе такие же материалы комбинировали с аутологичной СВФ-ЖТ.

Послеоперационные инструкции включали прием жидкой и мягкой пищи, антисептическую обработку полости рта 6–8 раз в день 0,05 % раствором хлоргексидина до снятия швов, двухразовую чистку зубов звуковой щеткой, исключая место операции. Назначали нестероидные противовоспалительные препараты. После операции синуслифтинга проводили профилактическую антибактериальную терапию (амоксиклав 625 мг каждые 12 часов в течение 5 дней). Обезболивающие препараты пациенты принимали по мере необходимости. Осмотры и перевязки проводили на следующий день после операции, а затем реже – раз в 2–3 дня. Швы снимали через 2 недели после операции.

Отсроченно, через 6–8 месяцев после операции и оценки степени восстановления опорной кости, было установлено 620 внутрикостных дентальных имплантатов с последующим изготовлением несъемных (цементируемых или с винтовой фиксацией) ортопедических конструкций. В работе применялись титановые остеоинтегрируемые дентальные имплантаты с разным вариантом погружения в ткани – в уровень десны (359 имплантатов) и субкрестально (261 имплантат). В основной группе установлено 302, а в контрольной 318 остеоинтегрируемых дентальных имплантатов. Средний срок от остеопластики до имплантации составил 176 ± 28 и 215 ± 35 дней в ОГ и КГ соответственно (различия статистически незначимы; $p = 0,385$, по критерию Манна-Уитни). Количество установленных дентальных имплантатов в зависимости от вида оперативного вмешательства в группах исследования отражено в таблице 14.

Таблица 14 – Количество установленных остеоинтегрируемых дентальных имплантатов в группах сравнения

Вид оперативного вмешательства	Основная группа		Контрольная группа		Всего	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Синуслифтинг открытый	154	24,8	147	23,7	301	48,5
Реконструкция альвеолярного отростка верхней челюсти	80	12,9	96	15,5	176	28,4
Реконструкция альвеолярной части нижней челюсти	68	11,0	75	12,1	143	23,1
Итого:	302	48,7	318	51,3	620	100

Статистический анализ не выявил значимых различий сравниваемых групп по числу дентальных имплантаций после разных видов подготовительных оперативных вмешательств (по критерию хи-квадрат, $p = 0,462$).

Формирователи десны устанавливали с учетом стандартного нагрузочного протокола через 2–3 месяца после установки внутрикостной части дентальных имплантатов.

2.6. Методика получения стромально-васкулярной фракции жировой ткани пациентов

После стандартного дооперационного обследования, включающего общий и биохимический анализы крови, коагулограмму, тесты на серологические маркеры инфекций, пациент поступал в отделение пластической хирургии.

Малоинвазивная операция по аспирационному извлечению подкожной жировой ткани проводилась под местной тумесцентной инфльтрационной анестезией. Донорской зоной, как правило, служила гипогастральная область передней брюшной стенки. При необходимости дополнительно жир мог быть

взят с нижнебоковых отделов туловища (фланков). Операция длительностью 20–30 минут проходила с минимальным дискомфортом для пациента и не сопровождалась какими-либо осложнениями в послеоперационном периоде.

Приводим подробное описание основных этапов липоаспирации и процесса обработки жировой ткани для выделения СВФ-ЖТ (на примере липоаспирации из гипогастральной области живота для получения стандартной порции липоасpirата в 40–50 мл).

Липоаспирация

После антисептической обработки операционного поля и обкладывания стерильным бельем выполняют внутривенную инъекцию раствора лидокаина 2 % с адреналином (1 : 200000) в область пупочной воронки (точка 6 часов по циферблату). После достижения анестезии острым скальпелем делают прокол кожи и с помощью тонкой канюли и шприца Luer Lock 60 мл осторожно, последовательно, от центра к периферии инфильтрируют подкожно-жировой слой гипогастральной области живота (рисунок 8). Всего вводят 500 мл 0,3 % раствора лидокаина с адреналином (1 : 500000).



Рисунок 8 – Инфильтрация донорской зоны анестезирующим раствором

К липоаспирации приступают через 10 минут после завершения инфильтрации. К этому времени развивается вазоконстрикция, что уменьшает риск кровоизлияний и позволяет получить жир с меньшей

примесью крови. Присоединенную к шприцу канюлю (Khuori Harvesting Cannula, 12 G) вводят через прокол кожи в толщу жировой ткани. Оттягивая поршень до срабатывания замка-защелки (Byron Medical), создают вакуум и возвратно-поступательными движениями осуществляют экстракцию жировой ткани (рисунок 9).

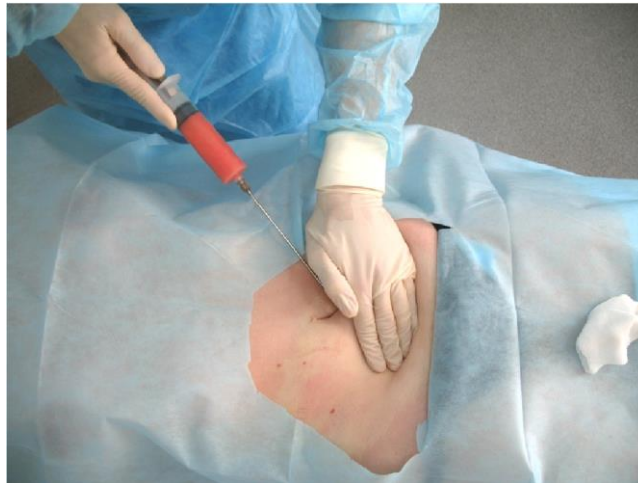


Рисунок 9 – Липоаспирация гипогастральной области передней брюшной стенки

После заполнения шприца примерно на 3/4 объема его отсоединяют от канюли и заменяют новым, не извлекая канюлю из тканей. Шприц с липоаспиратом дополняют промывочным раствором (цефтриаксона 1 г на 500 мл раствора натрия хлорида 0,9 %) и помещают в вертикальном положении коннектором вниз на специальную подставку (или в стерильную банку). Скапливающуюся внизу жидкость осторожно выдавливают поршнем, вновь шприц заполняют чистым раствором и повторяют отстаивание. Всего делают 2–3 промывочных цикла. Промытый жир с помощью переходника собирают в отдельный шприц (рисунок 10).

Область прокола укрывают отжатой спиртовой салфеткой, поверх укладывают несколько сухих стерильных салфеток для впитывания отекающих остатков инфильтрационного раствора, надевают эластический пояс (послеоперационный бандаж для живота), на полчаса прикладывают холод.



Рисунок 10 – Промытый липоаспират в шприце

После операции пациент в течение часа находился под наблюдением в стационаре. Аутологичную сыворотку коровы (10–20 мл) для последующего использования в ходе выделения СВФ-ЖТ получали из венозной крови пациента по общепринятой методике.

Обработка жира

Лиофилизат фермента коллагеназы I типа 50 мг (активность 180–290 ед/мг) растворяют в 5 мл раствора натрия хлорида 0,9 % и вводят в шприц с липоаспиратом. Объем липоасpirата доводят до 60 мл дополнительным введением чистого раствора натрия хлорида 0,9 %. Для равномерного распределения фермента осуществляют несколько перекачиваний липоасpirата из одного шприца в другой через переходник (рисунок 11).

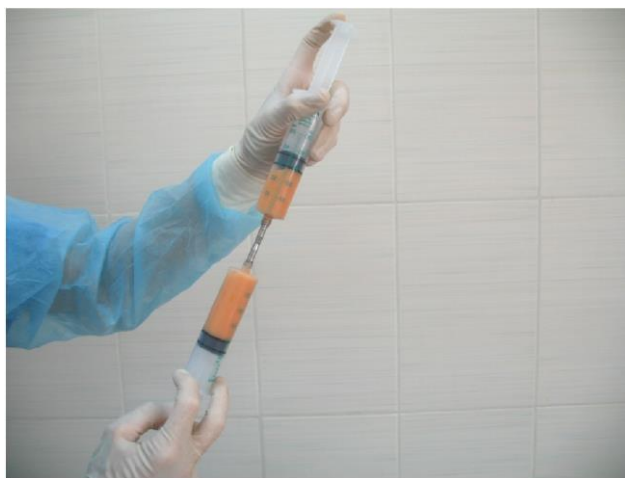


Рисунок 11 – Равномерное распределение фермента в липоаспирате с помощью двух шприцев и переходника

С помощью канюли липоаспират с добавленным ферментом переносят в герметичный стерильный пластиковый пакет (на 250 или 500 мл) и помещают его в водяную баню (термостат ELMi, Laboratory Equipment) при температуре 37 °С на 20 минут (рисунки 12, 13).



Рисунок 12 – Перенос липоаспирата с добавленным ферментом в герметичный стерильный пластиковый пакет



Рисунок 13 – Экспозиция липоаспирата в растворе коллагеназы на водяной бане при 37 °С в течение 20 минут

Во время обработки на водяной бане пакет с липоаспиратом два раза извлекают и осторожно разминают для лучшей диссоциации жировой ткани. По окончании процесса горловину пакета обрабатывают антисептическим раствором, пунктируют канюлей и откачивают суспензию в шприц (рисунок 14).



Рисунок 14 – Перенос обработанного ферментом липоасpirата из мешка в шприц

Далее суспензию распределяют по 5 мл в 12 центрифужных пробирок (рисунок 15). Для уменьшения вязкости суспензии, лучшей седиментации клеток и уравнивания пробирок объем суспензии доводят до 12 мл 0,9 % раствором натрия хлорида, пробирки закрывают завинчивающимися крышками (рисунок 16). Проводят центрифугирование (центрифуга ЦЛМН-Р10-02) (рисунки 17 и 18).

Переносят пробирки в штатив, снимают крышки, с помощью толстой канюли и шприца аспирируют верхний слой жидких липидов и флоттирующих адипоцитов, сливают надосадочную жидкость (рисунки 19, 20).



Рисунок 15 – Распределение обработанного липоасpirата по 5 мл в 12 центрифужных пробирок



Рисунок 16 – Разведение обработанного липоасpirата физраствором до 12 мл



Рисунок 17 – Центрифугирование при 3000 об/мин в течение 20 минут



Рисунок 18 – Вид материала после центрифугирования:
на дне пробирок концентрированная СВФ-ЖТ

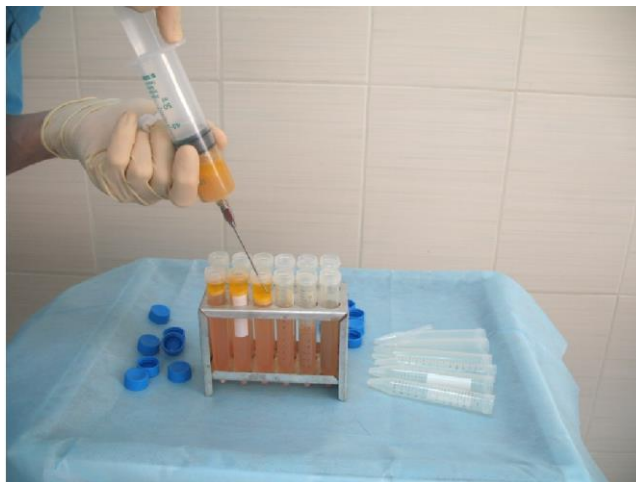


Рисунок 19 – Аспирация эмульсии липидов и флоттирующих адипоцитов



Рисунок 20 – Слив надосадочной жидкости

В первой пробирке клеточный осадок ресуспендируют в 2–3 мл сыворотки крови и аспирируют с помощью канюли и шприца (рисунок 21). Затем последовательно переносят суспензию во все оставшиеся пробирки, аналогичным образом собирая осадок и повышая концентрацию клеток. В конце весь собранный осадок переносят в отдельную пробирку и до 10 мл разводят аутологичной сывороткой крови (рисунок 22).

После экспозиции с периодическим встряхиванием пробирки проводят окончательное центрифугирование клеточной суспензии при 2750–3000 об/мин в течение 15 минут, удаляют надосадочную жидкость и получают на дне пробирки концентрированную СВФ-ЖТ. Свежевыделенную



Рисунок 21 – Разведение сывороткой крови и аспирация осадка из СВФ-ЖТ



Рисунок 22 – Ресуспендирование СВФ-ЖТ сывороткой крови
концентрированную СВФ-ЖТ (0,5–1 мл) обращают в суспензию аутологичной сывороткой крови (5–10 мл) и в таком виде сохраняют до момента использования (рисунок 23).



Рисунок 23 – Готовая к применению СВФ-ЖТ на дне пробирки

До 2018 года выделение СВФ-ЖТ проводилось автором в условиях операционной, с 2018 года – специалистами лаборатории НИИ–ККБ № 1 г. Краснодара (зав. лабораторией канд. мед. наук И.В. Гилевич) (рисунок 24).



Рисунок 24 – Выделение СВФ-ЖТ в лаборатории стандарта GMP

2.7. Методика подготовки содержащего СВФ-ЖТ костнопластического материала

Для лучшей абсорбции клеток на поверхности и в ячейках матрикса, минимизации повреждения клеток, гранулированный и/или моноблочный биорезорбируемый остеозамещающий материал вносят в пробирку со СВФ-ЖТ, ресуспендированной в аутологичной сыворотке крови. Соблюдают пропорции: 1 объемная часть концентрированной фракции (объем осадка на дне пробирки после центрифугирования) на 2–4 части остеозамещающего материала. За время экспозиции 15–30 минут при периодическом встряхивании пробирки СВФ-ЖТ адсорбируется на поверхности и внутри каналов губчатого костного заменителя, сыворотка становится прозрачной. Непосредственно перед применением пинцетом извлекают остеозамещающий материал моноблочного типа. Гранулированный материал извлекают кюреткой со дна пробирки после центрифугирования со скоростью 1000 об/мин в течение 3–4 минут и слива надосадочной жидкости.

Внешний вид и морфологические особенности использованного в работе содержащего СВФ-ЖТ костнопластического материала представлены на рисунках 25 и 26.



Рисунок 25 – Готовый к применению костнопластический материал основной группы: комбинация 2,0 см³ гранул Bio-Oss и 1,0 мл СВФ-ЖТ

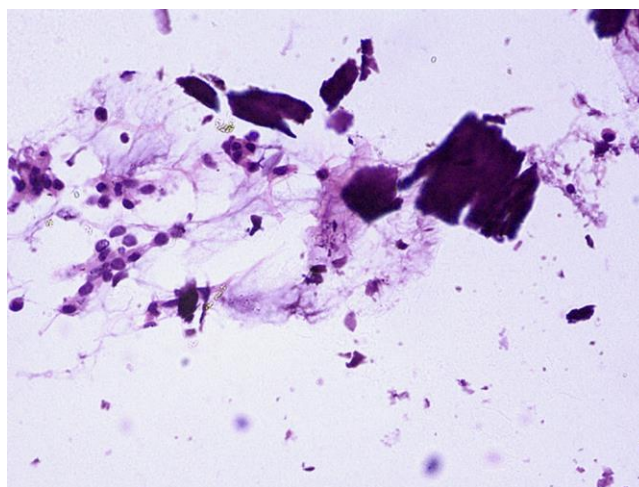


Рисунок 26 – Цитологический мазок костнопластического материала основной группы: микрофрагменты ксеногенного костного матрикса Bio-Oss окружены богатой клетками волокнистой субстанцией – аутологичной СВФ-ЖТ.
Окраска по способу Романовского. Ув. × 200

Для удобства применения подготовленный таким способом костнопластический материал пластичной формообразующей консистенции с помощью тонкой ложки Фолькмана (или кюретки) переносили в шприц объемом 1 мл с предварительно срезанной торцевой частью или использовали готовый аппликатор продукта Geistlich Bio-Oss Pen.

Количество жизнеспособных ядродержащих клеток в порции СВФ-ЖТ, используемой для выполнения одной операции, колебалось от 25 до 120 млн.

Таким образом, в состав подготовленного описанным выше способом костнопластического материала входят: 1) биорезорбируемый остеозамещающий матрикс ксеногенного или искусственного происхождения (гетеротрансплантат); 2) минимально манипулированный аутологичный клеточный материал – СВФ-ЖТ (аутотрансплантат). В качестве источника естественных остеоиндуктивных стимулов (костных морфогенетических белков и др.) может добавляться аутологичная костная крошка (аутотрансплантат). Для краткости изложения в тексте диссертации костнопластический материал такого комбинированного состава обозначен термином «трансплантат».

2.8. Методы исследования

При оценке исходного состояния пациентов, планировании лечения и анализе его результатов использовали комплекс диагностических методов, включая клинические, рентгенологические, аппаратные и морфологические исследования.

2.8.1. Клиническое обследование

Клиническое обследование включало выяснение жалоб и анамнеза заболевания, объективную оценку общего состояния и локального статуса.

Перед началом лечения проводили осмотр с определением анатомических особенностей преддверия рта, состояния слизистой оболочки ротовой полости, зубов, искусственных реставраций, типа и особенностей прикуса, состояния височно-нижнечелюстных суставов и тонуса жевательной мускулатуры. Заполнялась амбулаторная карта пациента с включением следующих параметров: зубной формулы, показателей состояния гигиены полости рта, выраженности воспалительных и деструктивных изменений зубочелюстной системы.

У больных хроническим пародонтитом оценивался ряд объективных количественных показателей, характеризующих состояние тканей ротовой полости в целом и опорного аппарата каждого вовлеченного в патологический процесс зуба.

Упрощенный индекс гигиены рта (УИГР) Грина-Вермильона использовался для оценки количества зубного налета. Количество зубных отложений оценивалось с помощью зонда, которым проводили вокруг шейки зуба, слегка вводя его в десневую бороздку: 0 – на кончике зонда налета нет; 1 – на зонде небольшое количество налета; 2 – визуально определяется тонкий слой налета около шейки зуба, а его количество на зонде значительное; 3 – визуально в придесневой области определяется значительное количество налета. При подсчете УИГР полученные цифровые значения складываются и делятся на количество обследованных зубов. Для наглядной визуализации проводилось окрашивание мягкого налета с применением 1 % раствора фуксина или с помощью рассасываемых в полости рта таблеток, содержащих эритрозин (Miradent, Германия).

Степень выраженности воспалительных изменений десен оценивалась с помощью индекса гингивита (ИГ) Силнесса-Лоэ. При этом изучали состояние десны у всех зубов, либо определенной группы со всех сторон (аппроксимальные, вестибулярные и оральные поверхности). Каждую из поверхностей оценивали в баллах по следующим критериям: 0 – воспаление отсутствует; 1 – легкое воспаление (легкое изменение цвета, легкий отек, нет кровоточивости при дотрагивании); 2 – умеренное воспаление (гиперемия, отек, кровоточивость при дотрагивании); 3 – сильное воспаление (выраженная гиперемия, отек, изъязвление, спонтанная кровоточивость). При подсчете ИГ полученные со всех поверхностей цифровые значения складывались и делились на количество обследуемых поверхностей.

Индекс кровоточивости (ИК) определяли по данным анамнеза, используя следующие критерии: 1 степень – кровоточивость появляется

редко; 2 степень – кровоточивость появляется во время чистки зубов; 3 степень – кровоточивость спонтанная и во время сна. Индекс подсчитывался в группах исследования в установленные сроки путем деления суммы значений каждого испытуемого на количество представителей группы.

Степень выраженности воспалительно-деструктивных изменений в тканях пародонта оценивали с помощью пародонтального индекса (ПИ) Рассела по следующей шкале: 0 – интактный пародонт; 1 – легкий гингивит (воспаление не охватывает весь зуб); 2 – воспаление вокруг всего зуба без повреждения эпителиального прикрепления; 6 – воспаление всей десны, наличие пародонтального кармана, зуб устойчив; 8 – выраженная деструкция всех тканей пародонта, деструкция опорного аппарата на 50 %, зуб подвижен. Оценочные критерии ПИ: 0,1–1,0 – начальная и легкая степень заболевания; 1,1–4,0 – наличие деструктивных изменений, характерных для средней степени тяжести заболевания; 4,1–8,0 – тяжелая степень заболевания.

Показатель глубины зондирования (ГЗ) определяли как расстояние от края десны до наиболее апикальной точки пародонтального дефекта. В норме глубина зондирования составляет, по данным разных авторов, от 0 до 0,5–1,0 мм и соответствует размеру зубодесневой бороздки (сулькуса). Для получения более точных и стандартизованных показателей состояния тканей опорного аппарата зуба до лечения и при оценке результатов лечения нами использована диагностическая электронная измерительная система Florida Probe (США). Система состоит из зондирующего устройства, компьютерного интерфейса, оптического кодирующего устройства, переключателя регистрации показателей и программного обеспечения. Титановый зонд работает в подвижной трубке-муфте, обеспечивающей плавность зондирования с постоянной величиной давления 20 г/см². Зонд вводится вертикально в сулькулярную борозду или пародонтальный карман

вдоль каждой из шести поверхностей (мезиальная, средняя и дистальная с вестибулярной и небной сторон) каждого зуба. Край трубки-муфты, имеющей диаметр 0,5 мм, остается на уровне десневого края, как точка отсчета. Измерения проводятся автоматически и регистрируются с помощью цифрового индикатора. Ножная педаль используется для автоматического переноса данных в компьютер с точностью до 0,2 мм.

Уровень рецессии десневого края (РецДК) определяли как расстояние от десневого края до эмалево-цементной границы (ЭМЦ) плюс 0,5 мм, так как десневой край в норме расположен на 0,5 мм корональнее ЭЦГ.

Потеря зубодесневого прикрепления (ПоЗДП) определялась как расстояние от наиболее апикальной точки костного дефекта до ЭЦГ плюс 0,5 мм (корональный уровень эпителия прикрепления в норме). Величина ПоЗДП может быть точно измерена во время операции после отслаивания слизисто-надкостничного лоскута или рассчитана как сумма показателей ГЗ и РецДК с учетом средних размеров мягкотканного прикрепления между кончиком зонда и костью.

Прирост зубодесневого прикрепления (ПрЗДП) – вычисляемый показатель, равный разности значений ПоЗДП до операции и на момент контрольного осмотра в фазе последующего наблюдения.

Тщательное исследование фуркационных зон многокорневых зубов позволяло определить степень их вовлечения в деструктивный процесс, конфигурацию (горизонтальная или вертикальная потеря прикрепления) и анатомию дефектов. Нами используется классификация фуркационных дефектов по Ramfjord и Ash: F1 – фуркация зондируется в глубину (в горизонтальном направлении) до 3 мм; F2 – фуркация зондируется в глубину более чем на 3 мм, но не является сквозной; F3 – фуркация сквозная.

Подвижность зубов определяли путем мануальной люксации зуба согласно классификации T.J. Fleszar: 0 степень – зубы устойчивы; 1 степень – осязаемая подвижность зуба при нажатии с помощью рукоятки зонда

и определение отклонения зуба пальцем до 1 мм; 2 степень – видимая подвижность зуба с отклонением до 3 мм; 3 степень – выраженная подвижностью зуба с сильным отклонением и дополнительной вертикальной подвижностью, а также с нарушением функции зуба.

У пациентов с кистозными образованиями челюстей с целью оптимального выбора лечебной тактики обращали внимание на локализацию и размер кисты, объем и структуру кости в потенциальных донорских участках (ретромолярная область, область симфиза). Пальпаторно обследовали зону альвеолярного гребня в области кистозного образования на предмет податливости кортикальной костной пластинки и состояния периоста (симптом пергаментного хруста), флюктуации и наличия свищевых ходов. С помощью инъекционной иглы и эндодонтического пластикового ограничителя определяли толщину мукопериостального лоскута с целью оценки возможности его расщепления для последующего тщательного укрытия трансплантата. Зубы, находящиеся в зоне кистозного образования, проверяли на витальность с помощью охлаждающего спрея Friljet (Voco) и аппарата для электроодонтодиагностики (Siemens, Германия). Отсутствие реакции больного на резкое охлаждение зуба и повышенные значения электровозбудимости расценивали как признаки гибели пульпы.

У пациентов с атрофией альвеолярного гребня клиническое обследование включало пальпаторное определение конфигурации подлежащих коррекции и потенциальных донорских участков челюстей, оценку межальвеолярного расстояния в области отсутствующих зубов, состояния мягких тканей в зоне операции, изготовление диагностических моделей. На этапе установки формирователя десны (через 2–3 месяца после установки внутрикостной части дентального имплантата) для оценки остеоинтеграции проводили перкутирование и мануальный контроль подвижности имплантата. Ширину кератинизированной десны – расстояние от края десны до мукогингивальной линии – измеряли в области каждого имплантата с помощью градуированного пародонтологического зонда.

2.8.2. Рентгенологические методы исследования

Рентгенологические методы исследования применяли для анализа экспериментальной остеорегенерации, а также разработки индивидуального плана хирургического вмешательства у пациентов и оценки результатов проведенного лечения.

В экспериментальном исследовании проводили сравнительную обзорную рентгенографию уложенных рядом правой и левой половин нижней челюсти морских свинок. Анализ рентгенологического изображения подвергшихся вмешательству билатеральных участков челюстной кости включал оценку их плотности, структуры, четкости границ с окружающей интактной костью. Точную количественную оценку оптической плотности регенерата делали с помощью анализа радиовизиографических гистограмм (Visualix, Gendex, США). Для этого в стандартных условиях проводилась прицельная рентгенологическая съемка объекта, цифровое изображение высокого разрешения передавалось в компьютер, где осуществлялся автоматический анализ интенсивности серого цвета вдоль линии, идущей перпендикулярно длинной оси тела нижней челюсти и пересекающей центр дефекта. На отрезке гистограммы, соответствующем анализируемому участку кости, для сравнения брали выраженные в градациях серого (от 0 до 255) три значения оптической плотности – минимальное, максимальное и среднее.

Пациентам с остеодеструктивными процессами зубочелюстной системы выполняли внутриротовые дентальные снимки и радиовизиографию (Visualix, Gendex, США) – для оценки состояния околозубной костной ткани, степени obturации корневых каналов, измерения длины корней. Обзорную ортопантографию (Ортораликс 9200 Плюс, Gendex) выполняли для определения конфигурации и размеров костных дефектов, выявления возможных изменений в других участках челюстей и смежных областях, таких как верхнечелюстной синус, фронтальные пазухи, зона ментального отверстия, нижнечелюстной канал.

Для точного определения размеров дефекта и его конфигурации, взаимоотношений с прилегающими анатомическими образованиями применялась компьютерная томография (КТ), включая опцию трехмерного построения модели. Для оценки восстановления кости по данным КТ в работе использована количественная шкала рентгеновской плотности Хаунсфилда. Исследования выполняли на аппаратах Hispeed CT/e (General Electric, США), Somatom Sensation 64 (Siemens, Германия), Planmeca ProMax 3D (Финляндия).

В области зубов, вовлеченных в кистозное образование, оценивалась степень потери костного прикрепления – отношение длины лишенного костного прикрепления участка корня зуба к общей длине корня зуба. Измерения проводились как со стороны периапикального очага деструкции кости – от верхушки корня причинного зуба до сохраненных костных структур, так и в проксимальном отделе – от эмалево-цементной границы до сохраненных костных структур альвеолы.

Для получения объективных данных о размерах альвеолярного гребня при его регрессивной трансформации по данным рентгенологических методов исследования рассчитывался ряд показателей.

Высота альвеолярного гребня верхней челюсти – расстояние (в мм) от нижней точки альвеолярного гребня до дна верхнечелюстной пазухи на месте предполагаемой имплантации.

Высота альвеолярного гребня нижней челюсти – расстояние (в мм) от вершины альвеолярного гребня до верхней стенки нижнечелюстного канала.

Ширина альвеолярного гребня – самый узкий участок между щечной и язычной кортикальными пластинами на месте предполагаемой имплантации.

В качестве объективного критерия структурно-функционального состояния реконструированной кости альвеолярного гребня использован показатель перимплантатной маргинальной костной потери (ПМКП), который оценивали в сроки 6 и 12 месяцев после завершения всех этапов

зубопротезирования. На прицельном снимке измеряли уровень костной ткани относительно шейки дентального имплантата и определяли ПМКП как разность уровней на момент осмотра и сразу после имплантации.

2.8.3. Периотестометрия

Для точной количественной оценки функционального состояния опорного аппарата зуба использовали аппарат «Периотест S2» (Medizintechnik, Австрия). Показания прибора зависят от способности тканей пародонта вернуть зуб в исходное положение после действия на него определенной внешней нагрузки и, таким образом, с высоким уровнем воспроизводимости оценивают физиологическую и субклиническую подвижность зубов (Ряховский А.Н. с соавт., 2007). При прочной позиции зуба значения периотеста составляют от -08 до $+09$; при I степени подвижности – от $+10$ до $+19$; при II степени подвижности – от $+20$ до $+29$, при III степени подвижности – от $+30$ до $+50$. Показания прибора «Периотест S2» фиксировались у каждого из вовлеченных в патологический процесс зубов верхней и нижней челюсти. Для достоверной оценки эффективности лечения сравнивали показатели периотеста в области одних и тех же зубов с учетом их исходной степени потери костного прикрепления. В случаях предоперационного шинирования зубов, имеющих выраженную патологическую подвижность, для корректных измерений делали пропилы в межзубных промежутках с последующей починкой шинирующей конструкции фотополимером.

2.8.4. Макроморфометрия

Количественную оценку степени восстановления кости проводили с помощью морфометрического анализа макропрепаратов нижней челюсти экспериментальных животных. Для этого выполняли прицельный фотоснимок оперированного участка и после корректного масштабирования

с помощью программы 3D-doctor (Able Software Corp, США) измеряли площадь остаточного дефекта. Индекс восстановления кости рассчитывали в процентах по формуле (1)

$$\text{ИВК} = \frac{19,6 - S_d}{19,6} \times 100, \quad (1)$$

где ИВК – индекс восстановления кости; 19,6 – исходная площадь (в мм²) дефекта диаметром 5 мм, S_d – площадь остаточного дефекта (в мм²).

2.8.5. Гистологический анализ

Исследование микропрепаратов нижней челюсти экспериментальных животных проводилось с целью морфологической верификации результатов остеорегенерации. Для этого выполняли декальцинацию кости в растворе трилона-Б в течение 3–4 недель. Обезжиривание и обезвоживание материала проводили в растворах этилового спирта возрастающей концентрации с последующей заливкой в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм готовили на санном микротоме. Полученные депарафинированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону. Препараты изучали с помощью оснащенного цифровой камерой светового микроскопа Leica DM 3000 (Германия) с увеличением ×100, ×200, ×400 и ×1000. Для создания панорамного изображения, передающего вид гистологического среза целиком, отдельные микрофотографии объединяли с помощью программного обеспечения Autopano Giga 4.2.

Для морфологической верификации состояния пародонта образцы околозубных тканей получали от пациентов обеих групп на этапе хирургического вмешательства (всего 10 образцов, по 5 в каждой группе), через 6 месяцев (10 в ОГ и 6 в КГ, всего 16 образцов) и через 12–24 месяца послеоперационного наблюдения (7 в ОГ и 5 в КГ, всего 12 образцов). Забор материала (кусочки околозубных тканей) производился под местной

анестезией в асептических условиях с использованием разовых скальпелей № 12 (Aesculap), минираспатора-периотома и микроножниц (Miltex, Великобритания). Срез тканевого профиля проводился вдоль корневой поверхности на всю глубину регенерата с вовлечением в структуру биоптата проксимального участка молодой костной ткани альвеолы. После взятия образцов на рану накладывалась пленка диплен-дента с хлоргексидином и адгезивная дентальная паста солкосерил до полного заживления. Материал биопсий фиксировали в 10 % нейтральном формалине в течение 3–5 суток, декальцинировали в пересыщенном растворе трилона-Б в термостате при 37 °С. Проводка материала осуществлялась помещением кусочка тканей в спирты возрастающих концентраций для обезвоживания, после чего по обычным правилам материал заливали в парафин. Подготовленные образцы резали санным микротомом. Срезы монтировались на покровные стекла, после чего депарафинировались. Гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином для обзорного изучения, пикрофуксином по Ван Гизону для идентификации тонких структур регенерата.

Для гистоморфологической оценки структур, сформированных на месте костнопластически замещенного постцистэктомического дефекта челюстной кости, проведено исследование 35 тканевых биоптатов, полученных от пациентов-добровольцев из обеих групп сравнения в ближайшие и отдаленные сроки наблюдения. Взятие материала проводили под местной анестезией в асептических условиях с использованием костных трепанов диаметром 3,5 мм (Straumann, Германия). После процедуры на рану накладывали гемостатическую губку и наносили адгезивную пленку диплен-дента, содержащую хлоргексидин. Материал трепанбиопсий фиксировали в 10 % нейтральном формалине. Декальцинацию выполняли в трилоне-Б по общепринятой методике. Проводка материала осуществлялась в спиртах возрастающей концентрации, после чего по обычным правилам материал заливали в парафин. Готовили срезы толщиной 5 мкм. Гистологические

препараты окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону. Оценка результатов проводилась с помощью светооптического микроскопа NIKON в стандартных увеличениях (ок. $\times 7$, $\times 10$; об. $\times 10$, $\times 40$, $\times 60$, $\times 90$). Микрофотографии получали с помощью цифровой камеры OLIMPUS DP10.

Для оценки количества образования кости в зависимости от состава костнопластического материала проводили гистоморфометрический анализ трепанбиоптатов, полученных на этапе подготовки канала для установки внутрикостного имплантата через 6 месяцев после синуслифтинга. Всего изучено 27 тканевых образцов, 14 от пациентов ОГ и 13 от пациентов КГ. Биопсийный материал в виде столбиков фиксировали в 10 % нейтральном формалине, промывали, декальцинировали в трилоне-Б и далее по общепринятой методике готовили 5 мкм поперечные срезы с окрашиванием гематоксилином и эозином. Препараты просматривали в оснащенной цифровой камерой световом микроскопе Leica DM 3000 (Германия) с увеличением $\times 50$, $\times 100$ и $\times 200$. В четырех рандомизированных срезах каждого образца идентифицировали и рассчитывали относительную площадь 1) витальной минерализованной ткани; 2) невитальной минерализованной ткани и 3) неминерализованной ткани. Анализ площади тканевых структур на цифровых микрофотографиях проводили с использованием программы Image-Pro (Media Cybernetics, США).

Морфологический контроль 5 образцов трансплантируемого в ОГ костнопластического материала (СВФ-ЖТ + гранулы Bio-Oss) включал приготовление на цитоцентрифуге Cytospin-4 (Shandon, Великобритания) монослойных цитологических препаратов, фиксацию их в растворе Май-Грюнвальда, окрашивание по способу Романовского. Изучение и фотосъемку препаратов проводили под увеличением $\times 100$ и $\times 200$ с помощью микроскопа Axiostar (ZEISS, Германия).

2.8.6. Иммуногистохимический анализ

Активность процессов неоваскуляризации в восстанавливаемых тканях оценивали через 6 месяцев после операции с помощью иммуногистохимической детекции маркера эндотелиальных прогениторных клеток CD34. Всего иммуногистохимическим методом изучено 32 тканевых образца: 15 секционных биоптатов после лечения ХГПСТС (8 из ОГ и 7 из КГ); 18 трепанбиоптатов после синуслифтинга (по 9 из ОГ и КГ).

Для этого депарафинированные срезы 5 мкм толщиной инкубировали с моноклональными антителами против CD34 (DakoCytomation, Дания) в разведении 1 : 20 в растворе трис-буфера при 4 °С. Визуализацию продукта иммуногистохимической реакции осуществляли с помощью биотин-стрептавидин-пероксидазного комплекса и красителя диаминобензидина в соответствии с рекомендациями производителя. Результат положительной реакции – коричневое окрашивание клеток и стенок вновь образованных сосудов. Каждый окрашенный объект расценивали как отдельный микрососуд. Для вычисления плотности микрососудов (ПМС) в автоматическом режиме с использованием программы Image-Pro (Media Cybernetics, США) на четырех рандомизированных срезах каждого образца определяли количество структур с вышеуказанными признаками на площади 1 мм². Микроскопию и цифровую фотосъемку проводили на микроскопе Axiostar (ZEISS, Германия) с увеличением ×100, ×200 и ×400.

2.8.7. Цитологический анализ

С целью тестирования цитологических характеристик СВФ-ЖТ выполнено исследование 28 образцов материала. Липоаспирацию и обработку жировой ткани для получения образцов СВФ-ЖТ проводили в «Южно-Российском центре косметологии и пластической хирургии», в хирургическом отделении клиники «Шале Сантэ».

Мужчин было 10, женщин – 18. Возраст колебался от 20 до 54 лет, составляя в среднем $36,3 \pm 1,8$ года. У 6 пациентов имелись отклонения

в здоровье: алиментарно-конституциональное ожирение легкой и средней степени, компенсированная дисфункция щитовидной железы, хронический гастрит в стадии ремиссии. Липоаспират для выделения СВФ-ЖТ получали из гипогастральной области передней брюшной стенки, боковых отделов туловища, трохантерной области бедер.

Исследования проводились в клиничко-диагностическом отделении ГБУЗ «Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница № 1 имени профессора С.В. Очаповского» (Краснодар, консультант – канд. мед. наук О.Н. Понкина), лаборатории разработки и изучения новых технологий лечения заболеваний вышеуказанного учреждения (консультант – канд. мед. наук И.В. Гилевич), лаборатории ООО «Генная и клеточная терапия» (Москва, консультант – канд. мед. наук К.А. Рубина).

Для обзорного изучения состава СВФ-ЖТ на цитоцентрифуге Cytospin-4 (Shandon, Великобритания) готовили монослойные цитологические препараты, фиксировали в растворе Май-Грюнвальда и окрашивали по способу Романовского – Гимзы. Световую микроскопию и фотосъемку проводили с помощью оснащенного цифровой камерой микроскопа Leica DM 3000 (Германия) под увеличением $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$ и $\times 1000$.

Для оценки количества и жизнеспособности клеток при поступлении в лабораторию из образца СВФ-ЖТ в транспортной среде (аутологичная сыворотка, до 10 мл) после тщательной гомогенизации взвеси отбирали 10 мкл для анализа. Оставшуюся СВФ-ЖТ распределяли на две 100 мм пластиковые чашки Петри и культивировали в стандартных условиях CO₂-инкубатора при температуре 37 °С и влажности 100 %, используя среду Advance Stem (HyClone) с добавлением 10 % коммерческого комплекта добавок и антибиотиков (пенициллин и стрептомицин). Анализ морфологии клеток в культуре проводили с помощью фазово-контрастного микроскопа AF 6000 (Leica), оснащенного CO₂-камерой для прижизненных наблюдений и цифровым фотоаппаратом с использованием объективов $\times 20$ и $\times 40$. Через

7 суток культивирования прикрепившиеся клетки снимали 0,25 % трипсином-ЭДТА (Sigma-Aldrich), ресуспендировали в 10 мл сыворотки и проводили анализ.

Подсчет витальных клеток в свежих образцах и в культуре проводили методом исключения трипанового синего (краситель проникает только в погибшие клетки). Для этого 10 мкл образца наносили на слайд и помещали в автоматический счетчик клеток Countess (Invitrogen, США). Прибор определял общее число ядросодержащих клеток и долю мертвых клеток в автоматическом режиме в соответствии с установками: Sensitivity – 85,0; Min Cell Size – 5 μm ; Max Cell Size – 60 μm ; Circularity – 80; Gating Applied: 5 μm – 60 μm .

Для удобства сравнения собственных результатов с данными литературы и оценки важных практических аспектов число клеток нормализовывалось на 1 мл обрабатываемой жировой ткани по формуле (2)

$$N = \frac{C \times 10}{30}, \quad (2)$$

где N – число клеток в СВФ-ЖТ, выделенной из 1 мл жировой ткани; C – число клеток в 1 мл образца (показания счетчика); 10 – объем образца, равный 10 мл; 30 – объем обработанной жировой ткани, равный 30 мл.

2.8.8. Иммуноцитохимический анализ

С целью верификации клеточного состава СВФ-ЖТ проводили иммуноцитохимический анализ. Для этого образцы фракции помещали в чашки Петри и культивировали до состояния монослоя клеток, используя среду DMEM с добавлением 10 % бычьей сыворотки и антибиотиков (пенициллин и стрептомицин). Клетки 1 пассажа использовали для иммунофлуоресцентного окрашивания на различные маркеры. Использовали следующие моноклональные антитела: CD13 (Serotec), CD31 (BD, Pharmingen), CD34 (BD,

Pharmingen), CD44 (Abcam), CD90 (Calbiochem), CD105 (Serotec), Pro-collagen I типа (Takara), Fibronectin (Abcam), SMA (Sigma), Desmin (Sigma) и C-kit (BD, Pharmingen). Клетки фиксировали в 10 % формалине на фосфатном буфере в течение 5 минут при комнатной температуре, после чего промывали фосфатным буфером (pH = 7,4). Далее инкубировали в 1 % растворе БСА (бычий сывороточный альбумин) с добавлением 10 % сыворотки донора вторых антител в течение 30 минут для блокирования неспецифического связывания антител. После кратковременной промывки в фосфатном буфере клетки на стеклах инкубировали с первыми антителами в разведении 1 : 100 на 1 % растворе БСА в фосфатном буфере в течение 1 часа. В качестве контроля клетки инкубировали с раствором неспецифических иммуноглобулинов (IgG) в концентрации, соответствующей концентрации первых антител. Для выявления образовавшихся комплексов первых антител с антигенами проводили инкубацию со вторыми антителами, меченными флуоресцентной меткой (Alexa), в разведении 1 : 800 в 1 % растворе БСА на фосфатном буфере при комнатной температуре в течение 40 минут. Для выявления ядер клетки докрашивали флуоресцентным красителем DAPI (Dako). Препараты заключали в среду для флуоресцентных препаратов Aqua Poly/Mount (Polysciences, Inc.). Визуализацию окрашивания и анализ изображения проводили с помощью флуоресцентного микроскопа Axiovert 200M (Zeiss, Германия), оснащенного цифровой камерой, с использованием объективов $\times 20$ и $\times 40$.

2.9. Статистическая обработка материала

Материалы исследования были подвергнуты статистической обработке с использованием методов параметрического и непараметрического анализа в соответствии с результатами проверки сравниваемых совокупностей на нормальность распределения. Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2016.

Статистический анализ проводился с использованием программы IBM SPSS Statistics 23.

Каждая из сравниваемых совокупностей количественных данных оценивалась на предмет соответствия ее распределения закону нормального распределения, для этого использовались критерий Колмогорова-Смирнова (при числе исследуемых более 60) или критерий Шапиро-Уилка (при числе исследуемых менее 60), показатели эксцесса и асимметрии, анализировались формы гистограмм.

В случае подтвержденного нормального распределения количественных показателей, полученные данные объединялись в вариационные ряды, в которых проводился расчет средних арифметических величин (M), стандартных отклонений (σ) и стандартных ошибок (m). Анализ проводился с использованием методов параметрической статистики.

Количественные показатели, распределение которых отличалось от нормального, описывались при помощи значений медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей [Q_1 ; Q_3]. Для их анализа использовались методы непараметрической статистики.

При сравнении средних величин в двух нормально распределенных совокупностях рассчитывался t-критерий Стьюдента. Полученные значения t-критерия Стьюдента оценивались путем сравнения с критическими значениями. Различия показателей считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

При сравнении средних показателей, рассчитанных для зависимых совокупностей (например, значений показателя до лечения и после лечения), использовался парный t-критерий Стьюдента. Полученные значения t-критерия Стьюдента оценивались путем сравнения с критическими значениями. Различия показателей считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Для сравнения независимых совокупностей в случаях отсутствия признаков нормального распределения данных использовался U-критерий

Манна-Уитни. При этом вначале составляли единый ранжированный ряд из обеих сопоставляемых выборок, расставив их элементы по степени нарастания признака и приписав меньшему значению меньший ранг. Затем разделяли единый ранжированный ряд на два, состоящие соответственно из единиц первой и второй выборок, в каждом из которых отдельно подсчитывали сумму рангов. После этого рассчитывали значение U-критерия Манна-Уитни. Рассчитанные значения U-критерия Манна-Уитни также оценивались путем сравнения с критическими значениями: в том случае, если рассчитанное значение U-критерия Манна-Уитни было равно или меньше критического, признавалась статистическая значимость различий.

Для сравнения нескольких связанных групп пациентов (например, значений показателя на разных этапах наблюдения) применялся однофакторный дисперсионный анализ с повторениями. Статистическая значимость изменений показателя в динамике оценивалась с помощью следа Пилля.

В основе статистической обработки данных, измеренных в номинальной шкале, лежало сравнение групп пациентов по частоте исходов в зависимости от наличия определенных факторов. Для расчета статистических критериев результаты исследования сводились в таблицы сопряженности. Сравнение групп проводилось при помощи критерия хи-квадрат (χ^2) Пирсона, позволяющего оценить значимость различий между фактическим (выявленным в результате исследования) количеством исходов или качественных характеристик выборки, попадающих в каждую категорию, и теоретическим количеством, которое можно ожидать в изучаемых группах при справедливости нулевой гипотезы. Затем значение критерия хи-квадрат Пирсона сравнивалось с критическими значениями. В том случае, если полученное значение критерия хи-квадрат превышало критическое, делался вывод о наличии статистической взаимосвязи между изучаемым фактором риска и исходом при соответствующем уровне значимости.

В случае анализа четырехпольных таблиц при значениях ожидаемого явления в одной или нескольких ячейках менее 10, но более 5, нами рассчитывался критерий хи-квадрат с поправкой Йейтса, позволяющей уменьшить вероятность ошибки первого типа, т.е. обнаружения различий там, где их нет. Поправка Йейтса заключается в вычитании 0,5 из абсолютного значения разности между фактическим и ожидаемым количеством наблюдений в каждой ячейке, что ведет к уменьшению величины критерия хи-квадрат.

В тех случаях, когда число ожидаемых наблюдений в любой из ячеек четырехпольной таблицы было менее 5, для оценки уровня значимости различий использовался точный критерий Фишера. Полученное значение точного критерия Фишера более 0,05 свидетельствовало об отсутствии статистически значимых различий. Значение менее 0,05 – об их наличии.

В качестве количественной меры эффекта при сравнении относительных показателей нами использовался показатель относительного риска (ОР), отражающий, во сколько раз риск исхода при наличии фактора риска выше риска исхода при отсутствии фактора риска. С целью проецирования полученных значений ОР на генеральную совокупность нами рассчитывались границы 95 % доверительного интервала (95 % ДИ). Значимость фактора считалась доказанной в случае нахождения доверительного интервала за пределами границы отсутствия эффекта, принимаемой за 1.

Для сравнения относительных показателей, характеризующих связанные совокупности (до и после лечения), нами использовался тест МакНемара. При этом для двух зависимых переменных выясняется, происходят ли какие-либо изменения в структуре распределения их значений. Значения критерия МакНемара интерпретировались путем сравнения с критическими значениями (Гланц С., 1999; Петри А., Сэбин К., 2003; Медик В.А., Токмачев М.С., 2007; Гржибовский А.М., 2008; Наследов А.Д., 2011; Campbell M.J. et al., 2007).

ГЛАВА 3.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТЕОРЕГЕНЕРАТОРНЫХ СВОЙСТВ СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ

3.1. Результаты

В цитологических мазках материала, полученного путем ферментативной дигестии и центрифугирования аспирированной жировой ткани морских свинок, при окрашивании по способу Романовского-Гимзы на оксифильном фоне выявляются клетки двух типов: вытянутые веретеновидные с плотным гомогенно окрашенным ядром и скудной цитоплазмой, а также более крупные округлой формы с темным гранулированным ядром и гетерогенной цитоплазмой (рисунок 27).

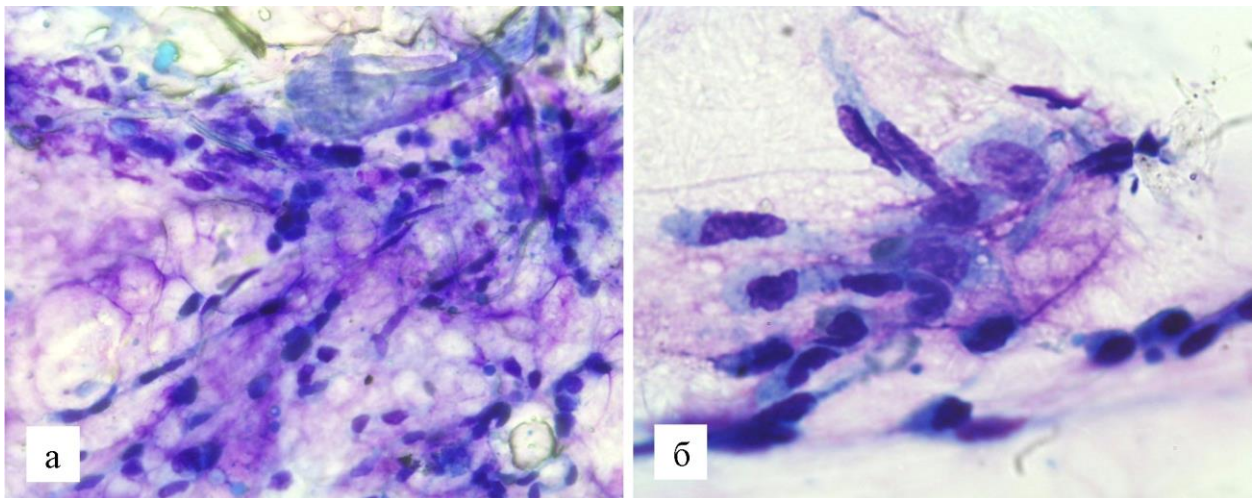


Рисунок 27 – Цитологический мазок СВФ-ЖТ морской свинки.
Окраска по способу Романовского-Гимзы. Ув.: $\times 400$ (а), $\times 1000$ (б)

При изучении макропрепаратов нижней челюсти обнаружены существенные различия между подвергшимися вмешательству симметричными участками кости одного и того же животного. Просвет левостороннего дефекта, в который выполнялась трансплантация СВФ-ЖТ, на 78–100 % заполнен новообразованной костной тканью (среднее значение

ИВК $92 \pm 8 \%$). Справа, на стороне контроля, в большинстве случаев также наблюдается уменьшение площади дефекта, но в гораздо меньшей степени (ИВК от 20 до 62 %, в среднем $42 \pm 5 \%$, $p < 0,001$ по t-критерию Стьюдента) и лишь за счет роста кости по краю дефекта (рисунок 28).

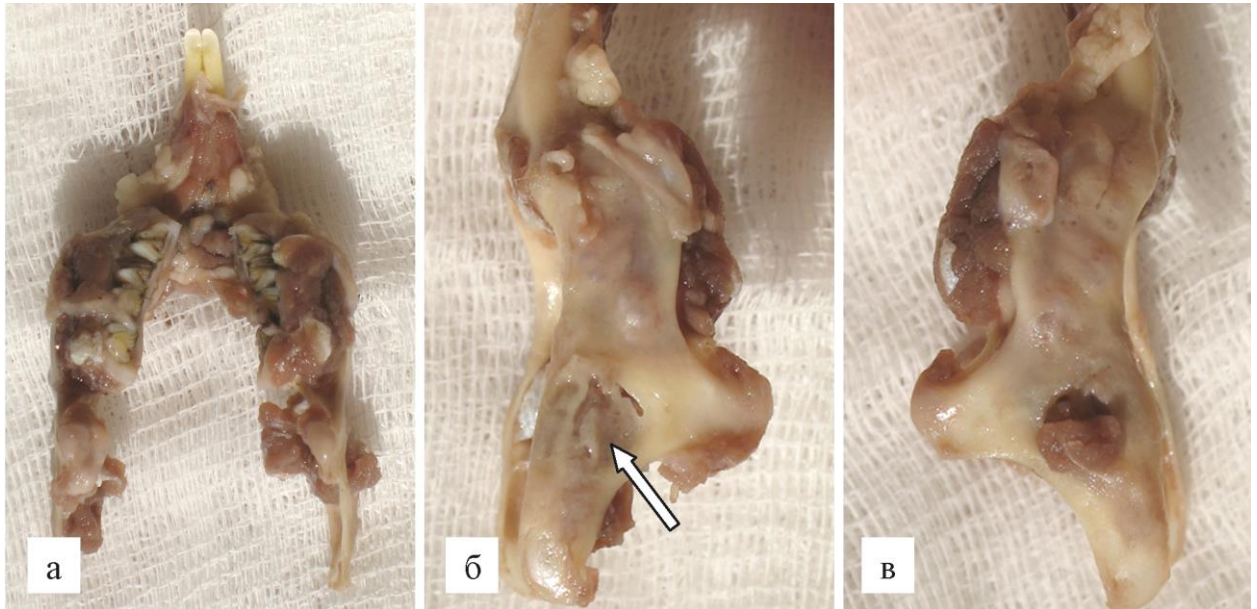


Рисунок 28 – Макропрепарат нижней челюсти морской свинки через 12 недель после остеопластики билатеральных симметричных дефектов: а) общий вид; б) на стороне эксперимента дефект заполнен новообразованной костной тканью (показано стрелкой), ИВК 94 %; в) на стороне контроля уменьшенный в диаметре дефект кости заполнен рубцовой и мышечной тканями, ИВК 40 %

Рентгенологически на стороне эксперимента область дефекта всегда имеет более высокую плотность, чем на стороне контроля, и приближается к плотности окружающей интактной кости. Контуры костного «окна» размыты, переход между новообразованной и материнской костной тканью определяется не везде (рисунок 29).

По данным радиовизиографии (рисунок 30), среднее значение оптической плотности ткани регенерата на стороне эксперимента 108 ± 2 ед. (мин. – 79 ± 2 , макс. – 125 ± 2), что статистически значимо выше ($p < 0,001$ по t-критерию Стьюдента), чем на стороне контроля: 65 ± 6 ед. (мин. – 60 ± 2 , макс. – 105 ± 4).

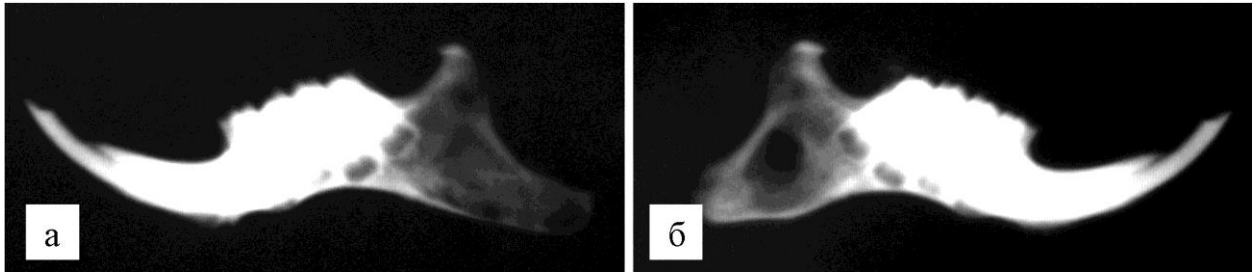


Рисунок 29 – Рентгенограмма симметричных половин нижней челюсти морской свинки через 12 недель после трансплантации: на стороне эксперимента (а) область дефекта имеет более высокую рентгенологическую плотность, чем на стороне контроля (б)

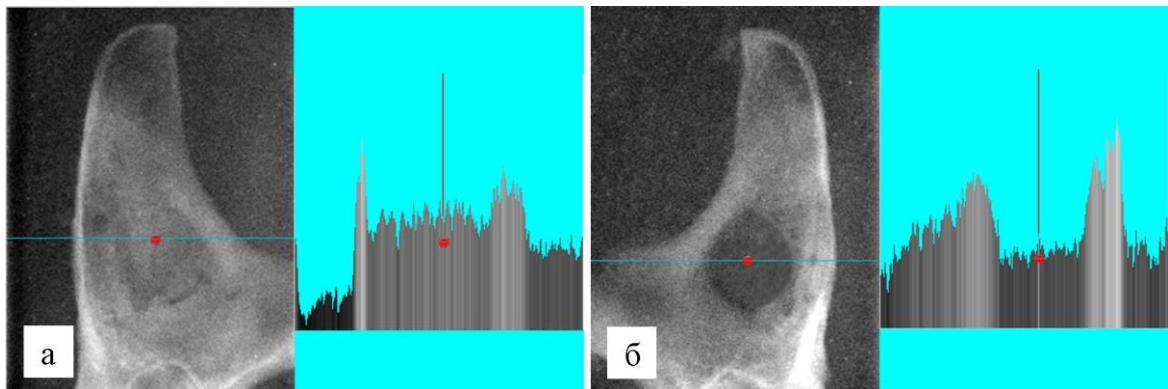


Рисунок 30 – Прицельная радиовизиограмма области бывшего дефекта нижней челюсти морской свинки с денситограммой ткани регенерата: а) «эксперимент», б) «контроль»

При морфологическом исследовании поперечных срезов оперированных симметричных участков нижней челюсти на стороне эксперимента дефект заполнен преимущественно зрелой минерализованной костной тканью. Надкостница утолщена. Встречаются демаркационные зоны повышенного обызвествления в участках, не покрытых надкостницей (рисунок 31).

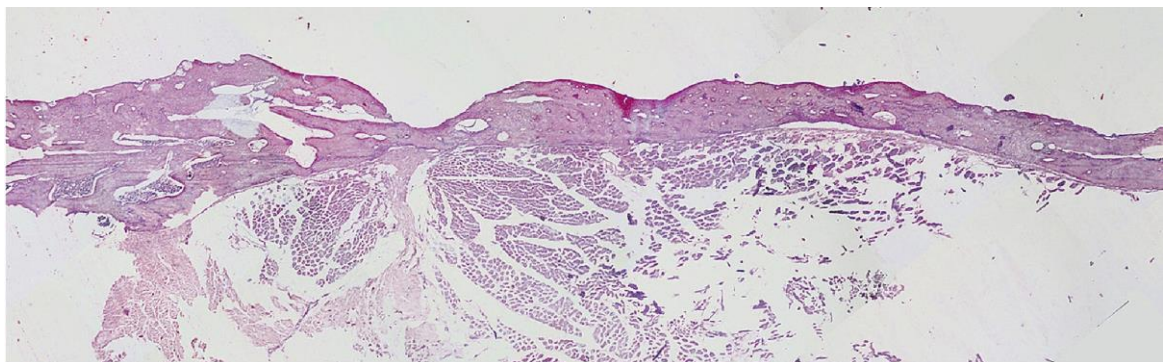


Рисунок 31 – Костная ткань, заместившая дефект нижней челюсти морской свинки. Эксперимент, 12 недель. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$

Ближе к центру дефекта новообразованная кость имеет наименьшую толщину и состоит из компактного вещества. Наблюдается формирование гаверсовых систем, характерных для пластинчатой костной ткани. Первичные и вторичные остеоны четко разграничиваются линиями цементации. Ремоделированная структура зрелой кости содержит большое количество витальных остеоцитов (рисунок 32).

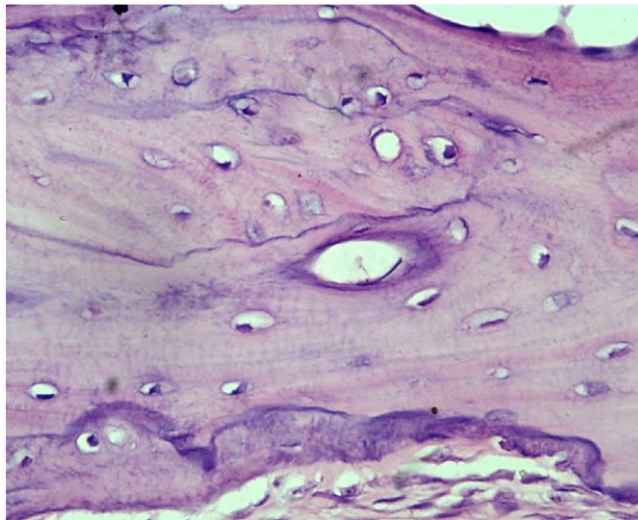


Рисунок 32 – Новообразованная костная ткань пластинчатого строения в центре дефекта. Эксперимент, 12 недель. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. ×400

От центра дефекта к периферии костный регенерат утолщается, между замыкательными пластинками появляется губчатое вещество с хорошо выраженными трабекулами и костномозговыми ячейками. Поверхность трабекул в составе первичной спонгиозы, еще определяемой в эти сроки, выстлана слоем активных остеобластов, видны хорошо васкуляризованные межтрабекулярные пространства. На некоторых препаратах часть дефекта закрыта грубоволокнистой (ретикулофиброзной) костной тканью, которая при окраске пикрофуксином по Ван Гизону имеет красный оттенок и без четкой границы переходит в минерализованную кость регенерата (рисунок 33).

На стороне контроля костного врастания в дефект не обнаружено. В диастазе, между краями дефекта, визуализируется полиморфный регенерат, представленный рыхлой неоформленной соединительной и ретикулофиброзной

костной тканями, среди которых встречаются фрагменты некротизированной кости – секвестры (рисунок 34).

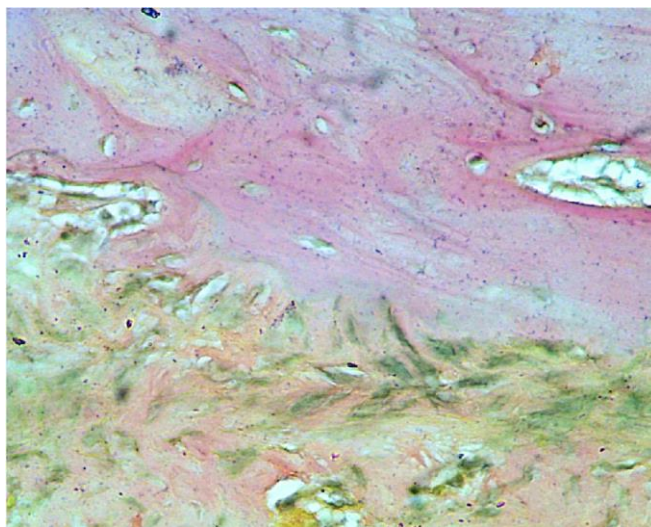


Рисунок 33 – Грубоволокнистая костная ткань и фронт ее минерализации.
Эксперимент, 12 недель. Окраска по Ван Гизону. Ув. $\times 400$

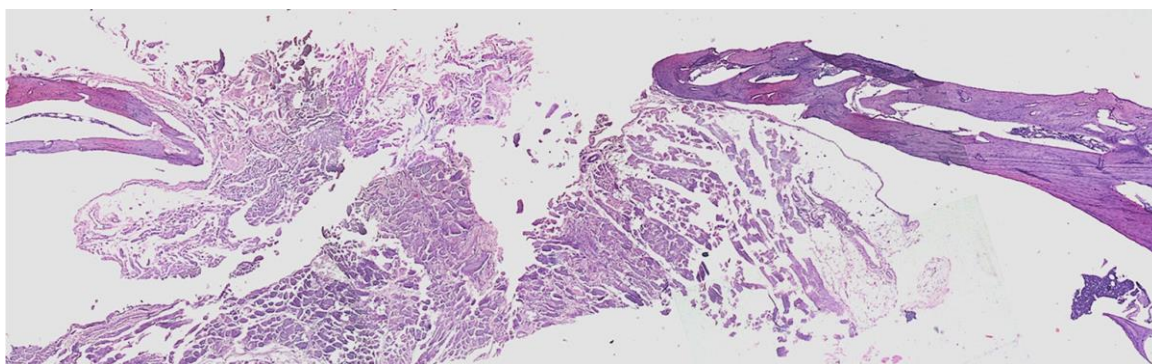


Рисунок 34 – Полиморфный регенерат в просвете сохранившегося дефекта нижней челюсти морской свинки. Контроль, 12 недель. Окраска гематоксилином и эозином.
Ув. $\times 100$

По краю дефекта определяется слой новообразованной костной ткани по типу замыкательной пластинки, формирующей тонкий вырост к центру. В половине наблюдений вблизи замыкательных пластинок каких-либо признаков остеогенеза не выявляется, а в другой половине визуализируется ретикулофиброзная костная ткань, охватывающая края дефекта наподобие муфты (рисунок 35).

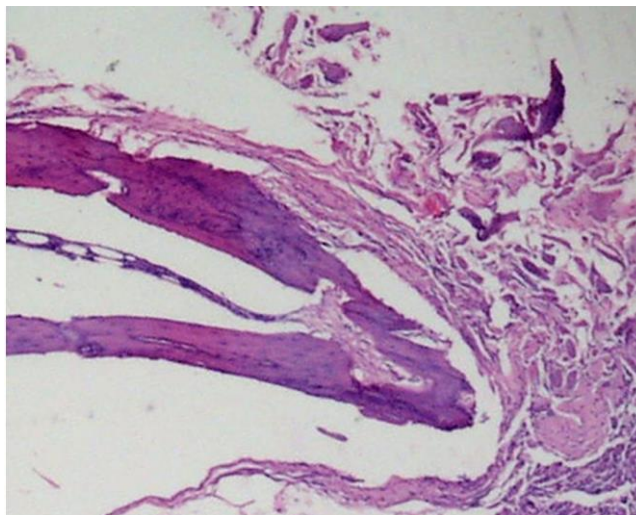


Рисунок 35 – Репаративный остеогенез в прикраевой области дефекта. Контроль, 12 недель. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. ×400

3.2. Обсуждение

Экспериментальное исследование проведено с целью проверки рабочей гипотезы о возможности оптимизации репаративного остеогенеза с помощью трансплантации в область костного дефекта аутологичной стромально-васкулярной фракции жировой ткани.

Для достижения поставленной цели из жировой ткани морских свинок выделена стромально-васкулярная фракция с соответствующими морфологическими характеристиками: преобладание фибробластоподобных клеток, большое содержание волокон соединительной ткани и фрагментов микрососудов, единичные клетки крови. Остеорегенераторные свойства СВФ-ЖТ изучены *in vivo* на split-mouth модели костного дефекта, что позволяет устранить влияние межиндивидуальной изменчивости и повысить достоверность результатов эксперимента, однако предъявляет высокие требования к технике оперирования и послеоперационной реабилитации животных. После короткого периода отработки технологии задача исследования была успешно решена на 12 морских свинках. Количество экспериментального материала определялось в соответствии с принципами

Европейской конвенции о защите животных, используемых для экспериментальных целей, т.е. было минимальным и достаточным для решения поставленной научной задачи.

В отличие от большинства других работ по изучению остеорегенераторных свойств ММСК-ЖТ, мы использовали в эксперименте не культуру клеток, а свежевыделенную СВФ-ЖТ. Преимущества такого подхода, позволяющего избежать культивирования клеток и связанных с ним рисков, очевидны. Однако до сих пор не было ясности относительно остеогенных перспектив трансплантации СВФ-ЖТ. Состав СВФ-ЖТ несколько шире, чем относительно однородная популяция культуры ММСК-ЖТ. После трансплантации СВФ-ЖТ в условиях многообразия факторов микроокружения судьба и свойства присутствующих в ней свежевыделенных ММСК-ЖТ могут быть другими, чем в представленных работах с культурой клеток.

Результаты нашей работы впервые демонстрируют исходы репаративной регенерации кости в условиях внесения в костный дефект аутологичной свежевыделенной СВФ-ЖТ. Эффективность предлагаемого нами подхода подтверждается значительным превышением площади новообразованной кости на стороне эксперимента по сравнению с контролем по данным макроморфометрического анализа препаратов нижней челюсти (ИВК $92 \pm 8 \%$ и $42 \pm 5 \%$ на стороне эксперимента и контроля соответственно, $p < 0,001$). Оптическая плотность регенерата на радиовизиограммах, которая, как известно, отражает степень его минерализации (Аранович А.М. с соавт., 2015), также существенно выше после остеопластики с ауто трансплантацией СВФ-ЖТ, чем в аналогичных условиях без клеточной трансплантации: 108 ± 2 ед. и 65 ± 6 ед. соответственно ($p < 0,001$).

Анализ результатов морфологического исследования позволяет констатировать, что на стороне эксперимента основным источником регенерации являются клетки трансплантата, костеобразование совершается путем каскадной дифференциации пересаженной ткани с образованием грубоволокнистой кости и пластинчатой кости. Причем к моменту

гистологического анализа процесс перестройки ретикулофиброзной костной ткани с приростом объема полноценной кости продолжается. На стороне контроля иная картина – костеобразовательный процесс неполноценен, реализуется только в непосредственной близости к краям костного дефекта, то есть в связи с предсуществующим источником остеогенных клеток местного происхождения.

Известно несколько естественных источников регенерации костной ткани: 1) собственные детерминированные клеточные источники регенерации – расположенные в надкостнице преостеобласты, остеобласты; 2) периваскулярные клетки; 3) стволовые стромальные клетки красного костного мозга (Данилов Р.К., 2007). Роль циркулирующих в крови остеогенных предшественников костномозгового происхождения подтверждается рядом работ (Khosla S., Eghbali-Fatourehchi G.Z., 2006; Kumagai K. et al., 2008; Matsumoto T. et al., 2008). То есть реализуемая нами стратегия – привлечение в костную рану клеточных источников регенерации, расположенных в других тканях, – филогенетически обусловлена и полностью согласуется с принципами биомиметики.

При осуществлении предлагаемого нами способа остеопластики не проводится культивирование клеток, которое связано с риском инфицирования клеточной популяции, контаминации чужеродным материалом животного происхождения из питательной среды, непредсказуемого изменения свойств клеток (Shahdadfar A. et al., 2005; Wang Y. et al., 2005; Di Battista J.A. et al., 2014; Wang X. et al., 2015). В качестве остеоиндуктора используется измельченная аутокость, в минимальном количестве добавляемая в клеточный трансплантат. Можно предположить, что эти частицы травмированной кости по аналогии с репаративным процессом при переломах создают условия для «пробуждения пролиферативных потенций» (Зайченко А.И., Потанина М.Н., 1968). Выделяемые ими ростовые факторы и неколлагеновые белки обладают высокой биологической активностью и, воздействуя на клетки-мишени трансплантата, стимулируют дифференцировку клеток и остеогенез наиболее естественным

образом (Гололобов В.Г., 1997). Относительно недавно появилась информация о способности СВФ-ЖТ через паракринные и/или аутокринные механизмы регуляции индуцировать остеогенную дифференцировку ММСК (Choi J.-W. et al., 2017).

Роль остеогенного матрикса выполняют присутствующие в СВФ-ЖТ разной степени диссоциации коллагеновые волокна и гомогенизированный аутоколлаген. Это обеспечивает максимальную площадь контакта трансплантата с окружающими тканями, высокую скорость проникновения в него клеток воспринимающего ложа и создает условия для быстрой перестройки формирующейся кости в соответствии с условиями механической нагрузки.

Таким образом, настоящим исследованием установлено оптимизирующее влияние трансплантированной аутологичной СВФ-ЖТ на репаративную регенерацию костной ткани в области дефекта челюстной кости в эксперименте. Изучен и сопоставлен репаративный остеогистогенез без внесения и с внесением в область критического повреждения кости СВФ-ЖТ, доказана эффективность ауотрансплантации СВФ-ЖТ при устранении дефектов кости, причем без предварительного этапа клеточной экспансии и/или остеогенной предифференцировки в условиях *ex vivo*. Естественным индуктором остеогенной дифференцировки может служить небольшое количество нативной измельченной аутокости, остеогенным матриксом – присутствующий в СВФ-ЖТ аутоколлаген.

Полученные результаты демонстрируют целесообразность применения нового способа костной пластики, включающего ауотрансплантацию аутологичной СВФ-ЖТ, для устранения дефектов кости (патент РФ на изобретение № 2336841, приоритет от 26.10.2006). От известных прототипов способ отличается малой травматичностью, иммунологической и онкогенной безопасностью, не требует существенных материальных затрат и его принцип может быть применен для совершенствования методов восстановительно-реконструктивной хирургии опорных тканей полости рта.

ГЛАВА 4.

ОЦЕНКА ХАРАКТЕРИСТИК СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ЧЕЛОВЕКА

4.1. Обзорная морфологическая характеристика СВФ-ЖТ

При световой микроскопии мазков СВФ-ЖТ в поле зрения преобладают удлинённые веретенообразные фибробластоподобные клетки с плотным гомогенноокрашенным овальной формы ядром и скудной цитоплазмой. Отростками клетки соединены в рыхлую сеть. Отдельно лежащие клетки имеют округлую форму. Присутствуют единичные клетки крови, адипоциты, макрофаги и лаброциты. Фон мазка оксифильный гомогенный, встречаются волокнистые структуры и фрагменты капилляров. Микрофотографии цитологических мазков СВФ-ЖТ представлены на рисунках 36–38.

В процессе культивирования образцов СВФ-ЖТ клетки быстро размножаются с периодом удвоения около 68 часов. На ранних стадиях (7–9 суток) популяция гетероморфна и состоит преимущественно из распластанных, отростчатых и полигональных фибробластоподобных клеток.

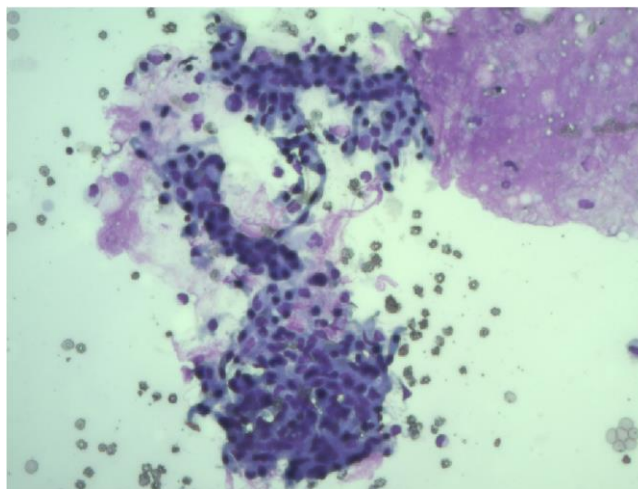


Рисунок 36 – Фибробластоподобные клетки, оксифильные волокна, единичные эритроциты, макрофаги и тучные клетки. Мазок СВФ-ЖТ. Окраска по способу Романовского-Гимзы. Ув. $\times 200$

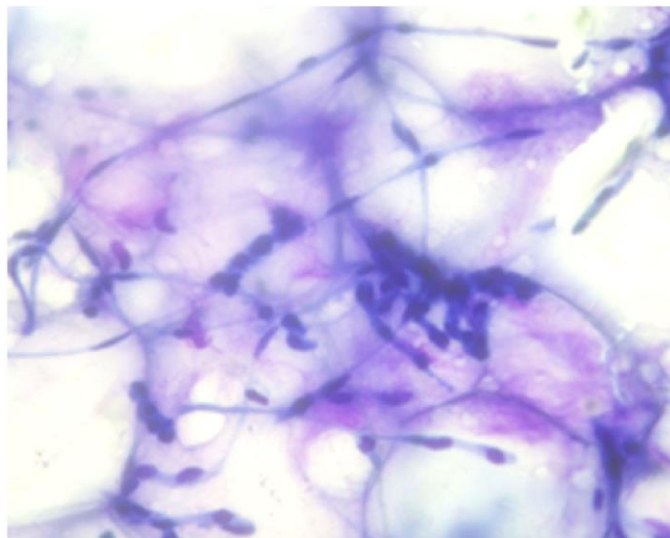


Рисунок 37 – Строма жировой ткани с вытянутыми фибробластоподобными клетками, соединенными в рыхлую сеть. Мазок СВФ-ЖТ.
Окраска по способу Романовского-Гимзы. Ув. $\times 400$

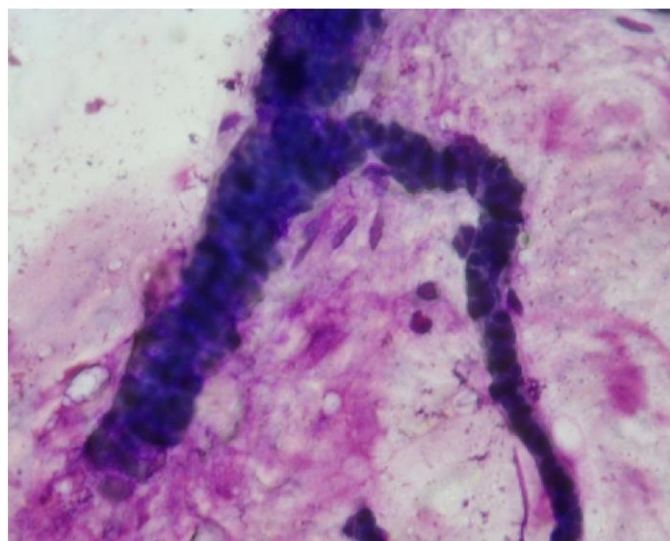


Рисунок 38 – Обрывок капилляра с периваскулярными клетками. Мазок СВФ-ЖТ.
Окраска по способу Романовского-Гимзы. Ув. 400

К концу первого пассажа (9–12 суток), по мере пролиферации и уплотнения культуры до субконфлюэнтного монослоя (60–80 % заполнения клетками культуральной поверхности), клетки принимают веретеновидную форму. Микрофотографии культуры СВФ-ЖТ в фазовоконтрастном изображении представлены на рисунках 39 и 40.

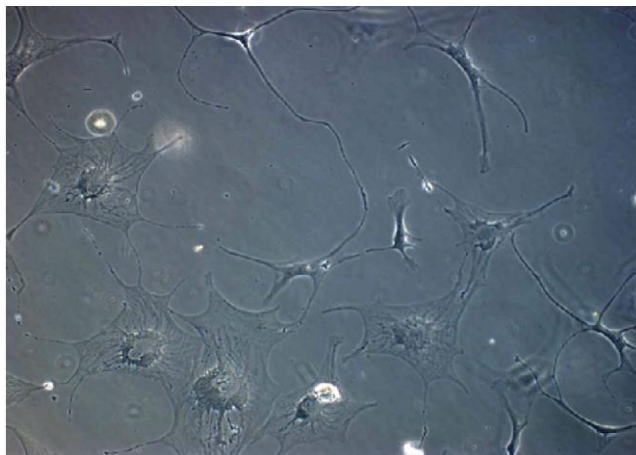


Рисунок 39 – Гетероморфные клетки на ранних стадиях культивирования СВФ-ЖТ.
Фазовоконтрастное изображение. Ув. $\times 400$

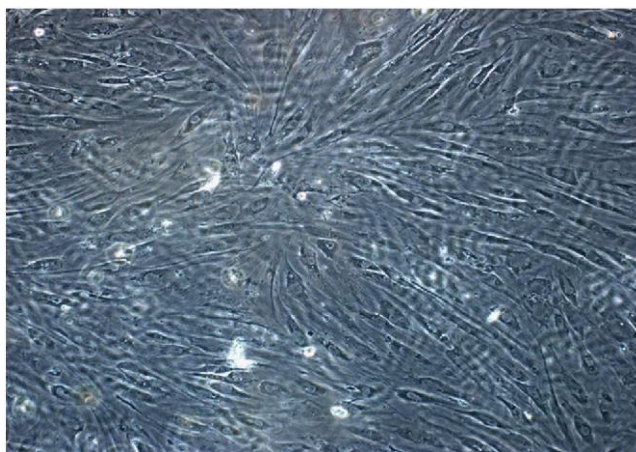


Рисунок 40 – Веретеновидные фибробластоподобные клетки в конце пассажа.
Фазовоконтрастное изображение. Ув. $\times 400$

4.2. Иммунофенотип и число клеток СВФ-ЖТ

По данным иммунофлуоресценции, в конце первого пассажа от 95 до 100 % клеток культуры СВФ-ЖТ экспрессируют маркеры ММСК: CD13, CD44, CD90, CD105. Небольшое количество клеток (от 15 до 25 %) в образцах экспрессируют CD31 (маркер эндотелиальных клеток), С-kit (рецептор к фактору стволовых клеток SCF и некоторых других прогениторных клеток), десмин и гладкомышечный актин (маркеры мышечных клеток). Примеры флуоресцентного иммунохимического окрашивания культивируемых клеток на тестируемые антигены-маркеры представлены на рисунках 41 и 42.

Для визуализации антигенов клеточной поверхности использован красный флюорохром Alexa, ядра докрашены синим DAPI.

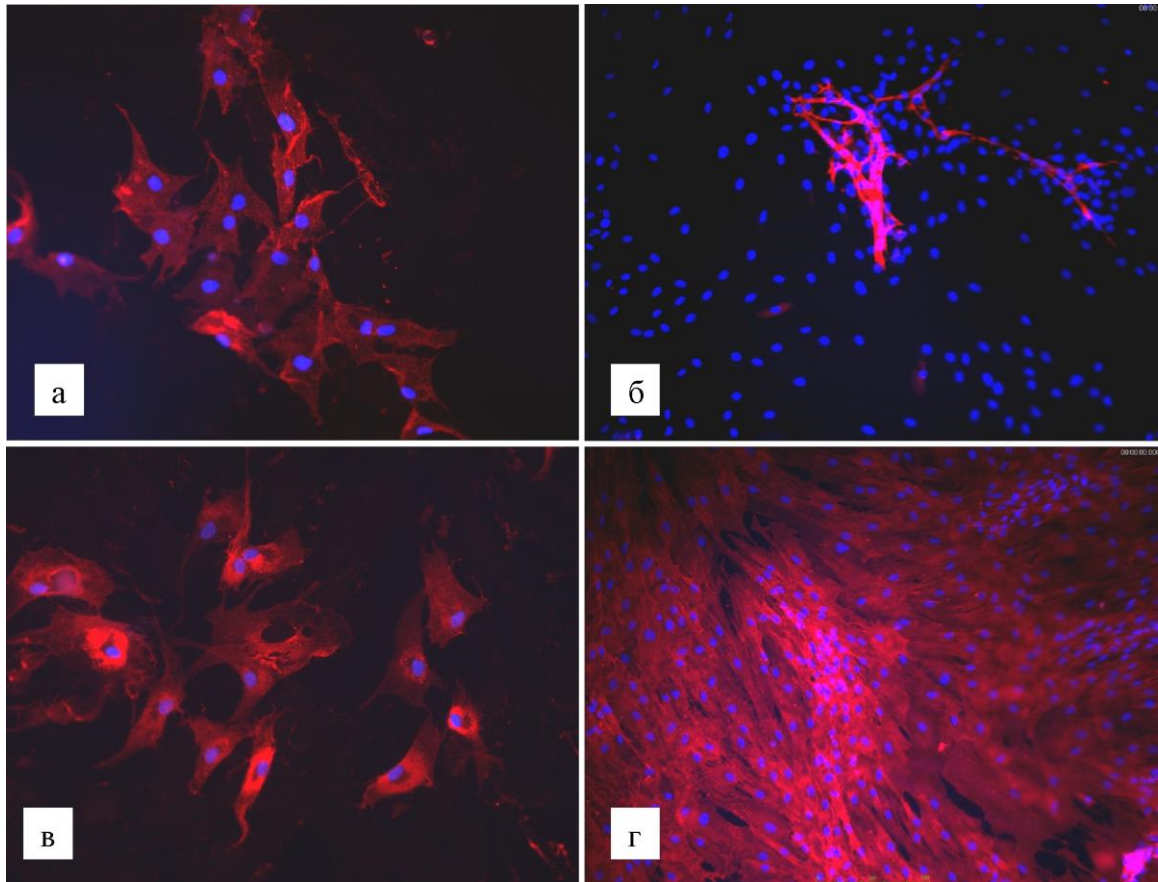


Рисунок 41 – Флуоресцентное иммунохимическое окрашивание клеток СВФ-ЖТ в культуре первого пассажа антителами против CD13 (а), CD31 (б), CD44 (в), CD90 (г)

CD34-позитивных клеток в культуре не обнаружено (маркер гематопозитических стволовых клеток). Культивируемые клетки синтетически активны в отношении компонентов внеклеточного матрикса, таких как фибронектин и коллаген I (в клетках обнаружена экспрессия предшественника коллаген I типа – Pro-collagen I).

Количество ядродержащих клеток в исследуемых образцах СВФ-ЖТ в среднем $2,1 \pm 0,4 \times 10^6$ в пересчете на 1 мл обработанной жировой ткани. Жизнеспособность клеток на момент тестирования составляет 78 %. Через 7 суток культивирования популяция насчитывает $2,7 \pm 0,5 \times 10^4$ пластик-адгезивных клеток на 1 мл обработанной жировой ткани. Жизнеспособность 86 %.

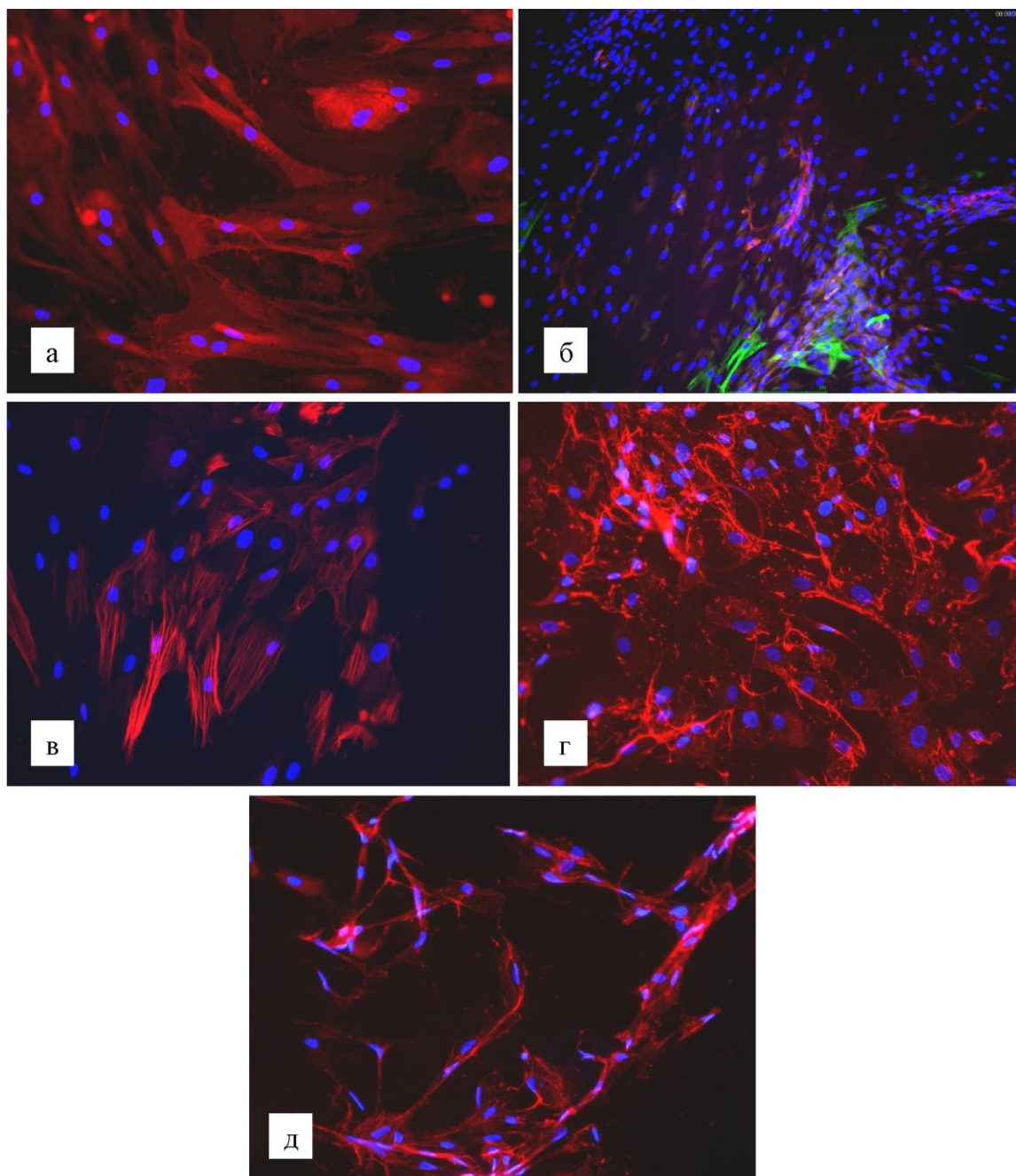


Рисунок 42 – Флуоресцентное иммунохимическое окрашивание клеток СВФ-ЖТ в культуре первого пассажа антителами против CD105 (а), С-kit и десмина (б), гладкомышечного актина (в), фибронектина (г), проколлагена I (д)

4.3. Обсуждение

В настоящей работе использован ферментативный метод выделения стромально-васкулярной фракции жировой ткани (СВФ-ЖТ), прототип которого представлен в цитобиологических исследованиях Р. Zuk с соавт.

(Zuk P.A. et al., 2001). Метод был модифицирован с целью адаптации к клиническим условиям. Так, вместо эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) используется аутологичная сыворотка крови. Это исключает риск передачи пациенту вирусных прионов и иммуногенных чужеродных белков. Для промывки клеток вместо фосфатного буфера нами используется официальный физиологический раствор. Для профилактики инфекционных осложнений предложено добавлять в промывочный раствор антибиотик широкого спектра действия. Следующим усовершенствованием метода является использование полужакрытого цикла обработки жира, минимизирующего контакт с открытым воздухом. Это исключает риск контаминации и оксидативного повреждения клеток.

Важным клиническим аспектом является длительность этапа приготовления СВФ-ЖТ. По нашей методике весь процесс занимает 60 минут. Параметры обработки липоасpirата с использованием различных автоматизированных систем приведены в исследовании J.A. Aronowitz и J. D. Ellenhorn (2013): рабочий цикл системы Celution (Cytori Therapeutics, США) был самым коротким и составил 90 минут, тогда как системы Multi Station (PNC International, Gyeonggido, Корея) и Lipokit (Medi-Khan, США) были самыми медлительными – 110 минут (Aronowitz J.A., Ellenhorn J.A., 2013).

Немаловажным является экономический аспект. Стоимость медикаментов и расходных материалов для обработки стандартной 50 мл порции липоасpirата по нашему протоколу составляет 7836 рублей. Для сравнения: стоимость реагентов и принадлежностей одноразового использования для системы Celution (Cytori Therapeutics, США) составляет 1950 долларов США за процесс, для самой «дешевой» в эксплуатации системы Multi Station (PNC International, Gyeonggido, Корея) – 460 долларов США за процесс (Aronowitz J.A., Ellenhorn J.A., 2013).

Проведена оценка качественных и количественных характеристик стромально-васкулярной фракции, выделяемой из жировой ткани людей по

собственной методике. Полученные результаты свидетельствуют о корректности применяющегося в работе протокола обработки липоаспира с высокой эффективностью выхода гетероморфных ядросодержащих клеточных форм, включая жизнеспособные пластик-адгезивные фибробластоподобные клетки с экспрессией маркеров ММСК и синтетической активностью *in vitro*.

Известно, что для репаративного гистогенеза большое значение имеют процессы межклеточного взаимодействия и перемещения клеток. Дистантные межклеточные взаимодействия осуществляются путем секреции широкого спектра факторов роста и цитокинов. Фактор роста фибробластов (FGFs), фактор роста гепатоцитов (HGF), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), трансформирующий фактор роста (TGF- β), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), фактор стромальных клеток (SDF-1), фактор роста нервов (NGF), интерлейкины (IL-6, IL-8, IL-17), ангиогенин, ангиопоэтин активно продуцируются ММСК-ЖТ и оказывают стимулирующее влияние на пролиферацию и дифференцировку клеток (Клишов А.А., 1984; Cao Y. et al., 2005; Moon M.H. et al., 2006; Yoshimura K. et al., 2009). Контактные межклеточные взаимодействия обеспечиваются большой группой поверхностных молекул, в том числе идентичных молекулярным маркерам ММСК-ЖТ. Интегрины и адгезивные молекулы клеточной поверхности, такие как аминокептидаза N/CD13, трансмембранный протеогликановый рецептор к гиалуроновой кислоте CD44, гликозилфосфатидилинозитол-связанный гликопротеин Thy-1/CD90, связывают с внеклеточной стороны молекулы экстрацеллюлярного матрикса, а внутри клетки – белки цитоскелета (например, актиновые микрофиламенты). Так возникает связь внутри- и внеклеточных структур, что позволяет клетке использовать для перемещения собственный сократительный аппарат (Данилов Р.К., 2007). Рецептор CD44 содействует быстрой преципитации аутотрансплантированных

ММСК к гиалурону внеклеточного матрикса реципиентного ложа, тем самым препятствует их пассивной миграции с крово- и лимфотоком, обеспечивает интеграцию с резидентными клетками и повышает выживаемость клеток *in vivo* (Aruffo A. et al., 1990). Факторы, тормозящие пролиферацию и дифференцировку клеток, также принимают кооперативное участие в гистогенезе, обеспечивая правильную (органотипическую) клеточно-дифференцированную организацию новообразованной ткани. Например, трансформирующий фактор роста – β (TGF- β) стимулирует размножение соединительнотканых клеток, но блокирует размножение многих типов эпителиоцитов (Данилов Р.К., 2007). Идентичный CD105 трансмембранный гликопротеин подавляет передачу сигналов TGF- β , а также связывает другие факторы роста, такие как активин-А и КМБ (Aslan H. et al., 2006).

CD31 экспрессируется клетками сосудов и в высокой концентрации обнаруживается в межклеточных соединениях эндотелия (Albelda S.M. et al., 1991). По данным литературы, для ММСК-ЖТ не характерна экспрессия этого антигена (таблица 1). В нашем исследовании в культуре первого пассажа имеются единичные наблюдения иммунофлюоресцентного окрашивания антителами против CD31 в виде структур с разветвленным древовидным контуром (рисунок 41, б). Скорее всего, так визуализируются фрагменты микрососудов, хорошо представленные на цитологических мазках свежесыводенной СВФ-ЖТ (рисунок 38). Известно, что ММСК-ЖТ способны стимулировать образование новых сосудов путем васкулогенеза – дифференцировки в эндотелиальные клетки и паракринной активации резидентных эндотелиальных прогениторных клеток (Любарский М.С. с соавт., 2010; Miranville A. et al., 2004; Planat-Benard V. et al., 2004; Rehman J. et al., 2004; Scherberich A. et al., 2010). Обнаруженные нами эндотелиальные клетки и обрывки капилляров могут улучшать неоваскуляризацию тканей в области трансплантации СВФ-ЖТ за счет дополнительных механизмов. Так ранее было показано, что дифференцированные эндотелиальные клетки

спонтанно формируют трехмерные сетевидные структуры в культуре ткани *in vitro* и капиллярные сети *in vivo* в начальной фазе ангиогенеза до начала микроциркуляции крови; фрагменты микрососудов могут служить эндогенным матриксом для регенерации функционального микроциркуляторного русла и артериогенеза (Глотов В.А., 2010; Carmeliet P., 2000; Koh Y.J. et al., 2011).

По данным иммунофлюоресцентного окрашивания, незначительное количество клеток в культуре СВФ-ЖТ первого пассажа экспрессирует С-kit (CD117). Известно, что идентичная этому молекулярному маркеру тирозинкиназа специфически активируется фактором роста стволовых клеток (stem cell factor, SCF) при инициации клеточной пролиферации и дифференцировки (Yarden Y. et al., 1987). Тот факт, что иммунофлюоресцентные метки С-kit и десмина – раннего маркера клеток миогенной природы – солокализованы (рисунок 42, б), позволяет предположить наличие в культуре коммитированных клеток на этапе гладкомышечной дифференцировки. Это согласуется с данными литературы о возможности дифференцировки С-kit-положительных ММСК в кардиомиоциты при эмбриональном развитии и постинфарктной регенерации миокарда (Fazel S. et al., 2006; Li M. et al., 2008). Регистрируемое в культуре СВФ-ЖТ первого пассажа иммунофлюоресцентное окрашивание антителами против гладкомышечного актина свидетельствует о присутствии в популяции зрелых гладких миоцитов из васкулярного компонента фракции и/или преддифференцированных в миогенном направлении ММСК-ЖТ (рисунок 42, в).

С построения коллагенового матрикса фибробластами начинается репаративная регенерация большинства соединительных тканей (Бобро Л.И., 1990; Афанасьев В.В., 2010; Reddi A.H., 1975). В работе Р.В. Деева (2006) показаны лучшие результаты остеогенеза при введении в костную рану культивированных костномозговых стромальных клеток в комбинации

с коллагеновым гелем. По мнению автора, «коллагеновый гель создает дополнительный трехмерный матрикс, который необходим остеогенным клеткам для реализации остеобластических потенций, изначально моделирует их расположение в формирующемся регенерате наподобие их естественной архитектоники в составе костного мозга» (Деев Р.В., 2006). Представленный на рисунке 36 микропрепарат свидетельствует о том, что в процессе обработки жировой ткани по представленному выше протоколу коллагеновые волокна частично сохраняются и, по сути, могут играть роль коллагенового матрикса для быстрого начала регенерационных процессов в области трансплантации СВФ-ЖТ. Кроме того, выделенные из жира стромальные клетки сохраняют свою важную функцию при репаративной регенерации соединительных тканей – синтез компонентов экстрацеллюлярного матрикса, таких как коллаген и фибронектин (рисунок 42, г–д).

В подкожной жировой клетчатке, как в ткани обновляющегося типа, присутствуют все клетки гистогенетического ряда – от стволовых до высокодифференцированных и гибнущих. СВФ-ЖТ содержит в своем составе: 1) истинные покоящиеся мезенхимальные стволовые клетки; 2) мультипотентные полустволовые клетки-предшественники. Возможно присутствие клеток, находящихся на промежуточной стадии дифференцировки – преадипобластов и адипобластов. Зрелые и стареющие жировые клетки – адипоциты – удаляются из фракции в ходе обработки липоаспираата. Такая совокупность клеточных форм разной степени зрелости обуславливает полезные для регенерации тканей свойства СВФ-ЖТ. Истинные мезенхимальные стволовые клетки, обладая наибольшей пластичностью, под влиянием микроокружения могут давать почти любую клеточную линию, причем не ограничиваясь одним зародышевым листком, а, согласно данным литературы, проявляя и трансгерминальный потенциал (Ashjian P.H. et al., 2003). Ранние мультилинейные клетки-предшественники (малодифференцированные и юные фибробласты, периваскулярные

и эндотелиальные прогениторные клетки), минуя стадию детерминации и отчасти дифференциации, обеспечивают основные направления гистогенетической организации соединительной ткани – биосинтез и организацию матрикса, ангиогенез и неоваскуляризацию (Usami K. et al., 2009; Seebach C. et al., 2012).

Важным условием эффективности регенеративного лечения с применением клеточной трансплантации является достаточное количество клеток. По данным литературы, количество ядродержащих клеток, выделенных из 1 грамма жировой ткани, составляет от 200 тыс. до 2 млн при ручном способе экстракции СВФ-ЖТ (Тепляшин А.С., 2005; Сергеева Н.С. с соавт., 2006; Cervelli V. et al., 2011) и около 50 тыс. – при использовании автоматизированной системы Celution (Cervelli V. et al., 2011). Наши результаты показывают, что из 1 мл липоасpirата может быть получено в среднем $2,1 \pm 0,4 \times 10^6$ ядродержащих клеток. В это число входят все клетки жировой ткани, кроме зрелых адипоцитов: фибробластоподобные стромальные клетки, эндотелиальные и гладкомышечные клетки микрососудов, гистиоциты. Отличительной особенностью ММСК являются их высокие адгезивные свойства (Minguell J.J., Erices A., Conget P., 2001). Многие авторы оценивают содержание ММСК по числу клеток, адгезировавших к пластику в условиях культивирования. Однако данные литературы значительно разнятся. Сравнительный анализ затруднен, так как количество клеток в культуре зависит от многих факторов: жизнеспособности засеваемых клеток, плотности посева, длительности культивирования, состава среды и других. Так, в работе О.В. Повещенко с соавт. (2008) количество прикрепившихся клеток в конце первого пассажа в пересчете на 1 мл обработанной жировой ткани составляет 400–500 тыс. клеток (плотность посева 500 клеток/см²); по данным Н.С. Сергеевой с соавт. (2006), в культуре через 14–20 дней в состоянии предконфлюэнтного слоя насчитывается в среднем $262\,400 \pm 29\,600$ клеток из 1 грамма ткани

(плотность посева от 60 до 600 тыс. клеток/см²); по данным А.С. Тепляшина (2005), количество прикрепившихся ММСК, выделенных из 1 грамма жировой ткани, составляет 15–30 тыс. клеток при плотности посева 1 млн клеток/см² (Тепляшин А.С., 2005; Сергеева Н.С. с соавт., 2006; Повещенко О.В. с соавт., 2008). Нами установлено, что через 7 суток культивирования образцов СВФ-ЖТ с культурального пластика удается снять в среднем $2,7 \pm 0,5 \times 10^4$ клеток на 1 мл обработанной жировой ткани. Доля прикрепившихся клеток, рассчитанная как процентное отношение числа клеток в 7-суточной культуре СВФ-ЖТ к числу клеток в свежевыделенной фракции, колеблется от 0,5 до 2,5 %, составляя в среднем $1,5 \pm 0,4$ %. Плотность посева 135–290 тыс. клеток/см².

Исходя из результатов количественного анализа образцов СВФ-ЖТ, можно подсчитать, что из 100 мл жировой ткани, которые легко могут быть получены от пациента среднего питания под местной анестезией, можно выделить более 160 млн жизнеспособных ядродержащих клеток, из которых примерно 2,4 млн (1,5 %) по признаку адгезии к культуральному пластику могут быть отнесены к ММСК. Достаточно ли этого количества клеток для решения задач восстановительно-регенеративного лечения пациентов с патологией тканей челюстно-лицевой области? Исследований, на которые можно было бы сослаться при ответе на этот вопрос, крайне мало. В практических рекомендациях диссертационного исследования Н.Н. Золотовицкой (2007) для коррекции атрофических рубцов указывается доза от 1 до 10 млн культивированных фибробластов в зависимости от состояния рубца и окружающей его кожи, от площади рубцовой поверхности (Золотовицкая Н.Н., 2007). В работе G.S. Munavalli с соавт. (2013) продемонстрирована успешная коррекция атрофических рубцов путем введения аутофибробластов в дозе 1–2 млн клеток в 1 см² рубцовоизмененной кожи (Munavalli G.S. et al., 2013). В работе И.И. Степановой (2009) установлено оптимальное количество

аутофибробластов для введения в мягкие ткани краевого пародонта при рецессиях слизистой оболочки и дефиците десны – не более 5 млн клеток в 0,3–0,4 мл физраствора (Степанова И.И., 2009). Согласно рекомендациям по применению препарата «Культура клеток диплоидных человека для заместительной терапии», перед имплантацией в пародонтальный костный дефект остеопластический материал помещают во взвесь клеток в концентрации 50 тыс. клеток в 1 мл (Применение препарата «Культура клеток диплоидных человека для заместительной терапии» в современной стоматологии. Екатеринбург, 2004). Исходя из данных о площади контакта каждой стромальной клетки с подложкой в условиях *in vitro* и площади поверхности всех каналов и плоскостей губчатого костного матрикса, Р.В. Деев с соавт. (2011) рассчитали, что для создания тканеинженерного эквивалента кости носитель объемом 1 см³ необходимо заселить 10 миллионами остеогенных клеток (Деев Р.В. с соавт., 2011). По мнению J.J. Мао с соавт. (2006), для тканевой инженерии суставного мышечка нижней челюсти необходимо 20 млн стволовых клеток (Мао J.J. et al., 2006).

Учитывая, что клетки с фибробластоподобной морфологией – фибробласты и их менее дифференцированные, а значит, обладающие бóльшим регенераторным потенциалом в плане способности к пролиферации и дивергентной дифференцировке предшественники – преобладают в составе СВФ-ЖТ, можно предположить, что доза клеток, извлеченная из 100 мл жировой ткани, будет вполне достаточной в тех технологиях, где применяются ауто- или аллофибробласты (коррекция атрофических рубцов, лечение пародонта, обогащение клетками остеопластического материала в стоматологии). При этом применение СВФ-ЖТ будет иметь ряд преимуществ:

- 1) отсутствие рисков, связанных с культивированием клеток;
- 2) дифференцировочный эффект и продуктивное участие в построении регенерата, а не только временный индукционный эффект за счет выделения биологически активных субстанций;
- 3) обогащенный клеточный состав,

обуславливающий ряд полезных «побочных» эффектов – проангиогенный эффект васкулярных клеток (Глотов В.А., 2010; Тюменцева Н.В., Юшков Б.Г., Гафарова Р.К., 2010), иммуномодулирующий эффект клеток лимфо-макрофагального ряда (Долгушин И.И., Эберт Л.Я., Лифшиц Р.И., 1989).

При оценке остеогенных перспектив применения СВФ-ЖТ необходимо учитывать следующее: во-первых, процент адгезировавших клеток не отражает истинный процент стромальных/стволовых/остеогенных клеток, т.к. зависит от многих технических условий культивирования и, по некоторым данным, истинная доля ММСК среди моноклеарных клеток СВФ-ЖТ составляет от 10 % до 35 % (Yoshimura K., Sato K., Matsumoto D., 2010); во-вторых, под влиянием многообразных факторов микроокружения *in vivo* происходит активная пролиферация как резидентных клеток-предшественников, так и факультативных, что может обеспечить прирост числа клеток для построения полноценного регенерата (Данилов Р.К., 2007); в-третьих, возможность восстановления кости с помощью аутотрансплантации в область дефекта свежевыделенных стромальных клеток жировой ткани показана в экспериментах на животных (Карпюк В.Б. с соавт., 2007; Rhee S.C. et al., 2011; Konig M.A. et al., 2016).

Таким образом, морфологические исследования образцов СВФ-ЖТ, полученных по представленному выше протоколу, подтверждают наличие в ней фибробластоподобных клеток, фрагментов микрососудов и волокнистых элементов стромы. Клетки жизнеспособны, в условиях культуры активно размножаются и синтезируют коллаген и фибронектин, демонстрируют иммунофенотип ММСК: CD13+, CD34-, CD44+, CD90+, CD105+. Количественный анализ образцов СВФ-ЖТ выявил в среднем $2,1 \pm 0,4 \times 10^6$ ядросодержащих клеток или $2,7 \pm 0,5 \times 10^4$ способных к адгезии ММСК на 1 мл жировой ткани.

ГЛАВА 5.

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ В ВОССТАНОВИТЕЛЬНО- РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ХИРУРГИИ ПОЛОСТИ РТА

5.1. Клинико-рентгенологическая оценка восстановления аппарата зубодесневого прикрепления при хроническом пародонтите средней и тяжелой степени

Оценка восстановления аппарата зубодесневого прикрепления у больных хроническим пародонтитом средней и тяжелой степени (ХПСТС) проводилась в зависимости от проведенного лечения – по новой методике с применением СВФ-ЖТ (ОГ, $n = 95$) или по стандартной методике направленной регенерации тканей пародонта (КГ, $n = 63$). Двадцать шесть пациентов (11 из ОГ и 15 из КГ) выбыли в разные сроки до окончания двухгодичного периода наблюдения по разным причинам, не связанным с заболеванием или проведенным лечением. В среднем период наблюдения составил $21,4 \pm 0,5$ месяцев.

Особенности течения послеоперационного периода оценивали по общим и местным симптомам, регистрируемым во время осмотра пациентов на 3, 7 и 12-е сутки после вмешательства.

У большинства пациентов ОГ осложнений не было. Уплотнения тканей и ограниченные кровоизлияния в области липоаспирации могли сохраняться в течение нескольких недель и, ввиду соответствующего дооперационного информирования, не вызывали беспокойства у пациентов. Гиперемия слизистой оболочки десны и умеренная локальная болезненность отмечались в первые трое суток, к 7-м суткам эти симптомы регрессировали, а к 12-м суткам десна приобретала нормальный розовый цвет без явлений кровоточивости. Отсутствие болевых ощущений с 3–4-х суток облегчало проведение гигиенического ухода за полостью рта, способствуя

профилактике воспалительных осложнений. Увеличенный объем десны регистрировался у пациентов ОГ в течение месяца после операции, но не за счет воспалительного отека, а за счет плотной вновь сформированной структуры околозубных тканей (рисунок 43).



Рисунок 43 – Регенерация периодонта у пациента основной группы: сформирован тканевый профиль за счет мощного и раннего пролиферативного клеточного ответа на введение СВФ-ЖТ

Лишь у 2 больных с тонким десневым фенотипом зарегистрировано раннее расхождение швов и частичный некроз регенерата, что повлияло на показатель прироста ЗДП в прооперированной области.

Трем пациентам из ОГ (3,7 % среди работающих) потребовалась выдача листка временной нетрудоспособности на 2 дня из-за кратковременной гиперергической реакции местных тканей и присоединения общих симптомов, таких как повышение температуры тела, недомогание, головная боль.

В КГ темпы заживления послеоперационной раны были ниже, чем в ОГ. В большинстве случаев отмечались боль и отек в зоне вмешательства, требующие приема обезболивающих и противовоспалительных препаратов в течение 3–5 дней. Застойные явления в деснах регистрировались вплоть до снятия швов на 12–14-е сутки и позже. У 18 больных КГ наблюдалась ранняя несостоятельность швов, повлекшая у 12 из них инфицирование и поверхностный некроз регенерата. Это явилось показанием к досрочному

удалению барьеров и в дальнейшем отрицательно сказалось на результате лечения – привело к редуцированию уровня ЗДП в среднем на четверть от планируемого объема.

В КГ отмечено 6 случаев выдачи листка временной нетрудоспособности (10 % среди работающих) на 4–5 дней (средняя длительность $4,3 \pm 0,2$) из-за значительного нарастания местных и появления общих симптомов воспалительного характера в раннем периоде после операции.

Таким образом, в послеоперационном периоде частота осложнений была значительно выше в КГ, чем в ОГ: 12 случаев (19,1 %) и 2 случая (2,1 %) соответственно (различия статистически значимы, $p < 0,001$ по точному критерию Фишера). При внедрении нового способа лечения отмечено снижение числа случаев временной нетрудоспособности с 10 до 3,7 на 100 работающих (показатель КГ и ОГ соответственно, различия статистически значимы при $p < 0,001$ по критерию хи-квадрат). Это рассматривается нами как социально значимый положительный результат применения СВФ-ЖТ при лечении обширной категории больных ХПСТС.

Более поздние клинические эффекты лечения в исследуемых группах в виде индексной оценки состояния ротовой полости и количественных параметров пародонтального статуса отражены в таблицах 15 и 16. Для оценки статистической значимости изменений показателей на разных сроках наблюдения применен парный t-критерий Стьюдента. Для оценки статистической значимости различий показателей ОГ и КГ применен t-критерий Стьюдента.

Как следует из таблицы 15, операция оказывает значительное влияние на клинические показатели состояния ротовой полости у больных ХПСТС. Уже через 1 месяц в ОГ отмечается уменьшение воспалительных явлений в десне, что выражается в статистически значимом ($p < 0,001$) снижении индекса гингивита (ИГ) и индекса кровоточивости (ИК) на фоне улучшения гигиенического состояния ротовой полости: УИГР уменьшился с $2,30 \pm 0,09$ до $1,56 \pm 0,03$ балла ($p < 0,001$).

Таблица 15 – Клинические показатели состояния ротовой полости (в баллах) до и в разные сроки после хирургического лечения ХПСТС в группах сравнения

Показатель	Срок наблюдения	Основная группа		Контрольная группа		p
		М ± m	n	М ± m	n	
Индекс гингивита (ИГ)	До операции	1,94 ± 0,08	95	2,03 ± 0,13	63	0,557
	1 мес.	0,51 ± 0,02	95	0,74 ± 0,05	63	< 0,001*
	6 мес.	0,47 ± 0,01	93	0,94 ± 0,04	60	< 0,001*
	12 мес.	0,22 ± 0,01	90	0,33 ± 0,03	55	0,001*
	24 мес.	0,33 ± 0,02	84	1,04 ± 0,04	48	< 0,001*
Упрощенный индекс гигиены рта (УИГР)	До операции	2,30 ± 0,09	95	2,23 ± 0,11	63	0,623
	1 мес.	1,56 ± 0,03	95	1,33 ± 0,06	63	0,001*
	6 мес.	0,84 ± 0,01	93	0,91 ± 0,03	60	0,029*
	12 мес.	0,45 ± 0,01	90	0,53 ± 0,04	55	0,056
	24 мес.	0,42 ± 0,02	84	0,67 ± 0,05	48	< 0,001*
Индекс кровоточивости (ИК)	До операции	1,72 ± 0,04	95	1,78 ± 0,06	63	0,407
	1 мес.	0,42 ± 0,02	95	1,33 ± 0,24	63	< 0,001*
	6 мес.	0,25 ± 0,02	93	1,01 ± 0,07	60	< 0,001*
	12 мес.	0,12 ± 0,01	90	0,56 ± 0,06	55	< 0,001*
	24 мес.	0,14 ± 0,01	84	0,80 ± 0,07	48	< 0,001*
Пародонтальный индекс (ПИ)	До операции	6,76 ± 0,41	95	5,87 ± 0,29	63	0,079
	1 мес.	5,20 ± 0,03	95	5,69 ± 0,07	63	< 0,001*
	6 мес.	2,04 ± 0,02	93	4,50 ± 0,07	60	< 0,001*
	12 мес.	2,10 ± 0,02	90	3,50 ± 0,08	55	< 0,001*
	24 мес.	2,08 ± 0,02	84	4,56 ± 0,13	48	< 0,001*

Примечание: * – различия показателей статистически значимы.

В КГ направленность динамики основных клинических индексов идентична данным ОГ. Однако ИК изменился незначимо ($p = 0,071$), притом что ИГ через 1 месяц после операции был даже выше, чем в ОГ ($p < 0,001$). Пародонтальный индекс (ПИ) уменьшился в обеих наблюдаемых группах: изменения значимы в ОГ ($p < 0,05$), но не достигли уровня статистической значимости в КГ ($p = 0,547$).

При обследовании через 6 месяцев в ОГ регистрируется тенденция к статистически достоверному снижению УИГР ($p < 0,001$) и ИК ($p < 0,001$), что говорит об эффективном восстановлении анатомии пародонта после использования СВФ-ЖТ и улучшении условий для индивидуального гигиенического ухода за полостью рта. Индекс гингивита снизился, но при сравнении с данными предыдущего контрольного срока изменения статистически незначимы ($p = 0,075$).

В КГ так же, как в основной группе, УИГР и ИК демонстрируют положительную динамику, т.е. снижаются, хотя статистически достоверные изменения имеются только по первому показателю (для УИГР $p < 0,001$, для ИК $p = 0,203$). Индекс гингивита возрос в сравнении с данными осмотра в 1 месяц (изменения значимы, $p < 0,05$), что, по-видимому, связано с наличием большого количества ретенционных участков, в которых скапливается зубной микробный налет. Пародонтальный индекс (ПИ) за 5 месяцев снизился статистически значимо в обеих группах ($p < 0,001$). При сравнении между группами ПИ в 2 раза меньше в ОГ, чем в КГ ($p < 0,001$), что свидетельствует о существенном положительном влиянии трансплантированной СВФ-ЖТ на восстановление тканей аппарата зубодесневого прикрепления.

Через 12 месяцев после операции в группах сравнения ИГ, УИГР, ИК статистически значимо меньше таковых, полученных в срок наблюдения 6 месяцев ($p < 0,001$). Пародонтальный индекс в ОГ несколько превышает данные осмотра в 6 месяцев ($p = 0,035$), а в КГ – напротив, становится меньше предыдущих значений ($p < 0,001$). Это можно объяснить случайными отклонениями достигнутого оптимального уровня в ранние сроки наблюдения ПИ в ОГ, в то время как в КГ продолжается замедленная положительная динамика высоких значений ПИ. Это подтверждается сравнением групп: через 12 месяцев после операции ПИ в ОГ меньше аналогичного показателя КГ в 1,7 раза (различия статистически значимы, $p < 0,001$).

Сравнение данных, полученных в срок 24 месяца, с данными в 12 месяцев отражает долгосрочную стабильность клинических эффектов лечения. В ОГ в течение последнего года наблюдения УИГР, ИК и ПИ остаются без статистически значимых изменений ($p > 0,05$), ИГ возрастает на 50 % ($p < 0,001$). Несмотря на возросший показатель выраженности воспалительных изменений десен – пародонтальный индекс, он остается на уровне 2,08–2,10 балла, что характеризует результаты лечения с применением СВФ-ЖТ как высокие и стабильные. В КГ клинические показатели за этот период демонстрируют отрицательную динамику – возрастают на 26–215 % (изменения статистически значимы, $p < 0,05$), что свидетельствует о некоторой потере эффекта от лечения по общепринятой методике в отдаленные сроки. Преимущество предлагаемого нами способа лечения над общепринятым подтверждается сравнением итоговых показателей между группами – в ОГ они статистически значимо ниже показателей КГ ($p < 0,001$).

Как следует из таблицы 16, величина РецДК через 1 месяц после операции уменьшается на 22,7 % в ОГ и на 8,5 % в КГ (изменения статистически значимы, $p < 0,001$). В последующие сроки наблюдения у пациентов, получивших лечение с аутотрансплантацией СВФ-ЖТ, регистрируется минимум усадки нового тканевого профиля или ее полное отсутствие. Закрытие оголенных корневых поверхностей зубов воспринималось пациентами как важный косметический эффект операции. У лиц моложе 45 лет примерно в половине случаев отмечено явление так называемого «наползающего прикрепления» с пролонгированной положительной динамикой прироста мягких тканей краевого пародонта. Этот факт нашел отражение в динамике среднего показателя РецДК в ОГ – во все сроки наблюдения, вплоть до 24 месяцев, он статистически значимо меньше предыдущего ($p < 0,001$).

В отличие от этого, после традиционного хирургического лечения уже через 6 месяцев отмечается потеря достигнутого эффекта – среднее значение

показателя РецДК в КГ значительно превышает данные, полученные в срок 1 месяц ($p < 0,001$), и даже становится больше исходного значения ($p < 0,05$). Через 12 мес. и 24 мес. регистрируется значительная остаточная рецессия десневого края. При сравнении показателей РецДК между группами во все сроки наблюдения значения в ОГ меньше, чем в КГ (различия статистически значимы, $p < 0,05$).

Таблица 16 – Показатели пародонтального статуса (в мм) до и в разные сроки после хирургического лечения ХПСТС в группах сравнения

Показатель	Срок наблюдения	Основная группа		Контрольная группа		p
		М ± m	n	М ± m	n	
Рецессия десневого края (РецДК)	До операции	2,20 ± 0,08	95	2,01 ± 0,07	63	0,074
	1 мес.	1,70 ± 0,03	95	1,84 ± 0,04	63	0,005*
	6 мес.	1,53 ± 0,04	93	2,21 ± 0,07	60	< 0,001*
	12 мес.	1,30 ± 0,04	90	3,20 ± 0,06	55	< 0,001*
	24 мес.	1,24 ± 0,05	84	2,91 ± 0,07	48	< 0,001*
Глубина зондирования (ГЗ)	До операции	5,10 ± 0,11	95	5,32 ± 0,09	63	0,122
	1 мес.	1,50 ± 0,02	95	2,93 ± 0,04	63	< 0,001*
	6 мес.	1,24 ± 0,02	93	1,83 ± 0,05	60	< 0,001*
	12 мес.	1,43 ± 0,02	90	1,93 ± 0,05	55	< 0,001*
	24 мес.	1,40 ± 0,02	84	1,64 ± 0,06	48	< 0,001*
Потеря зубодесневого прикрепления (ПоЗДП)	До операции	7,80 ± 0,22	95	7,32 ± 0,17	63	0,084
	1 мес.	2,91 ± 0,02	95	4,27 ± 0,06	63	< 0,001*
	6 мес.	2,27 ± 0,02	93	3,54 ± 0,04	60	< 0,001*
	12 мес.	2,23 ± 0,02	90	3,63 ± 0,03	55	< 0,001*
	24 мес.	2,14 ± 0,02	84	4,05 ± 0,04	48	< 0,001*

Примечание: * – различия показателей статистически значимы.

Показатель ГЗ в ближайшие и отдаленные сроки после операции в обеих группах менее 3 мм, что отражает отсутствие остаточных пародонтальных карманов. В ОГ статистически достоверная положительная динамика отмечается в течение 6 месяцев – в конце этого срока ГЗ минимальна ($1,24 \pm 0,02$ мм). В последующие сроки наблюдения показатель

стабилизируется на уровне 1,40–1,43 мм (изменения показателя через 12 и 24 месяца статистически незначимы, $p = 0,289$).

В КГ глубина зондирования уменьшается вплоть до окончания периода наблюдения с минимумом через 24 месяца после операции ($1,64 \pm 0,06$ мм). Очевидно, это связано не с «подъемом» дна дефекта за счет прироста структур прикрепления, а с рецессией края десны. При сравнении показателей ГЗ между группами во все сроки наблюдения средние значения в ОГ меньше, чем в КГ (различия статистически значимы, $p < 0,001$).

Потеря зубодесневого прикрепления (ПоЗДП), как основной патогномоничный признак пародонтита, в результате операции уменьшается на 72,6 % в ОГ и на 44,7 % в КГ (по данным осмотра в срок 24 месяца, $p < 0,001$). Минимальные значения регистрируются через 24 месяца в ОГ ($2,14 \pm 0,02$ мм) и через 1 месяц в КГ ($4,27 \pm 0,06$ мм, различия статистически значимы при $p < 0,001$). При сопоставлении показателей в разные сроки наблюдения этот показатель всегда на 47–89 % выше в КГ, чем в ОГ (различия статистически значимы, $p < 0,05$).

Универсальным критерием эффективности регенеративного лечения пародонтита принято считать прирост нового зубодесневого (клинического) прикрепления (ПрЗДП) – вычисляемый интегративный показатель, включающий параметры вновь сформированных минерализованных структур костной альвеолы, неминерализованной соединительной ткани и эпителия прикрепления. Динамика ПрЗДП в группах сравнения в виде диаграммы представлена на рисунке 44.

Как видно на диаграмме, прирост зубодесневого прикрепления в ОГ имеет устойчивую тенденцию к увеличению: от $4,89 \pm 0,02$ мм в ближайший контрольный срок до максимального значения $5,66 \pm 0,02$ мм через 2 года после операции ($p < 0,001$). В КГ наибольший ПрЗДП зафиксирован через 6 месяцев после лечения ($3,78 \pm 0,03$ мм), после чего имеется тенденция к его потере в отдаленные сроки наблюдения: $3,69 \pm 0,06$ и $3,27 \pm 0,03$ мм через

12 месяцев и 24 месяца соответственно (при сравнении показателей до лечения и через 24 месяца после лечения изменения статистически значимы, $p < 0,001$). При сопоставлении показателей, полученных в одни и те же контрольные сроки, ПрЗДП всегда статистически значимо выше в ОГ, чем в КГ ($p < 0,05$).

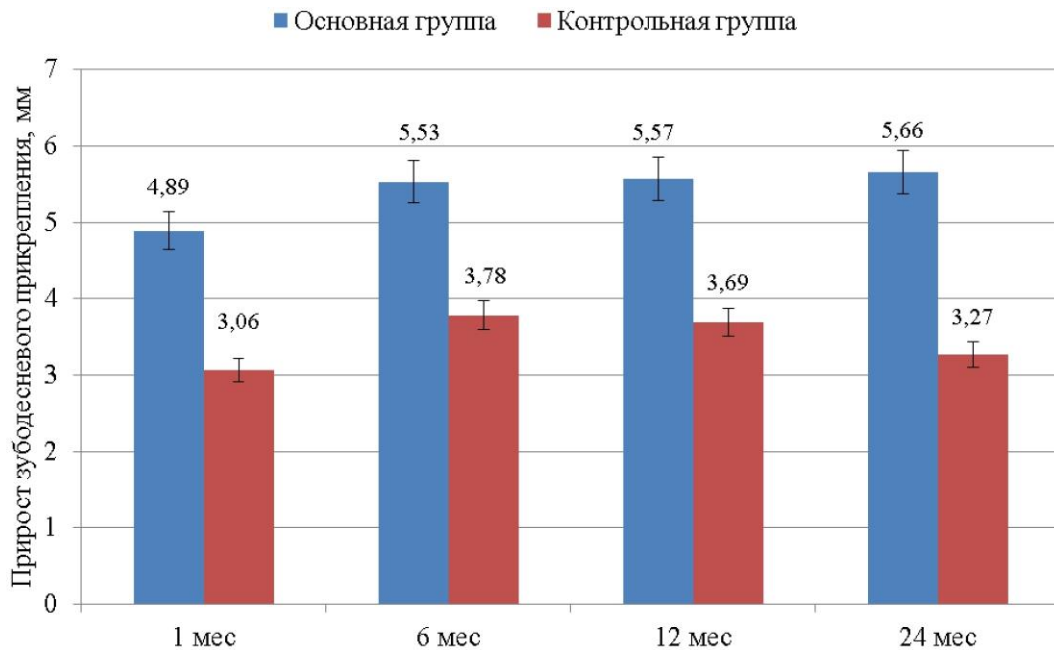


Рисунок 44 – Динамика прироста зубодесневого прикрепления после хирургического лечения ХПСТС по стандартной методике (контрольная группа) и по клеточно-потенцированной методике с применением СВФ-ЖТ (основная группа)

Результаты лечения в зависимости от вида пародонтального дефекта представлены в таблице 17. При сопоставлении исходных показателей ПоЗДП (таблица 7) с данными из таблицы 17 видно, что в обеих группах максимальный эффект отмечается при ВКД: в ОГ исходная потеря $7,95 \pm 0,18$ мм, через 2 года прирост составил $7,06 \pm 0,01$ мм, т.е. дефект устранен на 88,8 %; в КГ исходная потеря $7,51 \pm 0,17$ мм, через 2 года прирост $5,30 \pm 0,02$ мм, т.е. 70,6 % восстановлено. При традиционном подходе САД и ФД остаются сложными для коррекции, прирост ЗДП минимален и в конце периода наблюдения составляет лишь 31,7 % при САД и 30,3 % при ФД. При включении в схему лечения

аутотрансплантации СВФ-ЖТ результаты значительно улучшаются: прирост нового зубодесневого прикрепления при САД и ФД сопоставим с результатами восстановления ВКД: 62,8 % и 64,7 % соответственно.

Таблица 17 – Прирост зубодесневого прикрепления (в мм) в группах сравнения в зависимости от вида пародонтальных дефектов

Вид дефекта	Срок наблюдения	Основная группа		Контрольная группа		p
		М ± m	n	М ± m	n	
Внутрикостный (ВКД)	1 мес.	6,22 ± 0,01	261	4,34 ± 0,05	186	< 0,001*
	6 мес.	6,96 ± 0,02	254	5,58 ± 0,02	178	< 0,001*
	12 мес.	6,98 ± 0,02	247	5,60 ± 0,02	164	< 0,001*
	24 мес.	7,06 ± 0,01	228	5,30 ± 0,02	142	< 0,001*
Супра-альвеолярный (САД)	1 мес.	3,98 ± 0,02	194	2,32 ± 0,06	102	< 0,001*
	6 мес.	4,73 ± 0,02	189	2,91 ± 0,03	96	< 0,001*
	12 мес.	4,78 ± 0,02	182	2,89 ± 0,02	89	< 0,001*
	24 мес.	4,83 ± 0,02	172	2,31 ± 0,01	77	< 0,001*
Фуркационный (ФД)	1 мес.	4,42 ± 0,02	127	2,46 ± 0,03	88	< 0,001*
	6 мес.	5,02 ± 0,02	124	2,85 ± 0,04	84	< 0,001*
	12 мес.	4,97 ± 0,02	120	2,69 ± 0,03	79	< 0,001*
	24 мес.	5,03 ± 0,02	112	2,20 ± 0,02	71	< 0,001*

Примечание: * – различия показателей статистически значимы.

До лечения патологическая подвижность зубов II–III степени регистрировалась у 27 больных ОГ (28,4 %) и у 20 больных КГ (31,7 %), различия показателей были статистически незначимы ($p = 0,729$).

Через 1–2 месяца после операции у таких больных удалялись временные назубные шины и проводилось тестирование. Полученные в зависимости от применяемой методики лечения результаты сопоставлены графически на рисунке 45. Показатели редукции патологической подвижности зубов в исследуемых группах имели статистически значимые различия ($p = 0,001$), частота случаев сохранения II–III степени подвижности в ОГ составила 3,2 %, в КГ – 25,4 %.

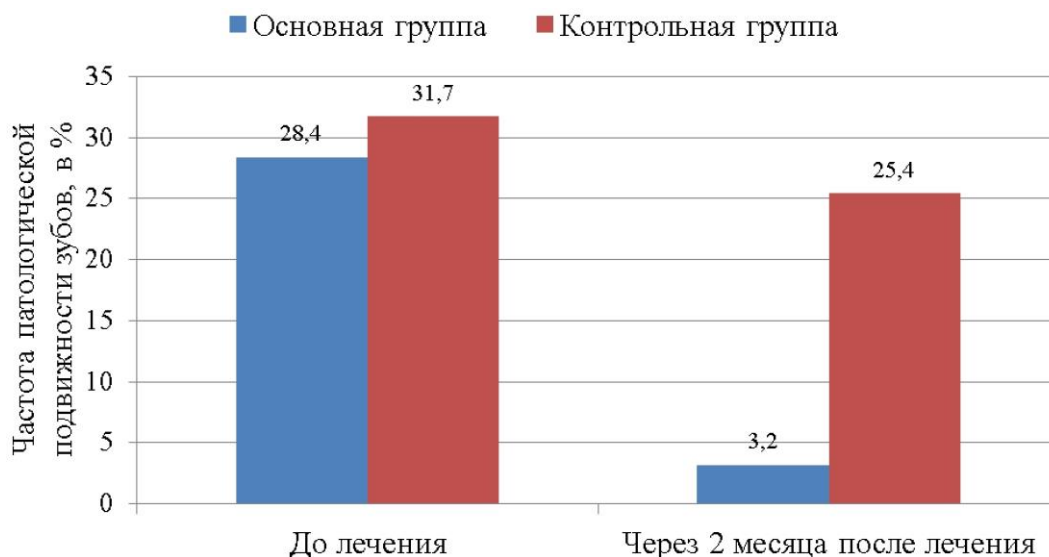


Рисунок 45 – Динамика частоты случаев патологической подвижности зубов в группах сравнения до лечения и через 1–2 месяца после лечения ХПСТС

Из общего числа пациентов, имеющих II–III степени подвижности зубов, у 24 больных ОГ (88,9 %) и 4 больных КГ (20,0 %) подвижность зубов редуцировалась до I степени или физиологической. У 3 больных ОГ (11,1 %) и 16 больных КГ (80,0 %) в эти сроки не удалось ликвидировать патологическую подвижность зубов; она оставалась в пределах II степени, что являлось показанием к повторному изготовлению шинирующих конструкций. Снижение частоты патологической подвижности зубов, оцененное с помощью теста МакНемара, в ОГ было статистически значимым ($p < 0,001$), в КГ – несущественным ($p = 0,157$).

Результаты периотестометрии (ПТМ), которые, как и данные мануального тестирования подвижности зубов, отражают функциональное состояние опорного аппарата зуба, сопоставлены в динамике и в зависимости от применяемого лечения в таблице 18.

Как следует из таблицы, исходные показатели ПТМ в группах сравнения не имели статистически значимых различий ($p = 0,479$) и соответствовали II степени подвижности зубов.

Через 6 месяцев после регенеративного хирургического лечения, когда процессы созревания молодых структур пародонта считаются в основном

Таблица 18 – Результаты периотестометрии (в баллах) до и после хирургического лечения ХПСТС в группах сравнения

Срок наблюдения	Основная группа		Контрольная группа		p
	M ± m	n	M ± m	n	
До операции	24,6 ± 0,4	582	24,2 ± 0,4	376	0,479
6 мес.	10,4 ± 0,2	567	18,6 ± 0,3	358	< 0,001*
24 мес.	3,8 ± 0,1	512	15,6 ± 0,3	290	< 0,001*

Примечание: * – различия показателей статистически значимы.

законченными, отмечается статистически значимое снижение показателей ПТМ в обеих группах ($p < 0,001$), однако более существенное в ОГ – почти в 2,5 раза. В КГ в этот срок показатели ПТМ снизились только в 1,3 раза.

Данные ПТМ через 24 месяца после лечения в ОГ свидетельствуют о полном восстановлении опорного аппарата зубов до уровня, способного обеспечить их нормальное функционирование – 3,8 балла, что соответствует градации «прочная позиция зуба», чего нельзя заключить о результатах лечения больных КГ – 15,6 баллов соответствует градации «I степень подвижности». Различия показателей сравниваемых групп были статистически значимы как через 6, так и через 24 месяца после лечения ($p < 0,001$ в обоих случаях).

Результаты клинических тестов, отражающие эффективность хирургического лечения ХПСТС в группах сравнения, коррелируют с данными рентгенологических методов исследования. Уже через 6 месяцев после операции на прицельных рентгеновских снимках и ортопантограммах в обеих группах отмечаются признаки стабилизации деструктивного процесса в околозубных тканях в виде уменьшения зоны очагового остеопороза, увеличения четкости контуров краевых отделов альвеолярных отростков. На радиовизиограммах хорошо визуализируются слабо минерализованные новые опорные периодонтальные ткани. Прирост рентгеноконтрастных структур преобладает в области дефектов, для устранения которых применялась операция НРТ с трансплантацией СВФ-ЖТ. Оптимальный эффект отмечается при замещении ВКД. Через 12–24 мес. в обеих группах

рентгенологических признаков воспалительно-деструктивного процесса не наблюдается, отмечается повышение плотности сформированной кости с восстановлением нормального медуллярного рисунка.

При анализе денальных КТ определяется увеличение плотности околозубной опорной кости (в ед. НУ) в среднем на 72 % и 49 % от первоначальных значений в ОГ и КГ соответственно.

Примеры рентгенологической картины дентоальвеолярной области до и после лечения ХПСТС в группах сравнения представлены на рисунках 46–48.

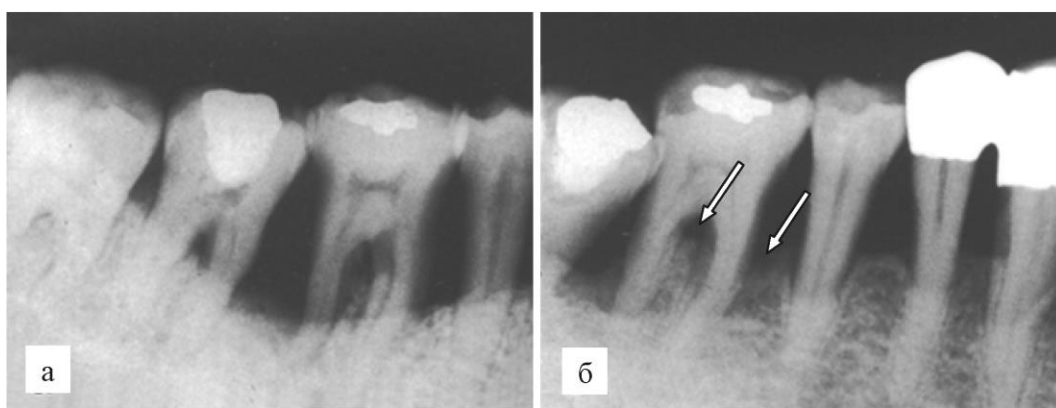


Рисунок 46 – Основная группа. Результат хирургической коррекции фуркационного дефекта нижнего моляра (FIII) и супраальвеолярных пародонтальных дефектов рядом расположенных зубов: а) до операции; б) после лечения – замещение фуркационного дефекта моляра с существенным приростом опорных структур в межзубных промежутках (показано стрелками)

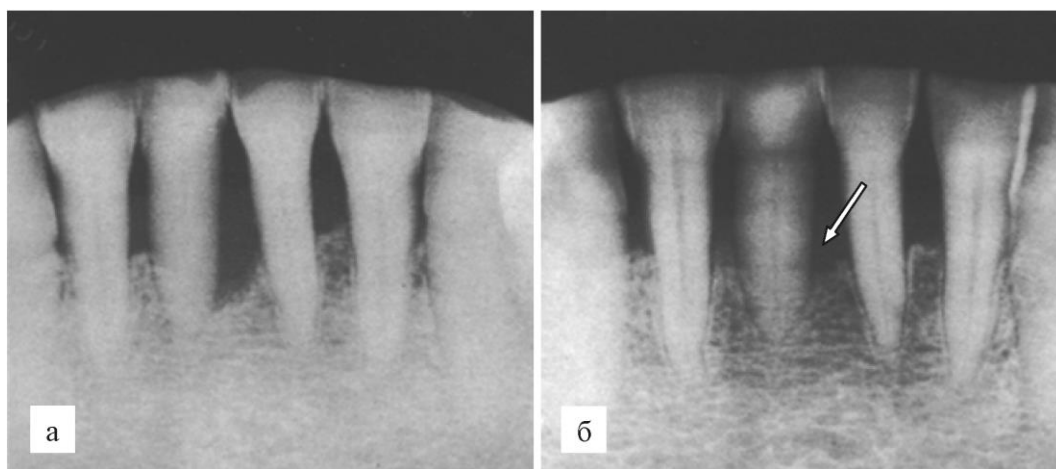


Рисунок 47 – Основная группа. Результат лечения аппроксимального пародонтального дефекта в области резца нижней челюсти: а) до лечения; б) после лечения – полное замещение дефекта (показано стрелкой)

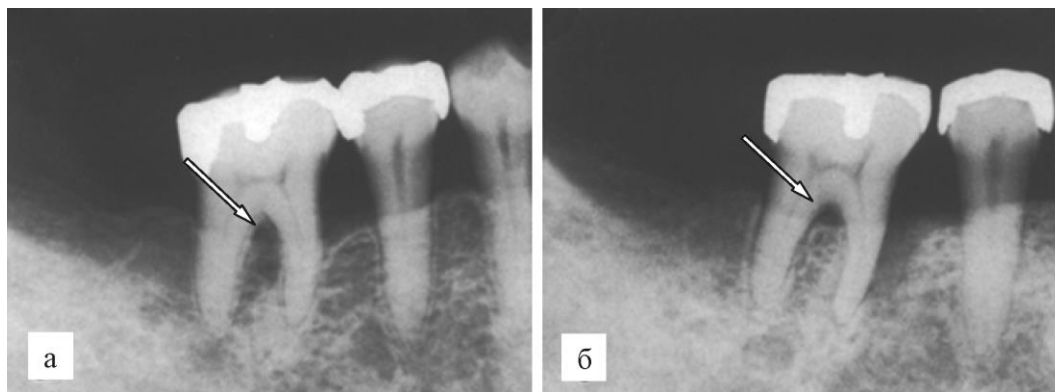


Рисунок 48 – Контрольная группа. Результат лечения фуркационного дефекта нижнего моляра (показан стрелкой): а) до лечения; б) после лечения – существенного прироста костных структур не произошло

5.1.1. Морфологическая характеристика полученных результатов

При гистологическом исследовании срезов околозубных тканей, полученных от пациентов групп сравнения через 6 мес. после операции, наиболее поверхностно наблюдаются вновь сформированные мягкотканевые структуры краевого пародонта: многослойный плоский эпителий и субэпителиальная соединительная ткань (рисунок 49).

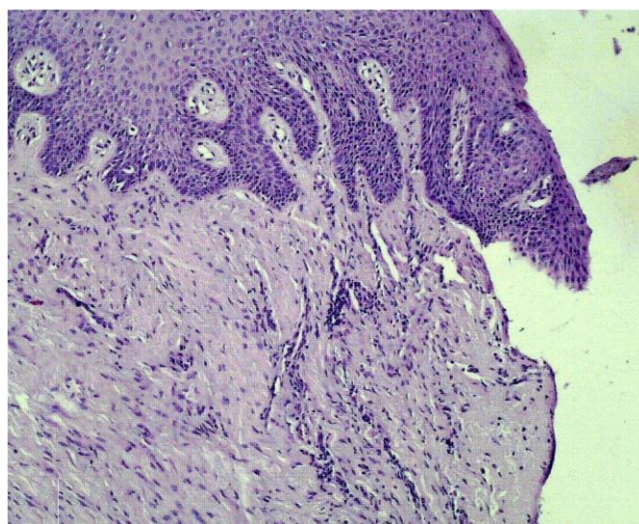


Рисунок 49 – Гистоморфология нового зубодесневого прикрепления через 6 мес. после хирургического лечения ХПСТС с аутотрансплантацией СВФ-ЖТ. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$

По мере апикального перемещения эпителий десны теряет способность к ороговению и истончается, становясь двухслойным в зоне контакта с

корневой поверхностью зуба. Под эпителием визуализируются преимущественно перпендикулярно ориентированные коллагеновые волокна прикрепления соединительной ткани к корневому субстрату. Преобладающими клеточными элементами субэпителиального соединительнотканного прикрепления являются фибробласты разной степени зрелости и размеров, гистиоциты и небольшое количество нейтрофильных гранулоцитов. В трети микропрепаратов КГ в глубоких слоях соединительной ткани отмечаются участки небольших клеточных скоплений, состоящих в основном из клеток лимфоидного ряда. Отличительной особенностью биоптатов, полученных от пациентов ОГ, является наличие довольно плотных скоплений клеток фибробластического ряда в соединительной ткани вокруг участков активного неоваскулогенеза, а также на границе с минерализованными структурами молодой костной альвеолы (рисунок 50).

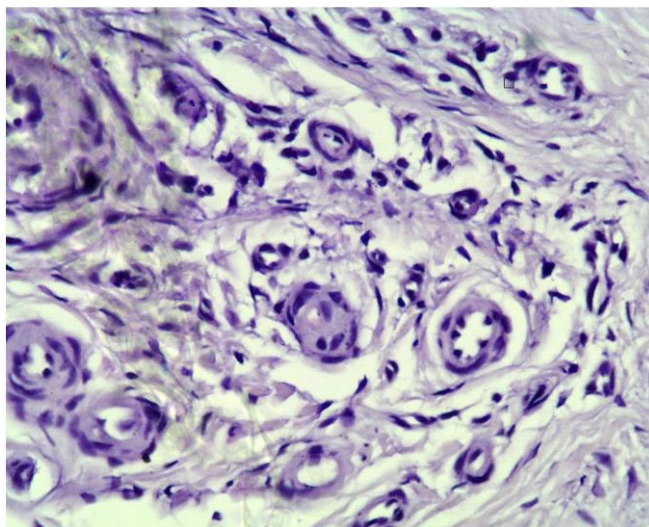


Рисунок 50 – Выраженная неоваскуляризация соединительной ткани регенерата околозубных тканей. ОГ, 6 мес. после операции. Окраска гематоксилином и эозином.

Ув. ×400

Наиболее апикально, на уровне альвеолярной кости наблюдается формирование остеобластами остеοидного матрикса, в том числе и на месте конверсирования гранул биоматериалов остеокондуктивного действия (рисунок 51).

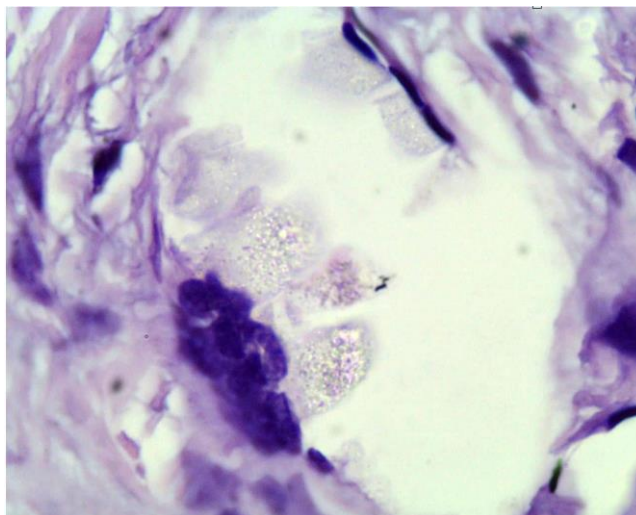


Рисунок 51 – Формирование молодых костных структур альвеолы в контакте с конверсированными гранулами бета-трикальцийфосфата, остеокластическая реакция. ОГ, 6 мес. после операции. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 400$

При анализе образцов околозубных тканей, полученных от пациентов через 12–24 мес. после хирургического лечения, нами не отмечено существенных различий между группами в структуре сформированного опорного аппарата зуба. Морфологическая картина большинства биоптатов соответствует строению здоровой десны и нормального зубодесневого прикрепления (рисунки 52–53).

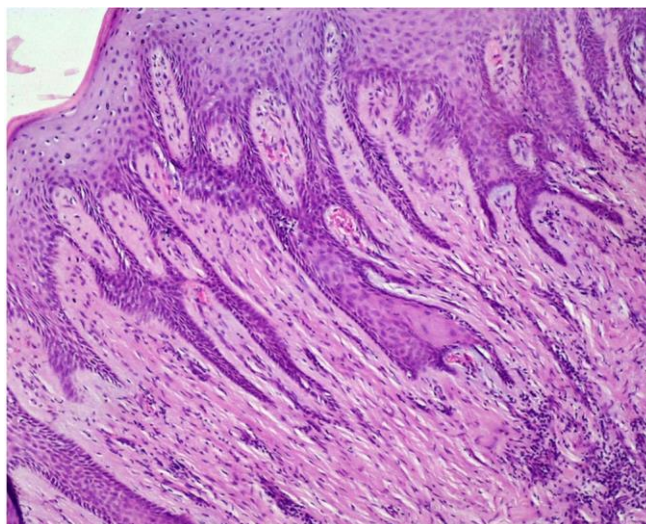


Рисунок 52 – Многослойный плоский ороговевающий эпителий с глубокими эпителиальными сосочками. ОГ, 24 мес. после операции. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$

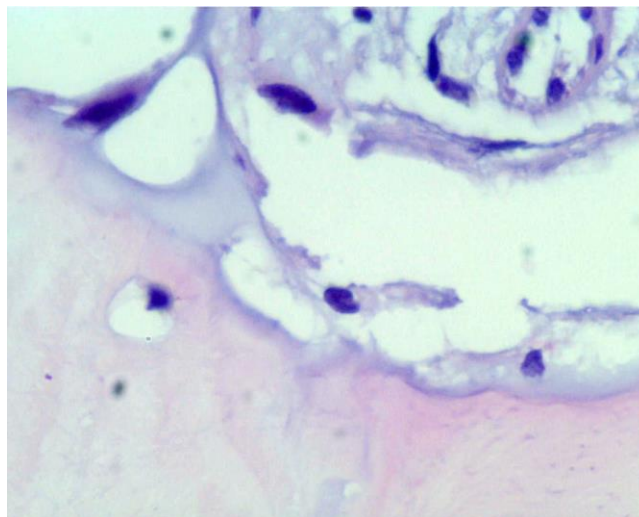


Рисунок 53 – Минерализованная костная ткань восстановленного края зубной альвеолы. ОГ, 24 мес. после операции. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 900$

В качестве отличия гистоморфологических признаков восстановления пародонта в группах сравнения можно отметить более развитую микроциркуляторную сосудистую сеть и отсутствие каких-либо воспалительных проявлений в образцах из ОГ, при том, что в двух образцах из КГ были обнаружены лимфоидно-плазмоцитарные клеточные скопления (рисунок 54).

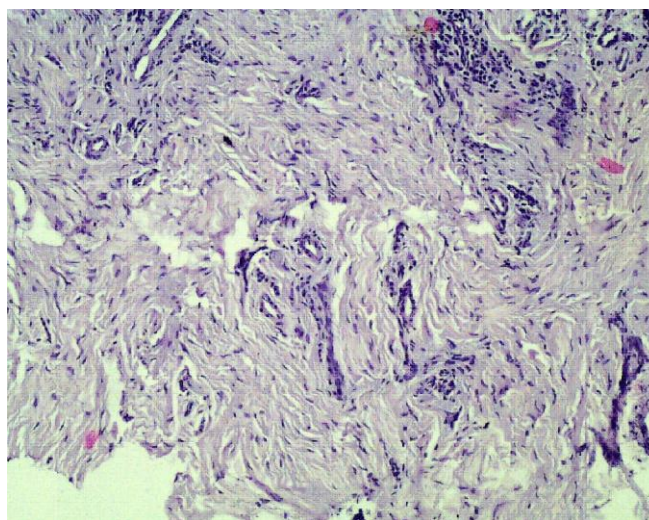


Рисунок 54 – Клеточная инфильтрация, отек ткани и дезорганизация коллагеновых волокон. КГ, 24 мес. после операции. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 280$

При иммуногистохимическом исследовании тканевых образцов с помощью антител к маркеру эндотелиальных прогениторных клеток CD34,

положительно окрашенные элементы с большой частотой определяются в субэпителиальном соединительнотканном пространстве (рисунок 55). Средний показатель плотности микрососудов почти в 2 раза выше в ОГ по сравнению с КГ: $58,2 \pm 10,2$ и $30,1 \pm 7,5$ ед/мм² соответственно ($p = 0,047$), что подтверждает более высокую активность неоваскуляризации в восстанавливаемых тканях пародонта после хирургического лечения с применением аутотрансплантации СВФ-ЖТ.

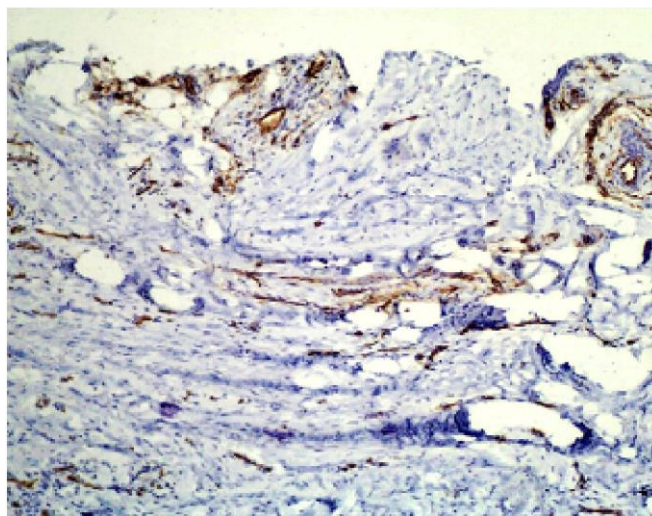


Рисунок 55 – Иммуногистохимическое окрашивание тканей пародонта антителами против маркера эндотелиальных прогениторных клеток CD34. ОГ, 6 мес. после операции.

Ув. $\times 120$

5.1.2. Обсуждение результатов исследования

Деструкция тканей пародонта при хроническом пародонтите сопровождается небольшими по абсолютному объему анатомическими дефектами, но по причине важности функции утрачиваемых структур в конечном итоге приводит к потере зуба со значительным воздействием на здоровье и качество жизни (Gerritsen A.E. et al., 2001; Pihlstrom B.L. et al., 2004). Данное заболевание встречается у 15–50 % взрослого населения развитых стран (Albandar J.M., 2007). Являясь хроническим очагом инфекции, пародонтит способствует развитию сердечно-сосудистых и бронхолегочных системных заболеваний (Парахонский А.П., 2006;

Cullinan M.P., 2000). Наряду с тем, что сама по себе проблема пародонтита весьма актуальна, эта патология может служить оптимальной площадкой для апробации клеточно-потенцированной регенеративной технологии. Высокая скорость обновления структур пародонта, минимальная инвазивность вмешательства, динамичность и наглядность послеоперационной картины, а также прямая патогенетическая обоснованность привнесения дополнительных регенераторных клеток в *locus minoris resistentiae* при пародонтите послужили основанием для выполнения настоящего исследования.

Традиционные способы лечения пародонтита характеризуются высокой вариабельности исходов, что говорит об их несовершенстве (Грудянов А.И., Ерохин А.И., 2006; Aichelmann-Reidy M.E., Reynolds M.A., 2008). В настоящем исследовании за основу нами взят метод направленной регенерации тканей. Основной принцип, на котором построен метод, это использование барьерной мембраны, препятствующей быстрой эпителизации хирургически санированного пародонтального дефекта и тем самым создающей условия для пролиферации «пародонтогенных» клеток и органотипического восстановления опорных структур зуба. Биологические свойства клеток, заселяющих защищенный мембраной пародонтальный дефект, определяют качество и объем регенерата. Главными естественными источниками клеточных предшественников рассматривают периодонтальную связку, надкостницу и костный мозг альвеолярного отростка (Воложин Г.А. с соавт., 2010; Carnes D.L. et al., 1997; Nakahara T. et al., 2004). При наиболее тяжелых формах пародонтита снижается объем витальной периодонтальной связки, значительно разрушается костная ткань, ухудшается региональный кровоток (Кречина Е.К., 1996; Перова М.Д., 2005; Усиков Д.В. с соавт., 2014). Это приводит к дефициту клеток, способных дифференцироваться в необходимые клеточные линии в ходе репаративной регенерации. По данным специалистов, использование мембран ограничено небольшими по

размерам двух-, трехстеночными и фуркационными I–II класса дефектами (Перова М.Д. с соавт., 2002; Tsao Y.P. et al., 2006). Вполне обоснованным с точки зрения биомиметики представляется дополнительное привнесение в регенерирующий пародонтальный дефект клеток, способных давать рост новым органотипическим структурам прикрепления.

СВФ-ЖТ, на наш взгляд, представляет собой идеальный материал для оптимизации регенераторных процессов в поврежденном пародонте. Нами впервые представлены доказательства клинической эффективности аутотрансплантации СВФ-ЖТ при реализации нового способа хирургического лечения ХПСТС (патент РФ на изобретение № 2320285, приоритет от 10.05.2006).

Результаты лечения пародонтита с применением СВФ-ЖТ превосходят результаты стандартной операции НРТ, о чем свидетельствуют статистически достоверные различия итоговых средних значений и относительных показателей сравниваемых групп.

Уже в раннем послеоперационном периоде отмечается важное преимущество лечения пациентов ОГ: время достижения комфортного состояния с минимизацией болевого синдрома у них сократилось до 3 дней вместо 12 в контроле. Осложнения, такие как инфицирование и частичный некроз регенерата, регистрировались значительно реже: частота случаев 2,1 % и 19,1 % в ОГ и КГ соответственно ($p < 0,001$ по точному критерию Фишера). Отмечено значимое снижение числа случаев и дней временной нетрудоспособности по сравнению с контролем, что имеет важное социально-экономическое значение, учитывая преимущественно трудоспособный возраст контингента больных ХПСПС.

Воспалительные явления в мягких тканях после операции быстро нивелируются, что нашло отражение в динамике соответствующих клинических показателей состояния ротовой полости.

Особенно заметный эффект аутотрансплантация СВФ-ЖТ оказала на кровоточивость десен. Различия динамики и средних значений индекса

кровооточивости (ИК) в исследуемых группах, зарегистрированные через 1 месяц после операции ($0,42 \pm 0,02$ и $1,33 \pm 0,24$ балла в ОГ и КГ соответственно, $p < 0,001$), могут быть связаны со специфическим стабилизирующим влиянием СВФ-ЖТ на сосудистую стенку. Это согласуется с недавно установленными свойствами ММСК ингибировать сосудистую проницаемость и стабилизировать барьерную функцию эндотелия. В исследовании S. Pati с соавт. (2011) показано, что среда, в которой культивировались ММСК, уменьшает проницаемость легочного эндотелия путем укрепления адгерентных связей VE-кадгерина и β -катенина, а также за счет ингибирования лейкоцитарной адгезии и экспрессии эндотелиоцитами адгезивных молекул VCAM-1 и ICAM-1. Ими же на модели геморрагического шока показано, что введение ММСК ингибирует системный уровень воспалительных цитокинов и хемокинез в сыворотке экспериментальных животных, а также проницаемость легочного эндотелия и отек легких параллельно с сохранением протеинов сосудистого эндотелиального барьера VE-кадгерина, клаудина-1 и окклюдина-1. Также отмечено уменьшение лейкоцитарных инфильтратов в легких после применения ММСК. Авторы сделали заключение, что ММСК напрямую или через паракринные механизмы способны стабилизировать сосудистый эндотелий и снижать воспалительную реакцию (Pati S. et al., 2011). Эффект связывают с секретлируемыми ММСК фактором роста гепатоцитов (HGF) и фактором роста эндотелия сосудов (VEGF) (Yang Y. et al., 2015).

Появившееся у больных ОГ в ранние сроки и сохраняющееся до полутора месяцев безболезненное уплотнение в зоне трансплантации связано с интенсивной пролиферативной реакцией. Отсутствие признаков воспаления при этом может быть связано с известными иммуносупрессорным и иммуномодулирующим эффектами ММСК-ЖТ (Иванюк Д.И. с соавт., 2011; Puissant B. et al., 2005; Shi Y. et al., 2010; DeMiguel M.P. et al., 2012; Yi T., Song S.U., 2012). В этих условиях, скорее всего, происходит

ускоренный процесс «переключения» клеточного фенотипа с асептического воспалительного на регенераторный синтетический.

Трехкратное редуцирование пародонтального индекса (ПИ), отражающего степень деструкции мягких тканей пародонта, отмеченное в ОГ при оценке ближайших результатов лечения и сохраняющееся в отдаленные сроки ($6,76 \pm 0,41$; $2,04 \pm 0,02$ и $2,08 \pm 0,02$ балла до лечения, через 6 и 24 мес. соответственно), дополняет позитивную клиническую картину состояния ротовой полости у больных ХПСТС, получавших лечение по новой методике с аутотрансплантацией СВФ-ЖТ. В контрольной группе показатель ПИ снижается к 12 месяцам всего в 1,6 раза от такового до лечения и имеет тенденцию к увеличению в конце двухлетнего периода наблюдения ($5,87 \pm 0,29$; $3,50 \pm 0,08$ и $4,56 \pm 0,13$ балла до лечения, через 6 и 24 мес. соответственно).

В отдаленные сроки после операции общее состояние пародонта, оцененное посредством клинических показателей (ИК, ПИ), значительно лучше у пациентов ОГ, о чем свидетельствует статистическая значимость различий сравниваемых средних значений ($p < 0,001$). Возможно, повышенная устойчивость пародонта к рецидиву воспалительного процесса у них связана не только с радикальным устранением ретенционных участков для скопления микробного налета, но и с высокими иммунобиологическими свойствами тканей вновь образованного опорного аппарата зуба, способствующими эффективному противостоянию бактериальной агрессии.

Аутотрансплантация СВФ-ЖТ минимизирует уровень рецессии десневого края, которая всегда сопровождает хирургическое лечение пародонтита и часто рассматривается специалистами как побочный, нежелательный, но неизбежный эффект. В ОГ уже в ближайшие сроки наблюдения мы констатировали ликвидацию пародонтальных карманов за счет прироста нового ЗДП, а не за счет десневой рецессии, как это происходит после извлечения барьерных мембран в КГ. Показатели РецДК, регистрируемые через 2 года после операции ($1,24 \pm 0,05$ и $2,91 \pm 0,07$ мм

в ОГ и КГ соответственно, $p < 0,001$), демонстрируют значительное повышение эффективности хирургической коррекции мягких тканей пародонта за счет внедрения в схему лечения клеточной аутотрансплантации.

Применение СВФ-ЖТ позволило получить прирост ЗДП на 73 % от уровня исходного разрушения структур в целом по выборке. В КГ, где также использован регенеративный подход, но без клеточной трансплантации, восстановить разрушенные опорные ткани удалось менее чем наполовину – прирост 45 %.

Зарегистрированные нами в конце 6-месячного периода наблюдения (общепринятая контрольная точка) показатели ПрЗДП в ОГ ($5,53 \pm 0,02$ мм) интересно сравнить с данными из литературных источников. В исследовании Y. Yamada с соавт. (2006) МСК выделяли из костного мозга подвздошного гребня пациентов, размножали в культуре, комбинировали с обогащенной тромбоцитами плазмой и вводили в пародонтальные дефекты. Через 6 месяцев прирост прикрепления составил 4 мм (Yamada Y. et al., 2006). В работе R. Dhote с соавт. (2015) использовали тканеинженерную конструкцию из мезенхимальных стволовых клеток, культивированных на бета-трикальцийфосфате в комбинации с рекомбинантным тромбоцитарным фактором роста. Пациентами были 14 человек без системных заболеваний с исходной глубиной пародонтальных карманов более 5 мм. Через 6 месяцев прирост прикрепления составил $3,91 \pm 1,37$ мм (Dhote R. et al., 2015). При периодонтальной регенерации с использованием аутологичных мононуклеаров костного мозга на носителе из желатинового полимера индийскими специалистами получен прирост прикрепления 6 мм (Sankaranarayanan S. et al., 2013). Подобных исследований с использованием СВФ-ЖТ или ММСК-ЖТ в доступной литературе найти не удалось. Возможно, нами впервые проведен объективный количественный анализ состояния пародонтального статуса больных ХПСТС до и после хирургического лечения с использованием СВФ-ЖТ. Наши клинические результаты по уровню успешности соответствуют представленным выше

результатам других специалистов, применившим передовые технологии клеточной трансплантации и тканевой инженерии, но имеют преимущества, так как достигаются более безопасным, доступным и легковоспроизводимым способом.

Известно, что с топографо-анатомическим видом пародонтального дефекта связано количество способных к регенерации окружающих витальных костных структур и покровных мягких тканей, что в значительной мере определяет исход регенеративного лечения (Перова М.Д., 2005). Аутооттрансплантация СВФ-ЖТ уменьшает эту зависимость. Наличие в составе аутооттрансплантата ММСК, способных дифференцироваться, превращаясь в клетки, строящие органотипические структуры пародонта, с одной стороны, и волокнистых элементов стромы, служащих первичным матриксом для пространственного распределения и фиксации клеточных форм, с другой, по нашему мнению, объясняет эффективность восстановления тканей при САД и ФД. Ранее было установлено, что носители из различных биоматериалов увеличивают эффективность пересадки МСК в пародонтальные дефекты, потому что заполняют рану, стабилизируют кровяной сгусток, удерживают клетки в «рабочей» зоне, а также обеспечивают лучшее микроокружение для регенерации (Karageorgiou V., Kaplan D., 2005; Bartold P.M. et al., 2006). Считается, что идеальный носитель должен имитировать естественное клеточное микроокружение, делая доступным межклеточные и клеточно-матриксные взаимодействия (Chen F.M. et al., 2012). СВФ-ЖТ, по сути, представляет собой готовую тканеинженерную комбинацию ММСК с носителем из концентрированной стромы жировой ткани, для которой указанные выше требования к идеальному носителю свойственны. Поэтому мы считаем возможным для регенеративного лечения пародонтальных дефектов относительно небольшого объема применение СВФ-ЖТ в изолированном виде. При значительном размере костного дефекта целесообразно фракцию комбинировать с резорбируемым остеозамещающим материалом.

В большинстве работ, в которых тестируются новые способы пародонтальной регенерации, оценивается количество восстановленных тканей (прирост прикрепления, глубина карманов), но не менее важно, на наш взгляд, изучить и функциональные характеристики реконструированных структур зубодесневого прикрепления. В нашем изучении эффективности трансплантации СВФ-ЖТ при лечении пародонтита впервые проведена оценка функционального состояния опорного аппарата зубов с помощью чувствительной аппаратной методики – периотестометрии. Показатели пациентов ОГ свидетельствуют о быстрой нормализации основной функции опорного аппарата зуба – способности к жевательной нагрузке.

Рентгенологические методы исследования подтверждают эффективность хирургического лечения больных ХПСТС: в обеих группах признаков рецидива воспалительно-деструктивного процесса не наблюдается в течение всего периода наблюдения. Получены данные о более значительном приросте рентгеноконтрастных тканей в околозубной области, ранней дифференциации тонких структур периодонта в ОГ по сравнению с КГ.

При гистологическом исследовании срезов околозубных тканей морфологическая картина регенерата в ОГ существенно отличается от таковой в контроле. Прежде всего, обращает на себя внимание более высокая степень васкуляризации в образцах основной группы. Это ожидаемо, учитывая данные литературы о способности ММСК-ЖТ стимулировать ангиогенез и неоваскуляризацию (Любарский М.С. с соавт., 2010; Miranville A. et al., 2004; Planat-Benard V. et al., 2004; Rehman J. et al., 2004; Wu Y. et al., 2007; Scherberich A. et al., 2010), а также данные собственных исследований о присутствии в СВФ-ЖТ клеток, экспрессирующих маркер CD31, который считается иммуногистохимическим маркером клеток сосудистого эндотелия (Albelda S.M. et al., 1991; Maas M. et al., 2005). Нами впервые в иммуногистохимическом исследовании с помощью антител к маркеру эндотелиальных прогениторных клеток CD34 установлено, что средний показатель плотности микрососудов на срезах околозубных тканей

почти в 2 раза выше после лечения с аутотрансплантацией СВФ-ЖТ по сравнению с традиционной техникой направленной регенерации ($58,2 \pm 10,2$ и $30,1 \pm 7,5$ ед/мм² в ОГ и КГ соответственно, $p = 0,047$).

Вокруг участков активного неоваскулогенеза, а также на границе с минерализованными структурами молодой костной альвеолы отмечается высокая концентрация клеток фибробластического ряда. Известно, что основным источником МСК в регенерате является местная популяция малодифференцированных клеток, расположенных в стенке кровеносных сосудов, окружающей материнской кости, остатках периодонтальной связки (Воложин Г.А. с соавт., 2010; Carnes D.L. et al., 1997; Nakahara T. et al., 2004). Не исключена миграция клеточных источников регенерации, расположенных вне пародонта, в том числе костномозговых предшественников фибробластов (Данилов Р.К., 2007; Khosla S., Eghbali-Fatourehchi G.Z., 2006; Kumagai K. et al., 2008; Matsumoto T. et al., 2008). Учитывая, что представленные выше камбиальные источники одни и те же в исследуемых группах, выявленные морфологические различия можно объяснить прямым включением в регенерат фибробластоподобных клеток СВФ-ЖТ и/или паракринной стимуляцией эндогенных клеток-предшественников в ОГ.

Другой отличительной особенностью образцов ткани регенерата из ОГ является отсутствие проявлений воспалительной реакции, хотя в КГ, даже при высоком клиническом результате, с высокой частотой встречались лимфоидно-плазмоцитарные клеточные скопления, межклеточный отек соединительнотканной стромы с соответствующей сосудистой реакцией и локальной деградацией коллагеновых волокон в виде гиалиноза и склероза. О способности ММСК-ЖТ влиять на иммунные клеточные реакции упоминалось выше при обсуждении клинических проявлений пародонтальной регенерации в группах сравнения. Данные литературы о том, что культивирование ухудшает иммуномодулирующие свойства ММСК (Wang X. et al., 2015), служат дополнительным обоснованием целесообразности

использования для стимуляции регенераторных процессов пародонта именно свежевыделенной СВФ-ЖТ, а не приготовленной из нее клеточной линии.

Во многих экспериментальных исследованиях оценивается влияние источника ММСК на их способность участвовать в регенерации пародонта (Bartold P.M. et al., 2006; Li H. et al., 2009; Jiang J. et al., 2010; Duan X. et al., 2011; Tsumanuma Y. et al., 2011; Zhu B. et al., 2013). Считается, что внутриротовой источник предпочтителен, так как эти клетки – производные периодонтальной связки, пульпы зуба, десны, альвеолярной кости или дентального фолликула – наиболее близки к регенерируемым тканям и способны напрямую давать рост органотипическим структурам пародонта (Ding G. et al., 2010; Park J.Y. et al., 2011; Fawzy El-Sayed K.M. et al., 2012; Suaid F.F. et al., 2012; Khorsand A. et al., 2013; Yu N. et al., 2013). Однако в терапевтической дозе они не являются легкодоступными в рутинной клинической практике. Поэтому актуален поиск альтернативных внеротовых источников. Показано, что стромальные клетки костного мозга сравнимы с ММСК, полученными из околозубных тканей, по их способности регенерировать пародонт (Воложин Г.А. с соавт., 2010; Kawaguchi H. et al., 2004; Huang G.T. et al., 2009; Li H. et al., 2009). Но процедура их получения также не является простой, а для создания терапевтической концентрации требуется размножение в культуре. В качестве перспективного источника клеточного материала для регенерации пародонта рассматривается жировая ткань, о чем свидетельствуют экспериментальные исследования (Русанов В.П. с соавт., 2016; Tobita M. et al., 2013; Takedachi M. et al., 2013). Между тем в модели на животных невозможно воссоздать весь этиопатогенетический комплекс процессов, лежащих в основе разрушения пародонта. Поэтому клинические исследования способности ММСК-ЖТ улучшать регенерацию пародонта были необходимы. Наша настоящая работа четко демонстрирует преимущества использования СВФ-ЖТ и предоставляет подробное описание технологии клеточно-потенцированного хирургического лечения хронического пародонтита средней и тяжелой степени.

5.2. Клинико-рентгенологическая оценка замещения дефектов челюстных костей после удаления кистозных образований одонтогенного генеза

Оценка замещения 125 объемных дефектов челюстных костей проведена у 112 пациентов с одонтогенными кистозными образованиями после хирургического лечения с использованием СВФ-ЖТ (ОГ, 52 пациента, 58 операций) и с применением общепринятых подходов (КГ, 60 пациентов, 67 операций). Период наблюдения составил в среднем $19,7 \pm 0,7$ месяцев. 27 пациентов (2 из ОГ и 25 из КГ) отсеялись в разные сроки до окончания полного двухгодичного периода наблюдения в связи с реоперацией из-за возникших осложнений или рецидива заболевания.

У большинства больных заживление проходило первичным натяжением при общем удовлетворительном состоянии. В 17 случаях (из 125) наблюдалось осложненное течение послеоперационного периода (таблица 19).

Таблица 19 – Частота осложнений в послеоперационном периоде у пациентов с кистозными образованиями челюстей

Размер дефекта, мм	Основная группа			Контрольная группа			p
	n	Частота осложнений		n	Частота осложнений		
		абс.	%		абс.	%	
< 10	5	0	0,0	36	5	13,9	1,0
10–20	18	1	5,6	23	9	39,1	0,025*
21–30	26	0	0,0	2	2	100,0	0,037*
> 30	9	0	0,0	6	0	0,0	1,0
Все размеры	58	1	1,7	67	16	23,9	< 0,001*

Примечание: * – различия показателей статистически значимы.

Согласно полученным данным, общая частота послеоперационных осложнений в КГ составила 23,9 %, а в ОГ была существенно ниже – 1,7 %. В связи с разным составом сравниваемых групп по размерам дефекта,

показатели сопоставлялись отдельно для каждого размера. В результате анализа, проведенного с помощью точного критерия Фишера, установлены статистически значимые различия частоты осложнений среди пациентов с размерами дефектов от 10 до 20 мм ($p < 0,05$) и от 21 до 30 мм ($p < 0,05$).

В ОГ только у 1 пациента наблюдалось частичное абсцедирование трансплантата. Причиной неудачи, на наш взгляд, явилась техническая погрешность на стадии обработки технологии. В этом случае был проведен аккуратный кюретаж воспаленного участка, после чего рана зажила вторичным натяжением без существенного ущерба для конечного клинического результата. Курс лечения в ОГ включал в большинстве случаев 4 посещения: первое – первичное обследование и консультация; второе – оперативное вмешательство; третье – контроль на 2-е сутки после операции; четвертое – снятие швов. Важно отметить, что при использовании СВФ-ЖТ существенно снижалась медикаментозная нагрузка на организм больных: лишь при наличии синуситов (у 4 больных), а также при стойком значительном отеке региональных мягких тканей (у 3 больных с дефектами от 21 до 30 мм и 6 больных с дефектами более 30 мм) применялась антибиотикотерапия. Во всех остальных случаях использовались только противовоспалительные средства (дексалгин 25 мг за час до операции и по 25 мг дважды в день в течение 3–5 дней после операции) и антисептические полоскания (0,05 % раствор хлоргексидина или 0,1 % раствор гипохлорита натрия до дня снятия швов).

В КГ при малых размерах дефекта заживление, как правило, протекало первичным натяжением с конечным положительным результатом. Однако по мере увеличения размеров восстанавливаемого участка кости увеличивалась частота послеоперационных осложнений, что требовало более длительного лечения и отрицательно сказывалось на исходах.

После лечения кистозных образований с дефектами челюстной кости до 10 мм в 5 случаях (13,9 %) наблюдались лизис кровяного сгустка, инфицирование раны с заживлением вторичным натяжением.

При размерах дефекта от 10 до 20 мм локальные воспалительные осложнения наблюдались в 9 случаях из 23 (39,1 %), причем в 2 случаях из-за присоединения гнойной инфекции потребовалась ревизия раны с последующим заживлением под йодоформными турундами. Количество посещений у этих больных составляло от 8 до 15.

Дефекты размерами от 21 до 30 мм в КГ (2 случая) не удалось устранить однократным оперативным вмешательством: отмечалось расхождение швов в ранние сроки, оголение и активное резорбирование коллагеновой мембраны с инфицированием подмембранного пространства. Это служило показанием к повторному хирургическому вмешательству в ранние сроки.

В 6 случаях дефектов размерами более 30 мм после проведения цистотомии наблюдалось медленное заживление под йодоформными турундами. В последующем больным изготавливали пластмассовые obturatory, и реабилитация велась согласно общепринятому протоколу.

Срок временной нетрудоспособности в ОГ составлял в среднем $3,0 \pm 1,4$ дня ($n = 25$), в КГ был более чем в 2 раза дольше – $7,0 \pm 2,6$ дней ($n = 33$). Различия статистически незначимы ($p = 0,192$), что можно объяснить высокой вариабельностью значений показателя.

С помощью анализа относительного риска установлена статистически значимая обратная связь между наличием «фактора риска» (включение в схему лечения СВФ-ЖТ) и наступлением исхода (послеоперационное осложнение). Риск развития осложнений после лечения по новой клеточно-потенцированной методике в 13,8 раза ниже, чем после лечения по стандартной схеме (95 % ДИ: 0,01–0,53).

Основные клинические результаты лечения в группах сравнения представлены в таблицах 21–23. При этом оценочные критерии были следующими: «положительный результат» – отсутствие осложнений и рецидивов, сохранение причинных зубов; «отрицательный результат» – осложнения и рецидивы воспалительно-деструктивного процесса,

формирование свищей, повторные операции, в том числе с экстракцией причинных зубов. При установлении отрицательного результата в контрольный срок случай исключался из дальнейшего наблюдения.

Через 6 мес. проведена оценка состояния 108 прооперированных участков верхней и нижней челюстей, заживление которых проходило без осложнений в раннем послеоперационном периоде (таблица 20).

Таблица 20 – Результаты лечения больных с кистозными образованиями челюстей через 6 месяцев после операции

Размер дефекта, мм	Основная группа			Контрольная группа		
	n	Результат лечения, абс. (%)		n	Результат лечения, абс. (%)	
		положительный	отрицательный		положительный	отрицательный
< 10	5	5 (100,0)	0	31	31 (100,0)	0
10–20	17	17 (100,0)	0	14	12 (85,7)	2 (14,3)
21–30	26	26 (100,0)	0	0	0	0
> 30	9	8 (88,9)	1 (11,1)	6	5 (83,3)	1 (16,7)
Все размеры	57	56 (98,2)	1 (1,8)	51	48 (94,1)	3 (5,9)

В ОГ в большинстве наблюдений (98,2 %) констатирован положительный результат лечения, без рецидивов, с сохранением причинных зубов, даже если имелась исходная критическая потеря опорного аппарата. Визуально ткани десны в зоне оперативного вмешательства имели здоровый бледно-розовый цвет с нормальным сосудистым рисунком, без рубцовых изменений. Исходная клинически определяемая подвижность зубов значительно уменьшалась. При изначальной патологической подвижности зубов III степени шинирующие конструкции в эти сроки не удаляли, а при необходимости повторно корректировали. Кроме описанного ранее случая воспаления в послеоперационном периоде отрицательный результат зафиксирован у пациентки 67 лет с инсулинозависимым сахарным диабетом и рецидивирующим (2 операции в анамнезе) течением кистозного процесса. Через 5 мес. после нашей операции в связи с рецидивом воспалительно-

деструктивного процесса выполнено хирургическое вмешательство с удалением причинных зубов.

В эти же сроки у больных КГ с костными дефектами до 10 мм констатировано клиническое выздоровление. Двум больным с размерами первичных костных дефектов около 20 мм, в связи с рецидивом воспалительного процесса были проведены повторные хирургические вмешательства. После цистотомии у одного больного, который не систематически использовал obturator, сформировался свищевой ход, что потребовало повторного кюретажа и ведения раны с помощью йодоформных турунд с последующим изготовлением нового obturatora.

Сопоставление результатов лечения при сроке наблюдения 12 месяцев представлено в таблице 21.

Таблица 21 – Результаты лечения больных с кистозными образованиями челюстей через 12 месяцев после операции

Размер дефекта, мм	Основная группа			Контрольная группа		
	n	Результат лечения, абс. (%)		n	Результат лечения, абс. (%)	
		положительный	отрицательный		положительный	отрицательный
< 10	5	5 (100,0)	0	31	29 (93,5)	2 (6,5)
10–20	17	17 (100,0)	0	12	7 (58,3)	5 (41,7)
21–30	26	26 (100,0)	0	0	0	0
> 30	8	8 (100,0)	0	5	5 (100,0)	0
Все размеры	56	56 (100,0)	0	48	41 (85,4)	7 (14,6)

В ОГ при контроле через 12 месяцев после операции больные жалоб не предъявляли. Объективный осмотр участка оперативного вмешательства показал здоровое состояние тканей: цвет десен бледно-розовый, консистенция десен плотная, глубина зондирования в области сохраненных зубов не превышает 1,5 мм, отсутствует патологическая подвижность причинных зубов. Каких-либо рубцовых изменений покровных тканей в преддверии рта не отмечено. При пальпации альвеолярного отростка

в области хирургического доступа нет податливости и болезненности во всех случаях, в том числе при имевшихся до операции повреждениях компактных костных пластинок. Некоторое изменение формы альвеолярного гребня в зоне вмешательства отмечено в 11 случаях из 56 (19,6 %), что проявлялось в виде незначительной деформации по типу «минус ткань» в апикальной трети гребня. Однако нами отмечена положительная динамика к устранению таких деформаций челюсти у лиц разных возрастных групп и с разным соматическим статусом, что можно объяснить неоконченным еще в эти сроки процессом ремоделирования сформированных первичных костных структур.

В КГ через 12 месяцев клиническая оценка проведена в 48 случаях. У 34 больных с 36 случаями оперативного лечения отдельного кистозного образования до 20 мм зарегистрирован положительный клинический результат: жалобы отсутствуют, нет объективных признаков рецидива воспалительно-деструктивного процесса. В 7 случаях (16,3 %) результат лечения оценен как отрицательный: 2 случая составили кистозные образования до 10 мм по наибольшему размеру, 5 случаев – от 10 до 20 мм. Эти больные предъявляли жалобы на неприятные ощущения в зоне вмешательства, периодически появляющийся дискомфорт при надавливании на зубы. При объективном обследовании мягкие ткани гиперемированы с цианотичным оттенком, отечны, болезненны при пальпации. В 2 случаях сформировались свищевые ходы с серозно-гнойным отделяемым. Были проведены повторные хирургические вмешательства – кюретаж патологически измененных тканей с одновременным удалением подвижных причинных зубов. Заживление протекало вторичным натяжением со сменой йодоформных турунд. Нужно отметить, что осложнения и рецидивы наблюдались у больных с длительным анамнезом курения и хронической сопутствующей патологией. У 5 больных после цистотомии дефект сохранялся в прежнем объеме, требуя постоянного гигиенического ухода с периодической сменой obturаторов.

Результаты лечения через 24 месяца после операции сопоставлены в таблице 22.

Таблица 22 – Результаты лечения больных с кистозными образованиями челюстей через 24 месяца после операции

Размер дефекта, мм	Основная группа			Контрольная группа		
	n	Результат лечения, абс. (%)		n	Результат лечения, абс. (%)	
		положительный	отрицательный		положительный	отрицательный
< 10	5	5 (100,0)	0	29	25 (86,2)	4 (13,8)
10–20	17	17 (100,0)	0	7	2 (28,6)	5 (71,4)
21–30	26	26 (100,0)	0	0	0	0
> 30	8	8 (100,0)	0	5	5 (100,0)	0
Все размеры	56	56 (100,0)	0	41	32 (78,0)	9 (22,0)

Как следует из таблицы 22, через 24 месяца после проведенного лечения у всех пациентов ОГ, наблюдаемых на данном этапе, отмечался положительный результат.

Через 24 месяца в КГ было оценено заживление 41 дефекта, в отношении которых был определен положительный результат в предыдущий контрольный срок. В 27 случаях (75,0 %) из 36 дефектов размерами до 20 мм достигнут положительный клинический результат. У 9 (25,0 %) больных (исходный размер дефекта до 10 мм – 4 случая, от 10 до 20 мм – 5 случаев) констатирован рецидив воспалительно-деструктивного процесса, что потребовало повторных хирургических вмешательств с экстракцией вовлеченных зубов. В 5 случаях цистотомии в эти сроки не было отмечено полного тканевого замещения дефекта.

Таким образом, в течение последних 18 месяцев установленного в работе срока наблюдений в ОГ результат был стабилен, а в КГ отмечались рецидивы воспалительно-деструктивного процесса.

Клиническая эффективность лечения кистозных образований челюстей разного размера в исследуемых группах сопоставлена в таблице 23.

Таблица 23 – Клиническая эффективность лечения больных с кистозными образованиями челюстей разного размера

Размер дефекта, мм	Основная группа			Контрольная группа			p	ОР
	n	Результат лечения, абс. (%)		n	Результат лечения, абс. (%)			
		положительный	отрицательный		положительный	отрицательный		
< 10	5	5 (100)	0	36	25 (69,4)	11 (30,6)	0,300	0,000
10–20	18	17 (94,4)	1 (5,6)	23	2 (8,7)	21 (91,3)	< 0,001*	0,061**
21–30	26	26 (100)	0	2	0	2 (100)	< 0,001*	0,000
> 30	9	8 (88,9)	1 (11,1)	6	5 (83,3)	1 (16,7)	> 0,05	0,667
Все размеры	58	56 (96,6)	2 (3,4)	67	32 (47,8)	35 (52,2)	< 0,05*	0,066**

Примечания: * – различия показателей статистически значимы; ОР – относительный риск отрицательного результата; ** – взаимосвязь результата с видом лечения статистически значима при $p < 0,05$.

Как следует из таблицы, к концу полного периода наблюдения общая клиническая эффективность лечения (без дифференциации по размерам дефектов) составляет в ОГ 96,6 % и в КГ 47,8 % ($p < 0,05$ по точному критерию Фишера). Риск отрицательного результата при лечении по общепринятой методике выше в 15,4 раза по сравнению с лечением по новой методике с применением СВФ-ЖТ (взаимосвязь исхода с видом лечения статистически значима, $p < 0,05$; 95 % ДИ 0,017–0,263).

Эффективность лечения кистозных образований размерами менее 10 мм выше в ОГ, чем в КГ, хотя различия показателей не достигают уровня статистической значимости ($p = 0,300$, по точному критерию Фишера). Абсолютный риск отрицательного исхода в КГ минимален (по сравнению с другими размерами дефектов). В ОГ абсолютный риск отрицательного исхода при лечении кистозных образований такого размера отсутствует.

Эффективность лечения кистозных образований размерами 10–20 мм статистически значимо выше в ОГ, чем в КГ – 94,4 % и 8,7 % соответственно

($p < 0,001$, по точному критерию Фишера). При этом вероятность получить отрицательный результат при лечении по новой методике меньше в 16,3 раза, чем при лечении по стандартной методике ($OR = 0,061$; 95 % ДИ 0,009–0,410; $p < 0,05$).

Лечение кист размерами 21–30 мм в КГ оказалось не эффективным, а в ОГ эффективность составила 100 % без риска отрицательного результата.

Несмотря на близкие показатели эффективности лечения кист размерами более 30 мм (88,9 % и 83,3 %, $p > 0,05$ по точному критерию Фишера), результат лечения больших кист в КГ методом цистотомии, даже при отсутствии осложнений и рецидивов, по полноте восстановления челюстной кости весьма условно может быть отнесен к положительному.

При равнооцениваемом положительном клиническом результате рентгенологические характеристики восстанавливаемой кости различались в исследуемых группах. В ОГ через 6 месяцев после операции на радиовизиограммах в проекции дооперационного дефекта определяется тень регенерата, равномерно заполняющая весь объем костного изъяна, неоднородной структуры, приближающаяся по интенсивности к окружающей кости. При этом границы дефекта нечеткие, в некоторых наблюдениях определяются с трудом. В случаях больших кист с повреждением кортикальных пластинок челюстной кости отсутствуют контуры края костного дефекта, характерные для дооперационных снимков. Корни сохраненных зубов, свободно обращенные в полость кисты, погружены в сформировавшуюся рентгеноконтрастную структуру, а в зоне контакта визуализируется щель периодонтально-связочного пространства (рисунок 56).

В отдаленные сроки (12 и 24 мес.) рентгенологически отмечается уплотнение костного регенерата по сравнению с данными предыдущего исследования. При этом интенсивность тени максимально приближена или сравнивается с показателями перифокальной интактной кости. Четко прослеживается трабекулярный рисунок восстановленной костной ткани

(рисунок 57). В половине случаев в проекции регенерата оставались видны нерезорбированные фрагменты аутологичной кости, хотя и меньших размеров, чем это наблюдалось в ближайшие сроки.

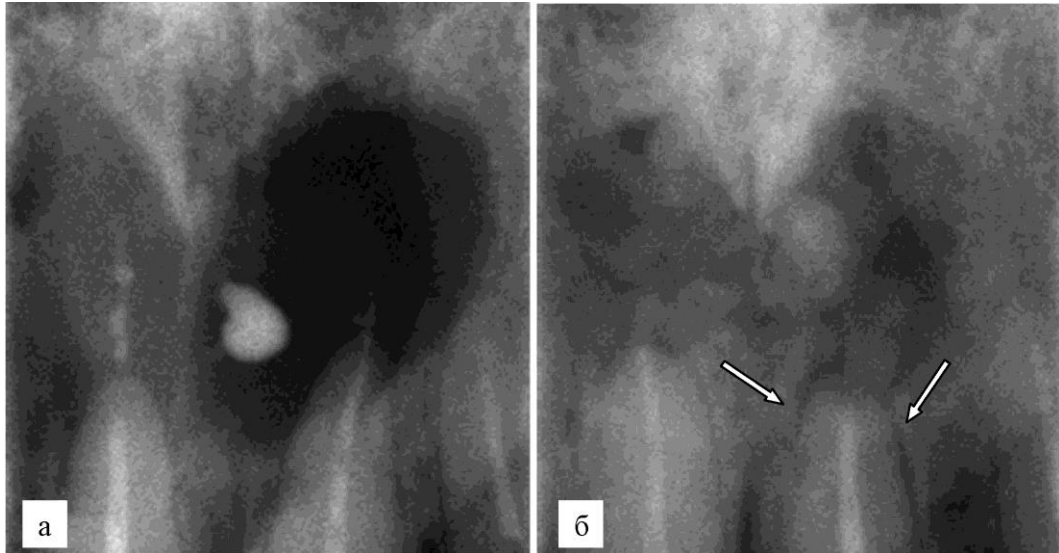


Рисунок 56 – Радикулярная многопазушная киста верхней челюсти у пациента основной группы: а) до лечения – четко определяются границы костного дефекта, виден свободно лежащий фрагмент пломбировочного материала; б) через 4 мес. – неоднородная рентгеноконтрастная структура определяется по всему объему костного дефекта, визуализируется щель периодонтально-связочного пространства (показано стрелками)

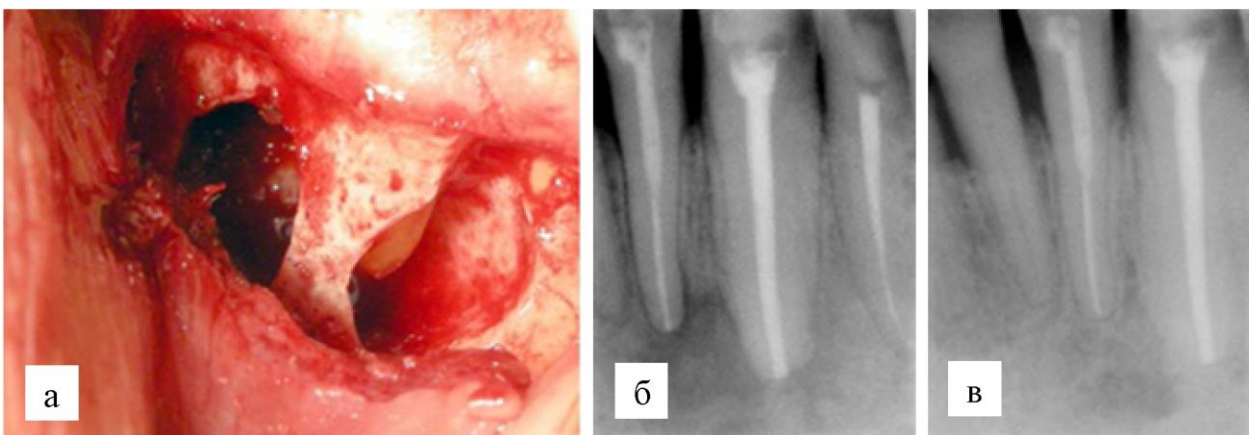


Рисунок 57 – Радикулярная киста нижней челюсти у пациента основной группы: а) вид костного дефекта после удаления кисты; б) через 6 мес. – костный изъян заполнен регенератом пониженной рентгенологической плотности; в) через 12 мес. – уплотнение костного регенерата, формирование трабекулярной структуры

Важно отметить, что частицы трансплантированной аутологичной кости с течением времени не меняют своего положения в реципиентной зоне, а лишь уменьшаются в размерах в связи с процессом резорбции, что подтверждено рентгенологической картиной в разные сроки наблюдения. Этот факт объясняется оптимизирующим влиянием волокнистого компонента СВФ-ЖТ на механическую стабильность в костной ране, что крайне важно для полноценного протекания процессов остеогенеза.

В 15 случаях больших кистозных образований с разрушением одной или обеих кортикальных костных пластинок, после лечения не определялось участков просветления в центральной зоне, что говорит о восстановлении кортекса челюстей. У 2 больных с длительным рецидивирующим течением патологического процесса и повторными хирургическими вмешательствами в анамнезе дефект был заполнен регенератом, неоднородным по плотности, с остатками просветления в центральной зоне. У 3 больных выявлена очаговая рентгенопрозрачность в апикальной части резецированных корней зубов, что связано с неполным восстановлением кости или рецидивом деструктивного процесса по ятрогенным причинам – некачественная obturation корней каналов пломбировочным материалом. По периферии корней сохраненных зубов визуализируется периодонтальная связка. Появление этой важной структуры опорного аппарата зуба свидетельствует о хорошем клиническом прогнозе сохраненных зубов.

На компьютерных томограммах во всех изученных проекциях отмечается исчезновение «вздутия» альвеолярного гребня, определяемое при длительном течении рецидивирующего кистозного процесса до лечения, появление по всему объему губчатой структуры регенерата и, что особенно важно, формирование новых кортикальных пластинок как в области хирургического доступа (вестибулярная поверхность), так и со стороны твердого нёба или носовой полости (рисунок 58).

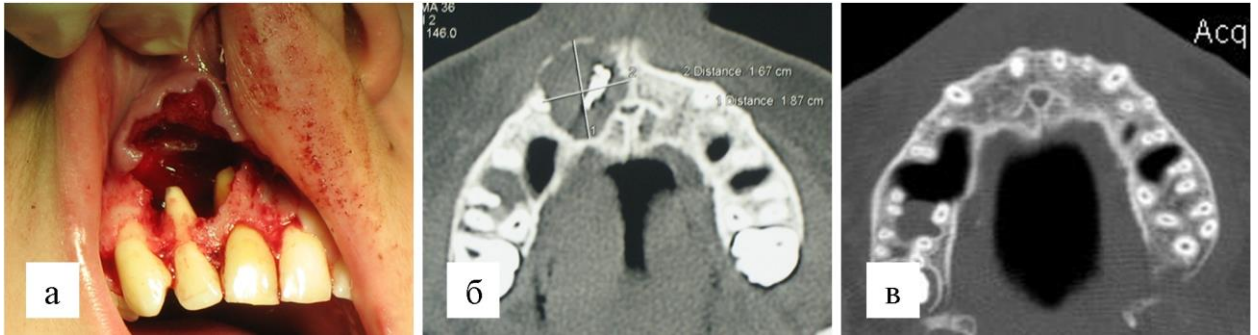


Рисунок 58 – Радикулярная киста верхней челюсти пациента Т. 16 лет:
 а) интраоперационный вид дефекта; б) КТ до лечения; в) КТ через 2 года после
 цистэктомии и остеопластики с аутотрансплантацией в костный дефект СВФ-ЖТ
 с костной крошкой – дефект устранен, кортикальная пластинка восстановлена,
 челюсть имеет нормальную рентгеноанатомию

Лишь в двух случаях у больных старше 55 лет в косо-сагиттальных проекциях наблюдались остаточные деформации альвеолярного гребня верхней и нижней челюстей. При сравнительном анализе срезов, проходящих через вовлеченные в кистозный процесс зубы, отмечено появление вокруг корней плотных структур и формирование периодонтально-связочных элементов. Рентгенологическая плотность ткани в межкортикальной зоне замещенного дефекта варьировала от 578 до 913 НУ, составляя в среднем по группе 767 ± 184 НУ ($M \pm \sigma$, $n = 56$).

В КГ через 6 месяцев после операции при исходных размерах дефекта до 10 мм рентгенологическая картина сходна с таковой в ОГ: область костного изъяна имеет повышенную рентгенологическую плотность по сравнению с дооперационными снимками, по периферии приближаясь к плотности кости, что затрудняет четкую визуализацию границ дефекта. В половине случаев регенерат имеет трабекулярную структуру (рисунок 59, а).

При размерах дефекта от 10 до 20 мм и от 21 до 30 мм наблюдаются рентгенологические признаки замещения только периферических отделов костных изъянов (повышение плотности, размытие границы дефект–кость), однако в центральной части дефекты остаются «прозрачными»; при использовании гранул остеозамещающего материала они четко визуализируются, придавая пятнистый вид регенерату (рисунок 59, б).



Рисунок 59 – Рентгенологические результаты лечения пациентов контрольной группы: а) кистогранулема верхней челюсти – определяются трабекулярный рисунок регенерата и периодонтально-связочное пространство; б) радикулярная киста верхней челюсти – размер дефекта сократился за счет появления рентгеноконтрастной зернистой структуры по периферии, центральная часть остается рентгенопрозрачной, границы исходного изъяна четко визуализируются

Через 12 месяцев после операции при клинически успешном результате традиционного лечения дефектов малого и среднего размеров только в половине случаев определяется полное замещение их рентгеноконтрастной тканью, хотя и с определяемыми очертаниями первичных контуров. В 10 случаях (28 %) на рентгенограмме не отмечено полного замещения костных дефектов, а наблюдается только некоторое сокращение их размеров от первоначальной величины; центральная часть по-прежнему имеет низкую рентгенологическую плотность. В случаях применения остеокондуктора дефекты замещены неомогенными структурами, имеющими пятнистый вид на рентгенограмме за счет контрастирования нерезорбированных гранул имплантированного материала.

При анализе рентгенограмм, выполненных пациентам КГ через 24 месяца после операции, существенной динамики по сравнению с данными исследования в предыдущий срок не выявлено. При небольших костных

изъянах можно проследить появление костного регенерата губчатой структуры у молодых здоровых и некурящих пациентов. У остальных больных при клинически благополучном результате лечения рентгенологически определяется лишь некоторое сокращение размеров дефекта с сохранением зоны пониженной плотности в центре. Как и в предыдущий срок наблюдения, хорошо различимы гранулы имплантированного остеозамещающего материала, продолжают оставаться видимыми границы первичных костных изъянов. По данным денситометрии, рентгенологическая плотность ткани регенерата колеблется в широких пределах, составляя в среднем 368 ± 124 HU ($M \pm \sigma$, $n = 41$). При сравнении с соответствующими данными ОГ (767 ± 184 HU, $n = 56$) различия статистически значимы ($p < 0,001$). Рентгенологическая картина у пациентов после цистотомии по сравнению с состоянием до лечения существенно не изменилась.

В работе проведена оценка влияния проведенного лечения на подвижность зубов в зависимости от степени исходной потери костного прикрепления: при оголении корня зуба до $1/3$ его длины и при более значительном оголении корня – от $1/3$ до $1/2$ его длины. Динамика показателей периотестометрии в зависимости от вида лечения представлена на рисунках 60 и 61.

Исходные показатели ПТМ у зубов с оголением корней до $1/3$ длины в ОГ и КГ находились в диапазоне II степени подвижности со средними значениями $29,4 \pm 1,0$ ($n = 53$) и $23,5 \pm 3,7$ ($n = 36$) соответственно (рисунок 60). Различия показателей статистически незначимы ($p = 0,127$, по t-критерию Стьюдента).

В подгруппах ОГ уже через 2 месяца после операции показатели ПТМ статистически значимо снизились по сравнению с исходными, составляя в ОГ1 $22,5 \pm 2,6$ ($n = 23$, $p = 0,04$), в ОГ2 $21,6 \pm 2,9$ ($n = 11$, $p = 0,011$), в ОГ3 $19,3 \pm 2,1$ ($n = 19$, $p = 0,007$). Через 6, 12 и 24 мес. отмечается устойчивая тенденция к снижению показателей ПТМ по сравнению с данными предыдущего

наблюдения: в ОГ1 на 16,8 % – 60,4 % – 48,7 %; в ОГ2 на 19,4 % – 61,5 % – 53,7 %; в ОГ3 на 47,2 % – 32,4 % – 57,6 % соответственно вышеуказанным срокам тестирования. Во всех трех категориях исследуемых снижение при сравнении с помощью однофакторного дисперсионного анализа с повторными наблюдениями было статистически значимым ($p < 0,001$).

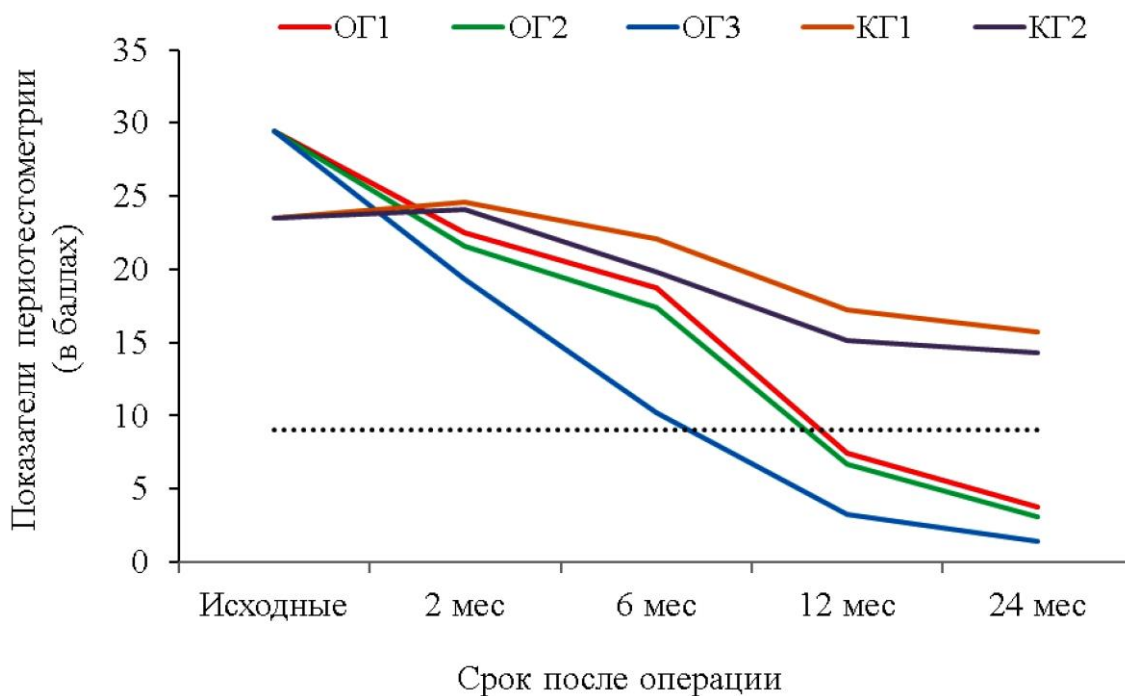


Рисунок 60 – Динамика показателей периотестометрии (в баллах)

в области зубов с оголением корней до 1/3 длины в зависимости от вида лечения: ОГ1 – аутотрансплантация СВФ-ЖТ; ОГ2 – аутотрансплантация СВФ-ЖТ с костной крошкой; ОГ3 – аутотрансплантация СВФ-ЖТ с костной крошкой и гранулированным остеокондуктором, изоляция барьерной мембраной; КГ1 – заживление под кровяным сгустком; КГ2 – имплантация гранулированного остеокондуктора и изоляция мембраной.

Горизонтальная пунктирная линия – верхняя граница значений ПТМ при прочной позиции зуба

В КГ при аналогичной степени потери костного прикрепления динамика показателей ПТМ была иной. Через 2 месяца с момента операции регистрировались показатели даже выше исходных, что может свидетельствовать об ослаблении фиксации причинных зубов в результате хирургической обработки измененных околокорневых тканей и отсутствии

в эти сроки новообразованных опорных структур. В дальнейшем изучаемые показатели снижались более плавно, чем это наблюдалось в основной группе: в КГ1 на 10,2 % – 22,2 % – 8,7 %; в КГ2 на 17,8 % – 23,7 % – 5,3 % соответственно срокам 6, 12 и 24 месяца.

При сравнении средних по группе значений ПТМ, зарегистрированных через 24 месяца после операции в ОГ ($2,8 \pm 1,1$ балла; $n = 53$) и в КГ ($15,0 \pm 2,1$ балла, $n = 36$), выявлены статистически значимые различия ($p < 0,001$, по t-критерию Стьюдента). В динамике за весь период наблюдения изменения средних значений ПТМ в ОГ и КГ статистически значимы (при уровне значимости $p < 0,001$ и $p = 0,049$ в ОГ и КГ соответственно).

При кистозных образованиях большого размера с более значительной потерей костного прикрепления (оголение корней от 1/3 до 1/2 длины) исходные показатели ПТМ составили в среднем $31,2 \pm 0,7$ ($n = 89$) в ОГ и $25,3 \pm 6,7$ ($n = 26$) в КГ, что соответствует II–III степени подвижности зуба (рисунок 61). Различия показателей статистически незначимы ($p = 0,383$).

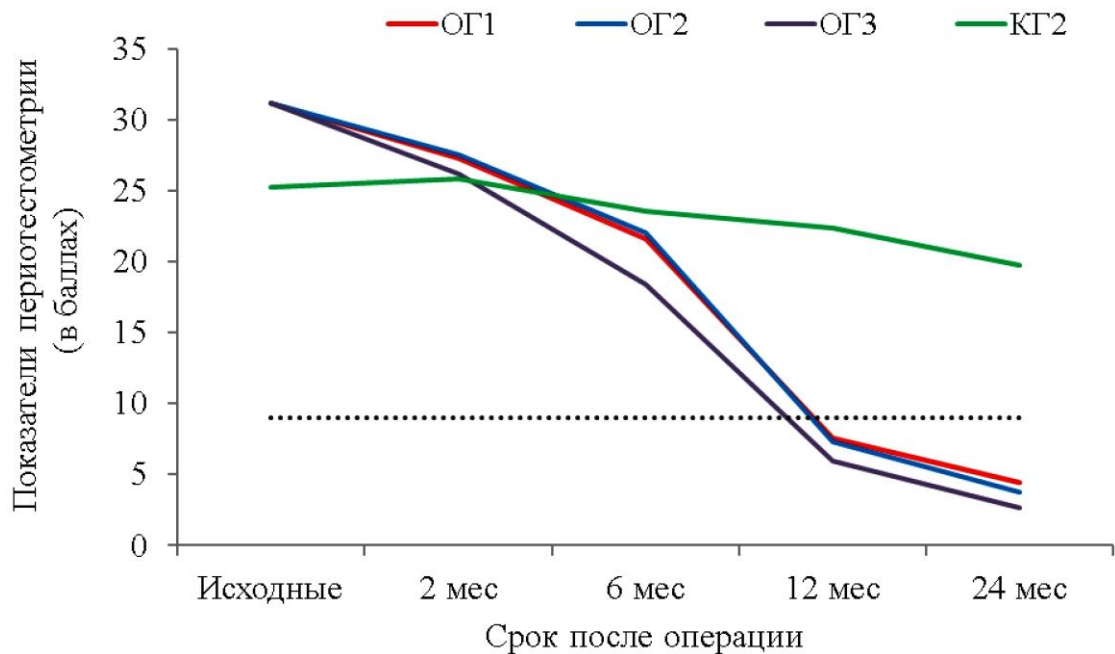


Рисунок 61 – Динамика показателей периотестометрии (в баллах) в области зубов с оголением корней от 1/3 до 1/2 длины в зависимости от вида лечения.

Обозначения те же, что на рисунке 60

В ОГ динамика изучаемых показателей аналогична описанной выше для случаев с оголением корней до 1/3 длины. Через 2 месяца после операции показатели ПТМ снизились на 4–5 баллов от исходных значений и составили: в ОГ1 $27,3 \pm 4,1$ ($n = 20$, $p = 0,035$); в ОГ2 $27,6 \pm 2,3$ ($n = 22$, $p = 0,014$); в ОГ3 $26,2 \pm 0,9$ ($n = 47$, $p = 0,002$), демонстрируя раннюю стабилизацию сохраненных подвижных зубов. Через 6, 12 и 24 месяца зарегистрировано снижение показателей ПТМ: в ОГ1 на 20,9 % – 64,8 % – 42,1 %; в ОГ2 на 19,9 % – 66,9 % – 47,9 %; в ОГ3 на 29,8 % – 67,4 % – 55 % соответственно вышеуказанным срокам тестирования. При оценке динамики показателей для каждого варианта лечения у пациентов ОГ было установлено их статистически значимое снижение ($p < 0,001$).

В КГ костные дефекты челюстей с оголением корней зубов более 1/3 длины заполняли гранулами остеокондуктора и отграничивали коллагеновой мембраной (подгруппа КГ2). При этом показатели ПТМ в течение всего периода наблюдения были без существенной динамики, оставаясь в диапазоне от 20 до 29 баллов, что соответствует II степени подвижности: $25,9 \pm 7,6$ (+2,4 %) – $23,6 \pm 5,8$ (–8,9 %) – $22,4 \pm 5,8$ (–5,1 %) – $19,8 \pm 4,0$ (–11,6 %) соответственно срокам 2, 6, 12 и 24 месяца. Снижение показателей ПТМ в КГ статистически незначимо ($p = 0,499$).

При данной степени оголения корней (от 1/3 до 1/2) через 24 месяца после операции среднее значение показателя ПТМ в ОГ составило $3,6 \pm 0,6$ балла ($n = 72$), в КГ – $19,8 \pm 4,8$ балла ($n = 26$). Различия показателей исследуемых групп статистически значимы ($p < 0,001$). При сопоставлении с исходными значениями, изменения показателей в ОГ статистически значимы ($p < 0,001$), а в КГ – незначимы ($p = 0,508$).

5.2.1. Морфологическая характеристика полученных результатов

По данным гистологического анализа трепанбиопсий, полученных от пациентов ОГ в ближайшие сроки наблюдения (от 4 до 6 месяцев), дефект замещает преимущественно ретикулофиброзная костная ткань (рисунок 62).

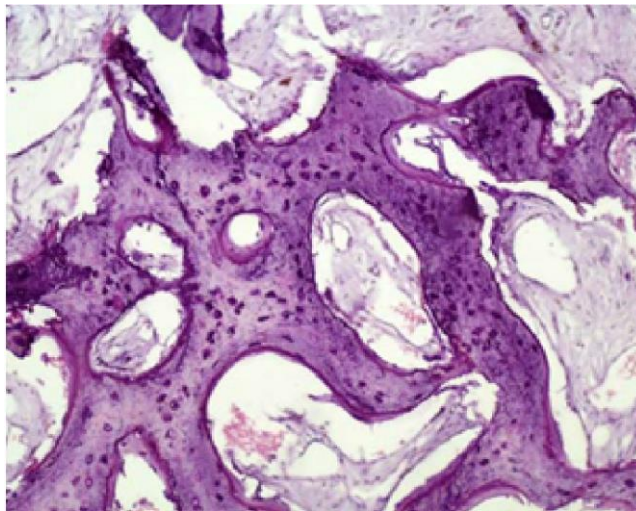


Рисунок 62 – Ретикулофиброзная костная ткань, формирующая регенерат в области постцистэктомического дефекта челюсти. ОГ, 4 мес. после операции.
Окраска гематоксилином и эозином. Ув. ×480

Активно формирующиеся первичные костные трабекулы определяются по всему объему биопсийного материала. Молодые костные балки со стороны межтрабекулярного пространства окружены слоем органического матрикса – остеоида, окрашенного в бледно-розовый цвет; толщина его отложения различна в разных участках регенерата. Под остеоидом идентифицируется множество остеобластов, окрашенных резко базофильно, которые располагаются в один слой – либо в плотном контакте друг с другом, либо хорошо различимыми на светооптическом уровне группами. Отложение недифференцированного матрикса остеобластами довольно активно продолжается в эти сроки, способствуя постепенному напластованию органической субстанции на поверхность первичных трабекул. Важно отметить, что количество первичных костных трабекул в поле зрения светового микроскопа было идентичным во всех образцах ОГ независимо от размера дефекта.

Примерно на трети площади биоптатов отмечено замещение первичных трабекул пластинчатыми структурами, что дает основание говорить о начале формирования зрелых форм костной ткани (рисунок 63).

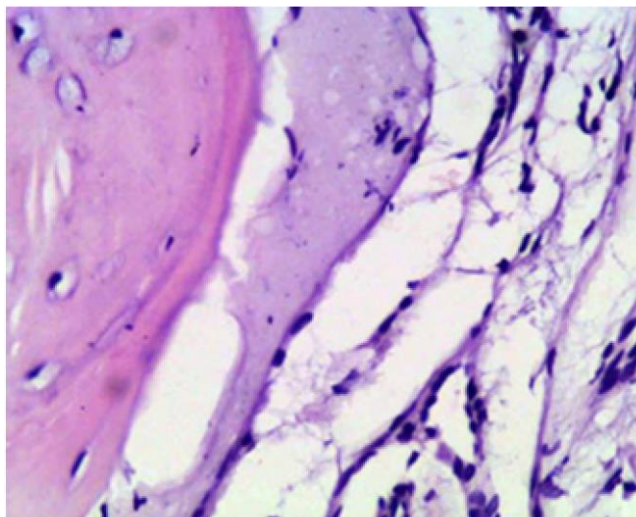


Рисунок 63 – Формирование пластинчатой кости с высокой клеточной плотностью в центральных отделах дефекта. ОГ, 6 мес. после операции. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 630$

В эти сроки в соединительной ткани межтрабекулярных пространств еще встречаются «зоны роста» – остеогенные островки, состоящие из обильно васкуляризованных скоплений фибробластоподобных клеток, которые дифференцируются в остеобласты, начинающие образовывать остеоид. По периферии дефектов можно наблюдать интимное соединение небольших участков зрелого костного матрикса с окружающими изъям структурами в виде напластования молодой ткани на родительскую кость (рисунок 64).

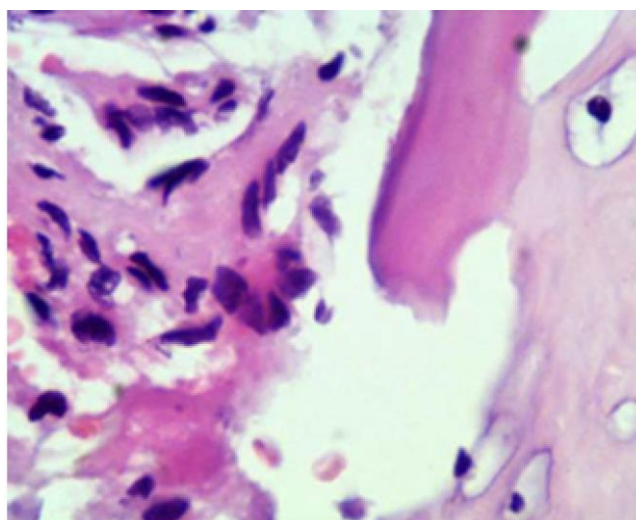


Рисунок 64 – Формирование кости в контакте с костным краем дефекта. ОГ, 6 мес. после операции. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 420$

Аутологичные костные фрагменты (при использовании в составе трансплантата) находятся в окружении клеточных скоплений, преимущественно моноцитов и макрофагов, многоядерных остеокластов, а также довольно часто встречающихся нейтрофильных гранулоцитов. В случаях больших дефектов, когда перед закрытием раны под лоскут укладывали коллагеновую мембрану, наблюдается прочная фиксация покровных мягких тканей на поверхности мембраны, фрагменты которой хорошо идентифицируются в препаратах в сроки до 6 месяцев. В участке хирургического доступа обнаруживается волокнистая соединительная ткань, тесно переплетающаяся с ретикулофиброзной структурой первичной спонгиозы с умеренной клеточной плотностью.

В отдаленные сроки наблюдения (12–24 мес.) в большинстве случаев ОГ ткань регенерата, судя по структуре трепанбиоптатов, полностью заполняет костный дефект вне зависимости от его исходных размеров. Замещающая структура представляет собой хорошо минерализованную пластинчатую костную ткань. Наблюдается остеонная организация кости как по краям, так и в центре замещенных костных изъянов, повсеместно наблюдаются гаверсовы каналы (морфологические маркеры вторичного ремоделирования). Определяется большое количество витальных остеоцитов с базофильно окрашенным ядром (рисунок 65).

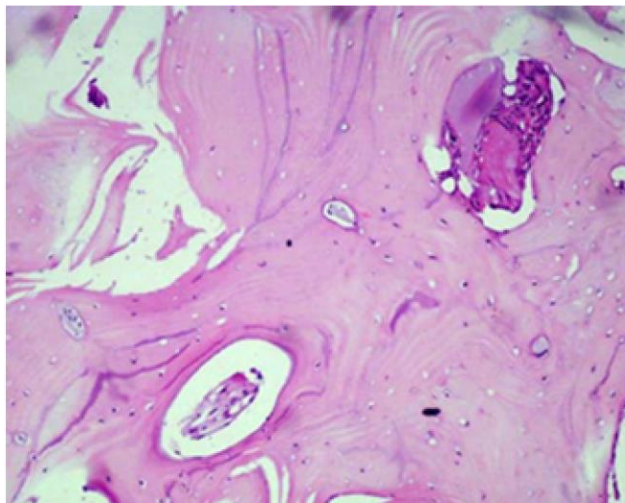


Рисунок 65 – Зрелая минерализованная кость остеонного строения. ОГ, 18 мес. после операции. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. ×280

Границы между регенерировавшей и предсуществующей костью определяются в виде напластований вновь сформированных интенсивно окрашенных структур на зрелую костную ткань, которая имеет более нежную окраску. В костномозговых пространствах выявляется типичный костный мозг. В нескольких препаратах в структуре костномозговой ткани мы наблюдали остеогенные островки – скопления клеток, расположенных вокруг участка оксифильной субстанции.

В КГ в ближайшие сроки наблюдения (от 4 до 6 мес.) дефекты минимального размера, заживавшие под кровяным сгустком, замещены молодой костной тканью с небольшим количеством лакун, множеством остеоцитов с сохранными ядрами.

Регенерат из костных дефектов более значительного размера представлен в основном рыхлой волокнистой соединительной тканью с высокой концентрацией клеток и умеренным количеством кровеносных сосудов. Клеточный компонент представлен мононуклеарами, среди которых чаще выявляются макрофаги, нейтрофилы и много клеток фибробластического ряда (рисунок 66).

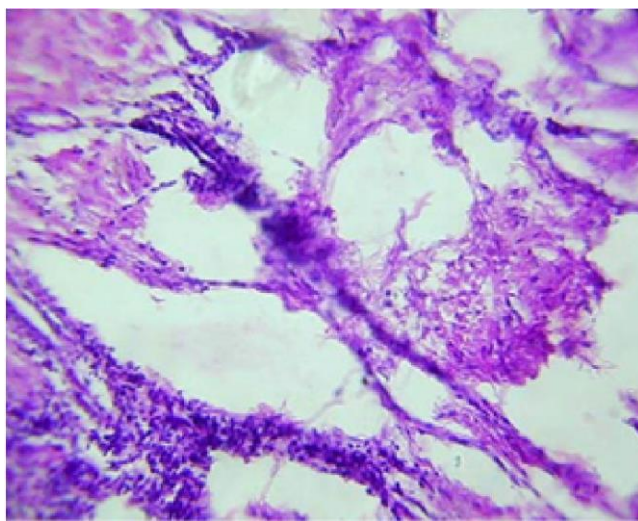


Рисунок 66 – Рыхлая волокнистая соединительная ткань центральной части регенерата. КГ, 4 мес. после операции. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 280$

В ряде биоптатов определяется формирование первичных костных балочек, состоящих из грубоволокнистой кости. Хорошо идентифицируются гранулы остеозамещающего материала, «замурованные» в волокнистую соединительную ткань, которая в большинстве случаев имеет морфологические признаки остеогенной активности (рисунок 67).

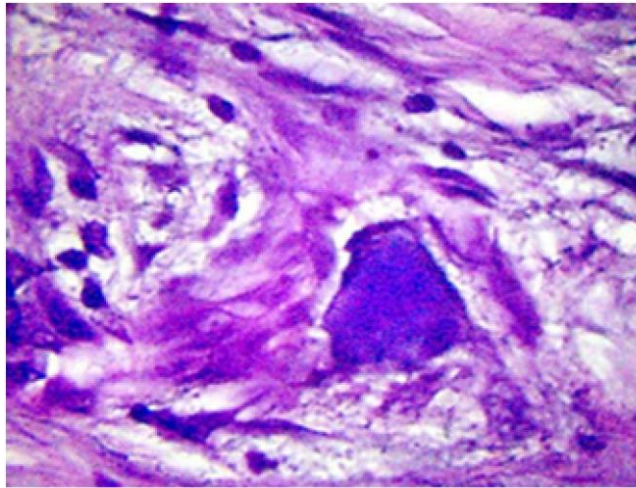


Рисунок 67 – Гранула остеопластического материала в окружении соединительной ткани, богатой фибробластоподобными клеточными элементами. КГ, 6 мес. после операции. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 280$

В контакте с остеопластическим материалом часто можно наблюдать сформированные остеидные трабекулы, реже – участки зрелых костных структур. Нерезорбированные гранулы остеокондуктора также могут быть окружены соединительной тканью с большим количеством клеточных форм – от мелких нейтрофилов до крупных бластных форм, мононуклеаров и многоядерных гигантских клеток. В ряде образцов КГ обнаруживались участки хондройдной ткани (рисунок 68).

В КГ в отдаленные сроки наблюдения (12–24 мес.) при удовлетворительном клиническом результате лечения регенерат из области дефектов малого размера представлен минерализованной костной тканью с остеонной организацией. При анализе образцов, полученных из области бывших костных изъянов среднего и большого размеров, закрытия дефектов созревшими костными структурами не отмечено ни в одном случае. Большой

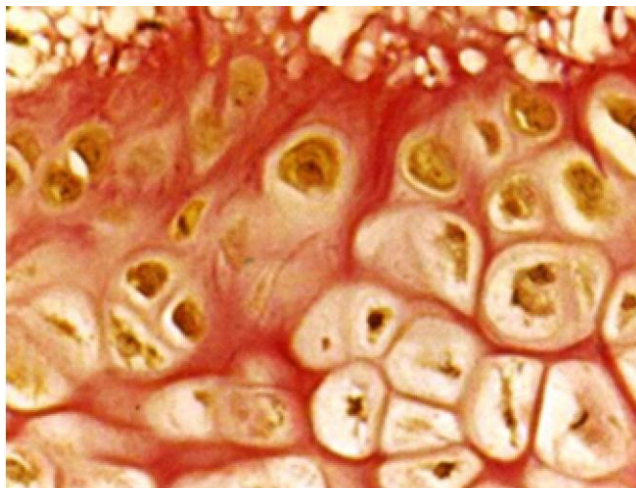


Рисунок 68 – Участок хондройдной ткани в регенерате больного 63 лет с гипертонической болезнью II ст. КГ, 6 мес. после операции.
Окраска по Ван Гизону. Ув. ×640

объем трапанбиоптатов представлен умеренно васкуляризованной клеточно-волокнуистой соединительной тканью, содержащей множество интегрированных в ткань частично конверсированных гранул остеопластического материала. Соединительная ткань вокруг гранул содержит большое количество мононуклеаров, среди которых много гистиоцитов и лимфоидных элементов. Нередко скопления этих клеток имеют характер хронического воспалительного инфильтрата. Вместе с тем, в некоторых участках регенерата, лежащих ближе к костным стенкам дефекта, выявлены признаки остеогенеза с формированием более зрелых структур. Трабекулы из грубоволокнуистой костной ткани имеют признаки перестройки в виде лакунарной резорбции хорошо различимыми остеокластами – гигантскими многоядерными клетками.

5.2.2. Обсуждение результатов исследования

Одонтогенные кистозные образования челюстей характеризуются медленным опухолеподобным экспансивным ростом с оппозицией и резорбцией окружающей кости, возможностью распространения на прилежащие анатомические структуры и подлежат хирургическому лечению.

Более 40 % хирургических вмешательств в амбулаторной стоматологической практике и около 8 % операций в стационарных отделениях челюстно-лицевой хирургии проводятся по поводу одонтогенных воспалительных кист (Бакиев Б.А., 1986; Иорданишвили А.К. с соавт., 2007; Сёмкин В.А., Зарецкая А.С., 2010).

Согласно современным взглядам на лечение кистозной болезни челюстей, костные дефекты, которые остаются после удаления содержимого и оболочки кисты, должны быть полностью замещены для сохранения зубов, профилактики деформаций альвеолярного гребня с возможностью изготовления в будущем функциональных зубных протезов, а также во избежание рецидивов и ухудшения качества жизни. Остеопластику постцистэктомических костных дефектов выполняют с помощью остеозамещающих материалов (Агапов В.С. с соавт., 1996; Безруков В.М. с соавт., 1998; Григорьянц Л.А. с соавт., 1998; Аснина С.А. с соавт., 2004; Кузьминых И.А., 2009), костных аутотрансплантатов (Barry C.P., Kearns G.J., 2003; Kiyokawa K. et al., 2004; Mayaleh H.A., Louis M.Y., 2009), аллотрансплантатов (Дурново Е.А., Рунова Н.Б., 2007; Vodner L., 1996; Albanese M. et al., 2012), ксенотрансплантатов (Di Stefano D.A. et al., 2012), направленной костной регенерации (Перова М.Д., 1999; Бочарова И.Г., 2008; Santamaría J. et al., 1998; Nart J. et al., 2007) и спонтанного заживления под кровяным сгустком (Лошкарев В.П., Баученкова Е.В., 2000; Chacko R. et al., 2015; Wagdargi S.S. et al., 2016). Каждый из этих способов имеет свои ограничения и недостатки, связанные как со спецификой костнопластического материала, так и с природой заболевания. Причинами ограниченных возможностей остеорепарации больших дефектов челюстей являются длительно текущий процесс воспалительной резорбции с зоной значительного тканевого повреждения, развитием локального дефицита клеточных форм, способных дифференцироваться в остеобласты, а также дистрофическими изменениями в костной ткани, прилежащей к кисте. Кроме

того, стенки костного дефекта и вовлеченные в кистозный процесс корни зубов после удаления одонтогенных воспалительных кист могут быть контаминированы патогенной микрофлорой (Cohen M.A., 1979).

«Биологическое» направление развития хирургических способов восстановления челюстных костей, предусматривающее использование стволовых/стромальных клеток, полученных из разных тканевых источников, в настоящее время актуально. Несмотря на хорошие результаты клеточной трансплантации и тканевой инженерии при экспериментальной регенерации костной ткани челюстей, представленные в многочисленных исследованиях на животных (Фионова Э.В. с соавт., 2008; Фролова Е.Н. с соавт., 2008; Вольперт У.В. с соавт., 2009; Мальгинов Н.Н. с соавт., 2009; Li Z., Li Z.B., 2005; Mankani M.H. et al., 2006), подобных клинических работ, именно при кистах, очень мало (Волков А.В., 2006; Pradel W. et al., 2006; Mirkovic S. et al., 2015). Одна из причин, на наш взгляд, кроется в разумном консерватизме клиницистов при оценке баланса «риск–выгода», учитывающего текущее несовершенство культивирования клеток, необходимого при реализации предлагаемых сегодня тканеинженерных подходов.

Мы впервые предлагаем не связанную с культивированием стандартизованную, минимально инвазивную процедуру получения клеточного материала для регенеративных целей. В настоящей диссертации представлены экспериментальные данные, а также качественные и количественные характеристики СВФ-ЖТ, подтверждающие возможность прямого использования фракции для стимуляции остеогенеза. Полученные нами клинические результаты демонстрируют безопасность и эффективность такого подхода в лечении кистозных образований челюстей.

У пациентов ОГ, лечение которых включало ауто трансплантацию СВФ-ЖТ, послеоперационный период отличался меньшей выраженностью и ускоренным регрессом болевого синдрома, температурной реакции, перифокальной отечности мягких тканей. Из 17 случаев воспалительных

осложнений только 1 случай пришелся на ОГ (частота осложнений 1,7 % и 23,9 % в ОГ и КГ соответственно). Для купирования осложнений в КГ проводили поверхностную хирургическую обработку ран, в 4 случаях потребовалась реоперация. Это затягивало курс лечения, требовало многочисленных повторных посещений, увеличивало длительность временной нетрудоспособности.

Осложнения в послеоперационном периоде обычно были связаны с инфицированием наполнителя (сгустка крови или остеопластического материала) в постцистэктомической костной полости. Применение СВФ-ЖТ снижает такой риск путем лучшей окклюзии раны, создания функционального матрикса для миграции и взаимодействия иммунокомпетентных клеток. Относительно новой является информация о возможности прямого антибактериального действия ММСК (Mezey E., Nemeth K., 2015). В экспериментах на мелких грызунах показано, что интратрахеальное введение человеческих МСК подавляет воспалительную реакцию, увеличивает выживаемость и микробное очищение инфицированных кишечной палочкой легких. Антибактериальный эффект связывают с секретируемыми МСК паракринными факторами – бета-дефензином и липокайном (Gupta N. et al., 2012; Sung D.K. et al., 2016). В работе А. Krasnodembskaya с соавт. (2010) изучен эффект ММСК-КМ на рост грамотрицательных (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) и грамположительных (*Staphylococcus aureus*) бактерий. ММСК-КМ и среда, в которой они культивировались, значительно ингибируют рост бактерий по сравнению с эффектом фибробластов легких человека или контрольной «пустой» среды. Анализ экспрессии антимикробных пептидов показал, что одним из факторов, ответственных за антимикробную активность ММСК-КМ в отношении грамотрицательных бактерий, является пептид кафелисидин (Krasnodembskaya A. et al., 2010).

В ОГ через 6 месяцев с момента операции положительный клинический результат, подразумевающий отсутствие осложнений и рецидивов, сохранение

причинных зубов, установлен в 56 из 58 случаев (97 %). Важно отметить, что клиническое выздоровление регистрировалось у пациентов ОГ независимо от размеров кисты и остающегося после ее удаления костного изъяна, и высокий показатель эффективности стабилен на протяжении всего периода наблюдения. Это свидетельствует о способности трансплантата на основе СВФ-ЖТ генерировать полноценную по объему и качеству костную ткань, а также об отсутствии резорбции вновь сформированных структур в отдаленные сроки наблюдения. Полноценно восстановленный опорный аппарат причинных зубов способствует оптимальному протеканию вторичного ремоделирования костного матрикса, т.е. функциональной адаптации, путем передачи систематической жевательной нагрузки на сформированные структуры. Поэтому сохранение причинных зубов за счет оптимизации процессов послеоперационного заживления в условиях аутотрансплантации СВФ-ЖТ является важной составляющей успеха полноценного остеозамещения больших изъянов челюстных костей.

В КГ через 6 месяцев положительный результат лечения зарегистрирован в 48 из 67 исходно взятых под наблюдение костных дефектов, т.е. в 72 % случаев; по мере увеличения срока с момента операции доля положительных исходов уменьшается до 61 % и 48 % через 12 и 24 мес. соответственно. Рост числа неудач в КГ связан с рецидивами воспалительно-деструктивного процесса, что свидетельствует о замещении костных изъянов челюстей отличными от нормы структурами, которые не адаптируются к функциональной нагрузке (нет проявлений вторичного ремоделирования), легко подвергаются инфицированию.

Результаты рентгенологических методов исследования имеют существенные различия в исследуемых группах, свидетельствуя в пользу лечения с аутотрансплантацией СВФ-ЖТ.

В ОГ на прицельных снимках уже через 2 месяца отмечается равномерное заполнение больших дефектов челюстей рентгенологически

плотными структурами без просветления в центральной зоне, как это часто наблюдается в КГ. В отдаленные сроки наблюдения в большинстве случаев границы исходных дефектов не определяются, визуализируется равномерная трабекулярная структура регенерировавшей кости.

Компьютерная томография подтверждает восстановление нормальной анатомии челюстей без остаточных деформаций альвеолярной дуги, со сформированными кортексом и губчатой костью межкортикальной зоны. Появление на КТ периодонтально-связочного пространства вокруг сохраненных корней служит подтверждением восстановления полноценного опорного аппарата зуба. Рентгенологическая плотность регенерата (в среднем по группе 767 ± 184 HU), независимо от исходного размера восстанавливаемого дефекта, соответствует плотности минерализованной костной ткани (Писаревский И.Ю. с соавт., 2012). Следует отметить значимый факт отсутствия признаков резорбции вновь сформированных структур в отдаленные сроки после лечения со СВФ-ЖТ. Эта проблема при использовании «золотого стандарта» – аутокостного материала, как указывают многие авторы, часто сводит к минимуму конечный эффект костнопластической операции (Акбай Е., Aydogan F., 2014; Mertens C. et al., 2014).

В контрольной группе, судя по рентгенологическим признакам, полное восстановление кости отмечается только в небольших дефектах альвеолярного гребня. Дефекты размером более 10 мм плохо поддаются остеорепарации, формирование рентгенологически соответствующих кости структур наблюдается только по периферии, при этом исходные границы дефекта часто остаются определяемыми. Центральная зона дефекта сохраняет рентгенопрозрачность или имеет пестрый вид из-за гранул остеокондуктора, отсутствует трабекулярный рисунок кости и не формируются типичные замыкательные пластинки челюстей. Результаты денситометрии на компьютерных томограммах позволяют сделать вывод о наличии остаточной полости или формировании плотных, но не костных структур в центральных участках регенерата.

Результаты периотестометрии на количественном уровне подтверждают клинические и рентгенологические данные о лучшем восстановлении челюстной кости после хирургического лечения, включающего аутотрансплантацию СВФ-ЖТ. В основной группе, независимо от степени оголения корней и особенностей лечебной тактики, динамика показателей ПТМ свидетельствует о ранней стабилизации подвижных зубов с полным восстановлением опорной функции через год с момента операции. В результате традиционного лечения в КГ патологическая подвижность вовлеченных в кисту зубов уменьшается незначительно: со II до I степени (в случаях оголения корней до 1/3 длины) или остается в пределах II степени (в случаях оголения корней от 1/3 до 1/2 длины).

В настоящее время механический фактор рассматривается как четвертый существенный компонент для тканевой инженерии кости, наряду с клетками, носителем и факторами роста (Huang C., Ogawa R., 2012). В ряде работ изучено влияние контролируемых механических стимулов на остеогенную дифференцировку МСК (Kelly D.J. et al., 2010; Pelaez D. et al., 2012; Wang Y.K., Chen C.S., 2013; Hao J. et al., 2015; Wang J. et al., 2016). Механотрансдукцию – процесс конвертации механических стимулов в биохимический остеогенный сигнал – обеспечивают специфические клеточные структуры: интегрины, ионные каналы, цитоскелет, фокальные адгезивные контакты и первичные реснички (Steward A.J., Kelly D.J., 2015; Chen J.C. et al., 2016). В экспериментах установлено, что даже кратковременное (24 часа) циклическое дозированное механическое воздействие на загруженные в трехмерные фибриновые конструкции МСК значительно увеличивает экспрессию связанных с остеогенезом протеинов: остеопонтина, интегрин β -1 (Matziolis D. et al., 2011). В нашей клинической ситуации создаются схожие условия. Выстоящий в полость кисты корень зуба оказывается со всех сторон окружен костнопластическим материалом, содержащим СВФ-ЖТ. Под влиянием механических стимулов,

передающихся во время жевания через корень зуба в костную полость, заполненную готовым к быстрому гистогенетическому ответу клеточно-тканевым аутоотрансплантатом, наступает активное костеобразование, сначала в перирадикулярной зоне, а затем, по мере передачи импульсов новообразованной плотной тканью, в глубине дефекта. Учитывая научные данные о важности механического фактора для регенерации кости, о противовоспалительных и антибактериальных свойствах СВФ-ЖТ, а также рассматривая результаты настоящего исследования, считаем возможным при реализации нашего подхода пересмотр мер профилактики рецидивов воспалительно-деструктивного процесса после цистэктомии в сторону более частого сохранения зубов, щадящей резекции верхушек корней с акцентом на эндодонтическое лечение.

Как показали результаты ПТМ, эффективнее всего восстановление костной опоры зуба идет при дополнительном использовании барьерной мембраны, хотя это случаи с наибольшими размерами костного дефекта и значительным оголением корней. Это неожиданно и требует объяснения. По нашему мнению, эффект может быть связан с тем, что мембрана позволяет создать замкнутую полость с ригидными стенками (в отличие от закрытия входа в костную полость простым укрытием местными мягкими тканями). Это повышает гидростатическое давление в очаге регенерации, что также способствует остеогенной дифференцировке ММСК по данным экспериментов (Park S.H. et al., 2012; Ye Y. et al., 2012; Steward A.J. et al., 2013; Zhao Y.H. et al., 2015). В работе С. Huang с соавт. (2012) ММСК-КМ на скаффолдах из гидроксиапатита инкубировались в остеогенной среде под циклическим гидростатическим давлением. Такие же засеянные клетками скаффолды, инкубируемые в таких же условиях, но при атмосферном давлении, служили контролем. При гистологическом исследовании через 3 недели установлено, что на скаффолдах, культивированных при гидростатическом давлении, клетки распределены равномерно по всему

объему; в контроле клетки обнаруживаются только на поверхности носителя. Иммуногистохимический анализ показал более высокую экспрессию остеокальцина, остеопонтинина, остеоонектина, коллагена первого типа, а также более высокий уровень экспрессии генов *ON*, *Col1*, щелочной фосфатазы и интегрин- $\beta 5$ в материале, полученном под давлением, чем в контроле. Авторы работы сделали вывод, что гидростатическое давление увеличивает выживаемость клеток, улучшает остеогенную дифференцировку и формирование кости; механотрансдуктивный протеин интегрин- $\beta 5$ увеличивает миграцию, способствует дифференцировке МСК и ингибирует созревание остеокластов в ходе индуцированного гидростатическим давлением остеогенеза *in vitro* (Huang C., Ogawa R., 2012).

Известно, что условия ограниченного пространства (*spatial boundary condition*), являясь производным микроокружающей среды, навязывают определенную геометрию и пространственные ограничения, которые затрагивают органогенез и тканевой гомеостаз (Gurkan U.A., Akkus O., 2008). В работе Y.P. Lo с соавт. (2016) установлено, что ММСК посредством механосенситивных молекул $\alpha 2$ - и $\alpha 5$ -интегрин восприимчивы к сигналам, генерированным условиями ограниченного пространства, и отвечают увеличением остеогенной дифференцировки (Lo Y.P. et al., 2016). Можно предположить, что такой путь управления судьбой клеток реализуется как на уровне отдельной поры или ячейки остеокондуктора, так и внутри замкнутой постцистэктомической костной полости, заполненной содержащим СВФ-ЖТ костноплатическим материалом.

Нами впервые проведено сравнительное гистоморфологическое изучение тканевого регенерата, образующегося в постцистэктомических костных дефектах челюстей после клеточно-потенцированной и стандартной остеопластики. Малое количество клинических данных по изучаемому вопросу в научной литературе делают данный раздел диссертационного исследования, на наш взгляд, особенно ценным.

Результаты гистологического исследования носят описательный характер, тем не менее мы сочли возможным проведение определенных сравнительных оценок эффективности остеогенеза в группах наблюдения по следующим критериям: 1) состав регенерата; 2) топика распространения регенерата в пределах костного дефекта.

В дефектах малого размера (до 10 мм) заживление проходило идентично в группах сравнения и завершилось формированием полноценной кости.

Заживление костных дефектов среднего и большого размеров находилось в зависимости от проводившегося лечения.

После трансплантации в костный дефект СВФ-ЖТ в ближайшие сроки регенерат представлен ретикулофиброзной костной тканью, равномерно заполняющей дефект, независимо от его размера; в дальнейшем наблюдается «созревание» регенерата до пластинчатой кости остеонного строения. Сопровождающими процесс остеогенеза клеточными формами являются фибробластоподобные клетки, остеобласты, остециты, остеокласты, умеренное количество мононуклеаров и гранулоцитов.

Заживление больших костных дефектов в отсутствие дополнительного источника регенеративных клеток и стимулов в виде СВФ-ЖТ протекает неполноценно. В ближайшие сроки в гистологических образцах определяется полиморфный регенерат из рыхлой волокнистой соединительной ткани с участками грубоволокнистой кости и хондройдной ткани. В отдаленные сроки регенерат размежевывается: в прикраевой зоне костной полости выявляется зрелая кость, в то время как в центре – умеренно васкуляризованная волокнистая соединительная ткань. Клеточное сопровождение остеогистогенеза в КГ отличается от такового в ОГ бóльшим наличием лимфомакрофагальных элементов, часто в виде инфильтратов.

Таким образом, состав и топика регенерата в ОГ свидетельствуют о полноценном по качеству и количеству органотипическом замещении

дефекта. В КГ остеогистогенез характеризуется незавершенностью и топической избирательностью.

Lerriche и Pollicard (1928) были первыми, кто подчеркнул важность реваскуляризации костного трансплантата. Они предположили, что трансплантат может быть источником остеогенеза только в том случае, если он находится в контакте с костной тканью реципиентного ложа (Кеннет Е.С., 1985). В ходе экспериментов было доказано, что клетки свободного костного трансплантата, удаленные от гемомикроциркуляторного русла более чем на 200–500 мкм, неизбежно погибают, а матрикс замещается волокнистой соединительной тканью (Folkman J., Hochberg M., 1973; Polykandriotis E. et al., 2007).

Известно, что при замещении длительно существующих дефектов с измененной трофикой костных стенок биорезорбируемые материалы значительно медленнее подвергаются органотипической перестройке, что требует формирования условий для улучшения кровоснабжения области дефекта (Конев В.А., 2014). Возможно, одной из причин неполноценного остеозамещения дефектов значительного размера в КГ является дефицит кровоснабжения центральных участков графта в условиях отдаленности от микроциркуляторного русла стенок дефекта и недостаточной центростремительной скорости неоваскуляризации. При тех же условиях, но в присутствии СВФ-ЖТ, исходы остеорепарации, судя по гистоморфологии регенератов из групп наблюдения, кардинально изменяются. Причиной тому, на наш взгляд, является реализация *in situ* целого ряда положительных свойств СВФ-ЖТ, описанных в литературе для ее клеточных компонентов и подтвержденных результатами собственных экспериментальных и цитологических исследований именно для фракции, выделенной по собственному протоколу: 1) способность стимулировать васкулогенез, ангиогенез и неоваскуляризацию (Глотов В.А., 2010; Любарский М.С. с соавт., 2010; Miranville A. et al., 2004; Planat-Benard V. et al., 2004; Rehman J.

et al., 2004; Scherberich A. et al., 2010; Krawiec J.T. et al., 2017); 2) способность обеспечивать механическую стабильность в ране за счет связующих свойств волокнистого компонента, а также формировать функциональный, доступный для клеточных взаимодействий матрикс (Бобро Л.И., 1990; Деев Р.В., 2006; Reddi A.H., 1975); 3) способность к дифференцировке и продуктивному участию в построении органотипического регенерата (Деев Р.В. с соавт., 2010; Мамонов В.Е. с соавт., 2010; Ogawa R. et al., 2004).

5.3. Клинико-рентгенологическая оценка восстановления объема костной ткани при атрофии альвеолярного гребня челюстей

Проведена оценка эффективности 229 операций аугментации/реконструкции альвеолярного гребня челюстей перед дентальной имплантацией у 141 пациента с частичным отсутствием зубов, сопровождающимся выраженным дефицитом опорной кости.

В основной группе исследования (ОГ, 68 пациентов, 112 операций) для остеопластики использовали содержащий СВФ-ЖТ костнопластический материал, в контрольной группе (КГ, 73 пациента, 117 операций) использовали такой же материал, но без клеточного компонента. Наблюдение продолжалось до завершения всех этапов зубопротезирования, включая оценку параметров реконструированного альвеолярного гребня и состояния дентальных имплантатов в сроки более 5 лет.

Ранний послеоперационный период в большинстве случаев протекал без осложнений, сопровождаясь легким общим дискомфортом и умеренными локальными болевыми ощущениями.

У пациентов ОГ отмечен ряд особенностей течения раннего послеоперационного периода, не характерных для группы контроля: редкие жалобы на болевые ощущения, минимальная выраженность отечности и гиперемии покровных тканей, отсутствие реакции регионарных лимфоузлов, сокращение сроков эпителизации операционной раны.

Отличительной особенностью локального статуса после трансплантации содержащих СВФ-ЖТ костнопластических материалов было значительное нарастание объема тканей ко 2–3-м суткам после операции. Эта плотная и безболезненная структура сохранялась от нескольких недель до полутора месяцев, постепенно уплотняясь и формируя альвеолярный реконструкт окончательной конфигурации.

В 2 случаях произошло повреждение мембраны Шнайдера во время операции синуслифтинга: у одной пациентки ОГ перфорация выстилки была герметизирована резорбируемым коллагеном, и заживление прошло без отрицательных последствий; у другого пациента КГ, несмотря на выполненную таким же способом герметизацию, развился острый верхнечелюстной синусит, после излечения которого пациент отказался от дальнейшего участия в исследовании.

Через 6–8 месяцев после операции синуслифтинга в 2 случаях КГ (из 52) выявлена фиброзная инкапсуляция остеопластического материала, что потребовало хирургической ревизии зоны вмешательства и повторной костной пластики.

В основной группе в 9 случаях реконструкции альвеолярного гребня (из 57) из-за критического дефицита покровных тканей наблюдалось расхождение швов и заживление вторичным натяжением. При адекватном антисептическом протоколе в 8 случаях (из 9) отмечено быстрое формирование грануляционной ткани одновременно по всей поверхности реконструкта, а не только с краев раны, с последующей эпителизацией в течение 3–5 суток. В 1 случае произошел лизис барьерной мембраны с абсцедированием и утратой каркасной части трансплантата, что повлияло на окончательный вертикальный размер костного прироста.

В контрольной группе в 18 случаях реконструкции альвеолярного гребня (из 65) наблюдалась ранняя несостоятельность швов, приведшая в 14 случаях к инфицированию раны с частичной или полной утратой трансплантата. Реоперация была проведена в 9 случаях.

Общая частота осложнений, развившихся в разные сроки после остеопластики и приведших в итоге к полной или частичной утрате трансплантата, составила 0,9 % в ОГ и 13,7 % в КГ (различия статистически значимы, $p < 0,001$ по точному критерию Фишера).

Количество случаев и виды осложнений в группах исследования сопоставлены в таблицах 24 и 25.

Таблица 24 – Частота осложнений синусифтинга в группах сравнения

Осложнения	Основная группа, n = 55		Контрольная группа, n = 52		p
	абс.	%	абс.	%	
Острый верхнечелюстной синусит	0	0	1	1,9	0,486
Инкапсуляция остеопластического материала	0	0	2	3,8	0,234
Итого	0	0	3	5,7	0,111

Таблица 25 – Частота осложнений реконструкции альвеолярного гребня челюстей в группах сравнения

Осложнения	Основная группа, n = 57		Контрольная группа, n = 65		p
	абс.	%	абс.	%	
Ранняя несостоятельность швов с вторичным заживлением	8	14,0	4	6,2	0,231
Ранняя несостоятельность швов с инфицированием и утратой трансплантата	1	1,8	14	21,5	< 0,001*
Итого	9	15,8	18	27,7	0,131

Примечание: * – различия показателей статистически значимы.

Анализ частоты осложнений синусифтинга в исследуемых группах не выявил статистически значимых различий ($p > 0,05$).

После реконструкции челюстного альвеолярного гребня ранняя несостоятельность швов, обусловленная избыточным натяжением покровных мягких тканей, особенно при тонком десневом фенотипе, наблюдалась

в 15,8 % случаев ОГ и в 27,7 % случаев КГ (различия статистически незначимы, $p = 0,131$ по критерию хи-квадрат). В ОГ расхождение швов не имело фатальных последствий для трансплантата – рана заживала вторичным натяжением в 89 % случаев; в то время как в КГ такой благоприятный исход был только в 22 % случаев, а в остальных случаях наблюдалось инфицирование раны с абсцедированием и утратой части или всего трансплантата.

Статистический анализ с использованием показателя относительного риска (ОР) свидетельствует о большей безопасности остеопластики с применением костнопластических материалов, содержащих СВФ-ЖТ. В начале лечения риск развития несостоятельности швов сопоставим в группах исследования, отсутствует статистически значимое влияние фактора (включение СВФ-ЖТ в состав трансплантата) на частоту исхода (несостоятельность швов) (ОР 0,560; 95 % ДИ 0,273–1,148; $p > 0,05$). После того как случилось расхождение швов с обнажением костнопластического материала, вероятность дальнейшего инфицирования и потери трансплантата в 7 раз ниже в ОГ по сравнению с КГ (ОР 0,143; 95 % ДИ 0,022–0,922; $p < 0,05$).

Результаты измерений высоты и ширины альвеолярного гребня до операции и через 6–8 месяцев после нее (перед дентальной имплантацией) в группах исследования представлены в таблице 26.

Как следует из таблицы, после операции в обеих группах достигнута аугментация альвеолярного гребня со статистически значимым приростом костной ткани по высоте и ширине ($p < 0,001$ по парному t-критерию Стьюдента). Прирост высоты опорных тканей был более значительным после применения костнопластических материалов, содержащих СВФ-ЖТ: $4,30 \pm 0,12$ мм и $2,10 \pm 0,14$ мм в ОГ и КГ соответственно. Ширина альвеолярного гребня увеличилась в среднем на $5,08 \pm 0,08$ мм в ОГ и на $4,07 \pm 0,03$ мм в КГ ($p < 0,001$ по парному t-критерию Стьюдента). Рентгенологические и визуальные различия костной ткани, восстановленной разными способами, проиллюстрированы случаем билатеральной реконструкции альвеолярного отростка верхней челюсти (рисунок 69).

Таблица 26 – Размеры альвеолярного гребня (в мм) до и после реконструкции

Показатель	Контрольный срок	Основная группа		Контрольная группа		p
		М ± m	n	М ± m	n	
Высота	До операции	5,04 ± 0,16	112	5,49 ± 0,17	117	0,055
	6–8 месяцев	9,37 ± 0,15	112	7,79 ± 0,14	116	< 0,001*
	p ₁	< 0,001*		< 0,001*		
Ширина	До операции	3,13 ± 0,06	112	3,46 ± 0,01	117	< 0,001*
	6–8 месяцев	8,21 ± 0,16	112	7,63 ± 0,05	116	< 0,001*
	p ₁	< 0,001*		< 0,001*		

Примечания: p – уровень значимости различий показателей между группами; p₁ – уровень значимости различий показателей группы в разные контрольные сроки; * – различия показателей статистически значимы.

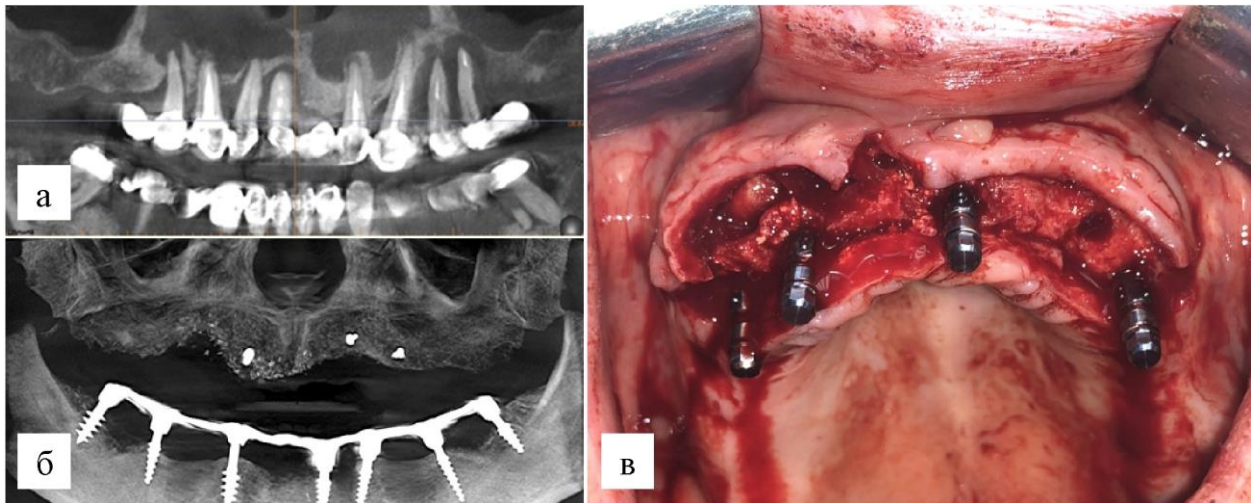


Рисунок 69 – Состояние альвеолярного гребня верхней челюсти пациентки Б. 52 лет до и после билатеральной реконструкции с использованием обычных (1-й сегмент) и содержащих СВФ-ЖТ (2-й сегмент) костнопластических материалов.

- а) КТ до лечения – генерализованный пародонтит, множественные кисты и кистогранулемы верхней челюсти, субтотальная атрофия альвеолярного гребня;
- б) КТ перед дентальной имплантацией – в 1-м сегменте не произошло формирования ожидаемого объема опорных тканей, определяется неоднородность структуры регенерата; во 2-м сегменте отмечается двукратное и равномерное увеличение альвеолярного гребня за счет формирования однородной трабекулярной структуры;
- в) Установка ДИ, интраоперационное фото – в 1-м сегменте рыхлая кость с большим количеством неинтегрированных гранул остеокондуктора; во 2-м сегменте плотная однородная хорошо кровоснабжаемая кость

Через 2–3 месяца после установки внутрикостной части проводилась первичная оценка стабильности имплантата. В ОГ случаев неприживления искусственных опор не наблюдали. В КГ не наступила остеоинтеграция 5 дентальных имплантатов у 3 пациентов, включая 2 имплантата на верхней челюсти и 3 на нижней челюсти; 3 из 5 нестабильных имплантатов были установлены субкрестально, 2 – в уровень десны. Этим пациентам была проведена реимплантация. По критерию хи-квадрат зависимость частоты случаев первичной неинтеграции внутрикостного имплантата от способа остеопластики статистически значима ($p = 0,032$).

В эти же сроки при установке на остеоинтегрированные имплантаты формирователей десны оценивали состояние покровных мягких тканей реконструированного альвеолярного гребня. Установлено, что СВФ-ЖТ в составе трансплантата способствует образованию более качественного околоимплантатного мягкотканевого профиля с прикрепленной кератинизированной десной 2 мм и более. В связи с отсутствием подобного эффекта в КГ на этапе установки формирователей десны часто выполняли дополнительное хирургическое вмешательство – апикальную репозицию лоскутов для формирования необходимой ширины прикрепленной десны вокруг искусственных опор.

Уровень периимплантатной маргинальной костной потери (ПМКП) в процессе функционирования завершенных ортопедических конструкций в группах исследования в зависимости от способа установки имплантата сопоставлен в таблице 27.

Как следует из таблицы, при любом уровне установки имплантатов во все контрольные сроки потеря костной ткани значимо меньше в ОГ по сравнению с КГ ($p < 0,001$ по t-критерию Стьюдента). О более высокой способности реконструированной клеточно-потенцированным способом кости нести нагрузку свидетельствуют незначительные изменения показателя ПМКП в ОГ в течение второго полугодия функционирования ортопедических конструкций:

Таблица 27 – Периимплантатная маргинальная костная потеря (в мм) в течение первого года после зубопротезирования

Уровень установки имплантатов	Контрольный срок после зубопротезирования	Костная потеря, мм				p
		Основная группа		Контрольная группа		
		M ± m	n	M ± m	n	
Субкрестально	6 мес.	1,13 ± 0,04	109	1,64 ± 0,03	149	< 0,001*
	12 мес.	1,47 ± 0,08	109	2,88 ± 0,09	149	< 0,001*
p ₁		< 0,001*		< 0,001*		
В уровень десны	6 мес.	0,27 ± 0,01	188	0,98 ± 0,08	169	< 0,001*
	12 мес.	0,33 ± 0,03	188	1,69 ± 0,08	169	< 0,001*
p ₁		0,059		< 0,001*		

Примечания: p – уровень значимости различий показателей между группами; p₁ – уровень значимость различий показателей группы в разные контрольные сроки; * – различия показателей статистически значимы.

при субкрестальной установке показатель увеличился на 30,1 %, при установке в уровень десны – на 22,2 % относительно цифр, зарегистрированных в контрольный срок 6 месяцев. В контрольной группе восстановленная костная ткань оказалась не столь устойчивой к нагрузке, и показатели ПМКП за тот же период (с 6 по 12 месяц) при аналогичных способах установки имплантатов возросли на 75,6 % и 72,5 % соответственно.

В сроки наблюдения до 5 лет из 149 первично остеоинтегрированных дентальных имплантатов, установленных субкрестально в КГ, поздний периимплантит развился в области 14 с потерей 7 искусственных опор, где разрушение опорной кости составило более 50 %. В основной группе в эти сроки дезинтеграция была выявлена в области 3 из 109 имплантатов, установленных субкрестально, с потерей 1 искусственной опоры как безнадежной. При использовании дентальных имплантатов, установленных в уровень десны, наблюдали невоспалительный процесс дезинтеграции без утраты опор 2 из 188 имплантатов ОГ, тогда как в контроле в области 7 из 169 имплантатов выявлен поздний периимплантит с резорбцией 50 % костного прикрепления и утратой 4 искусственных опор.

Таким образом, пятилетняя «выживаемость» денальных имплантатов в ОГ составила 99,7 %, в КГ – 96,5 % ($p = 0,006$ по точному критерию Фишера).

Пример отдаленного результата реконструкции атрофированной альвеолярной части нижней челюсти и последующей денальной имплантации у пациента ОГ представлен на рисунке 70.

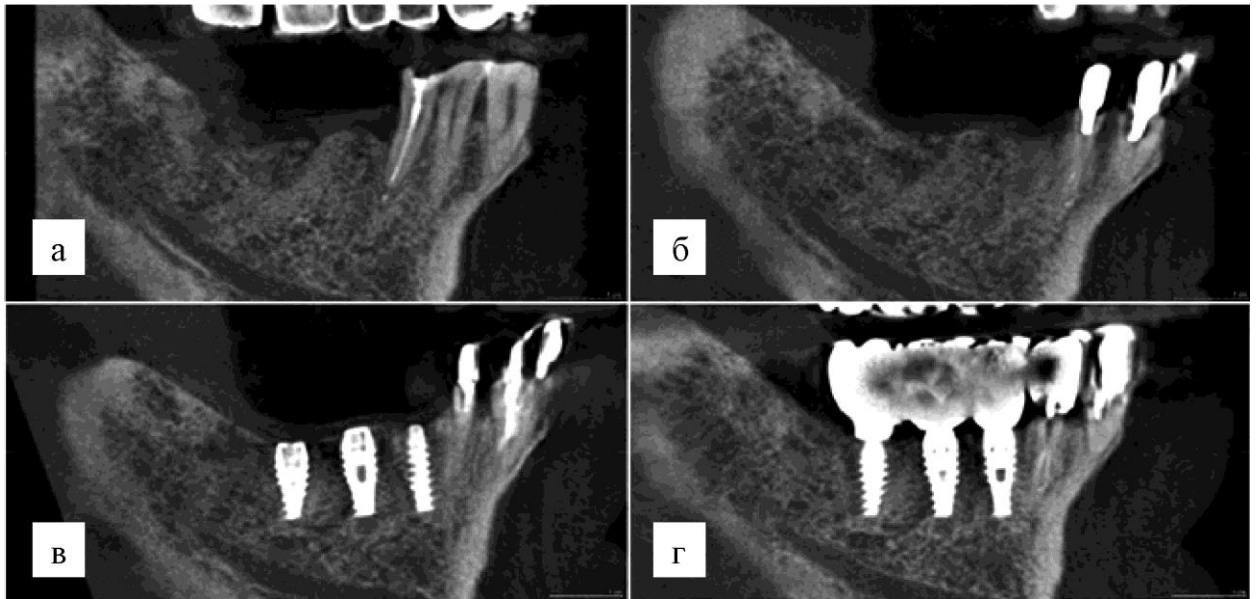


Рисунок 70 – Отдаленный клинический результат замещения концевое дефекта альвеолярного гребня и восстановления зубного ряда 4-го челюстного сегмента у пациента М. 61 года из основной группы исследования. Компьютерные томограммы: а) до лечения – неравномерная атрофия альвеолярного гребня, отсутствие 45, 46 и 47 зубов; б) через 6 месяцев после реконструкции с применением СВФ-ЖТ-содержащих костнопластических материалов – получен достаточный объем костной ткани для размещения денальных имплантатов; в) через 3 месяца после установки денальных имплантатов – структура и плотность околоимплантатной костной ткани свидетельствуют об успешной остеоинтеграции; г) через 24 месяца функционирования зубопротезных конструкций – отсутствует околоимплантатная маргинальная костная потеря, нет снижения высоты реконструированного альвеолярного гребня, высокая степень костно-имплантатного контакта

Статистический анализ с помощью критерия хи-квадрат подтверждает наличие связи между способом аугментационной остеопластики атрофированного участка альвеолярного гребня и отдаленным исходом зубопротезирования на внутрикостных имплантатах при $p < 0,006$. Расчет

показателя относительного риска свидетельствует: в сроки до 5 лет риск потери дентального имплантата из-за резорбции опорной кости в 11 раз меньше после аугментационной остеопластики с применением СВФ-ЖТ-содержащих костнопластических материалов по сравнению с остеопластикой ординарными костнопластическими материалами (ОР 0,099; 95 % ДИ 0,013–0,761; $p < 0,05$).

Оценка состояния альвеолярного гребня в отдаленные сроки наблюдений проводилась в сравнении с характеристиками костного реконструкта через 6–8 месяцев после операции, т.е. на момент дентальной имплантации (таблица 28).

Таблица 28 – Размеры альвеолярного гребня (в мм) в отдаленные сроки наблюдений

Показатель	Срок после реконструкции	Основная группа		Контрольная группа		p
		M ± m	n	M ± m	n	
Высота	6–8 месяцев	9,37 ± 0,15	112	7,79 ± 0,14	117	< 0,001*
	5 лет	8,78 ± 0,14	110	6,12 ± 0,19	113	< 0,001*
p ₁		0,004*		< 0,001*		
Ширина	6–8 месяцев	8,21 ± 0,16	112	7,63 ± 0,05	116	< 0,001*
	5 лет	7,84 ± 0,16	110	6,03 ± 0,08	113	< 0,001*
p ₁		0,103		< 0,001*		

Примечания: p – уровень значимости различий показателей между группами; p₁ – уровень значимости различий показателей группы в разные контрольные сроки; * – различия показателей статистически значимы.

Через 5 лет после реконструкции горизонтальные размеры гребня в ОГ редуцировались статистически незначимо, в среднем на 0,37 мм ($p = 0,103$), что в 4 раза меньше по сравнению с контролем, где ширина уменьшилась в среднем на 1,6 мм (в КГ различия показателей в сроки 6–8 мес. и 5 лет значимы при $p < 0,001$). Высота альвеолярного гребня в эти сроки уменьшилась статистически значимо в обеих группах ($p < 0,004$), хотя темп потери вертикальных размеров кости был в 2,8 раза выше в КГ по сравнению с ОГ: в среднем убыль составила 1,67 мм и 0,59 мм в КГ и ОГ соответственно.

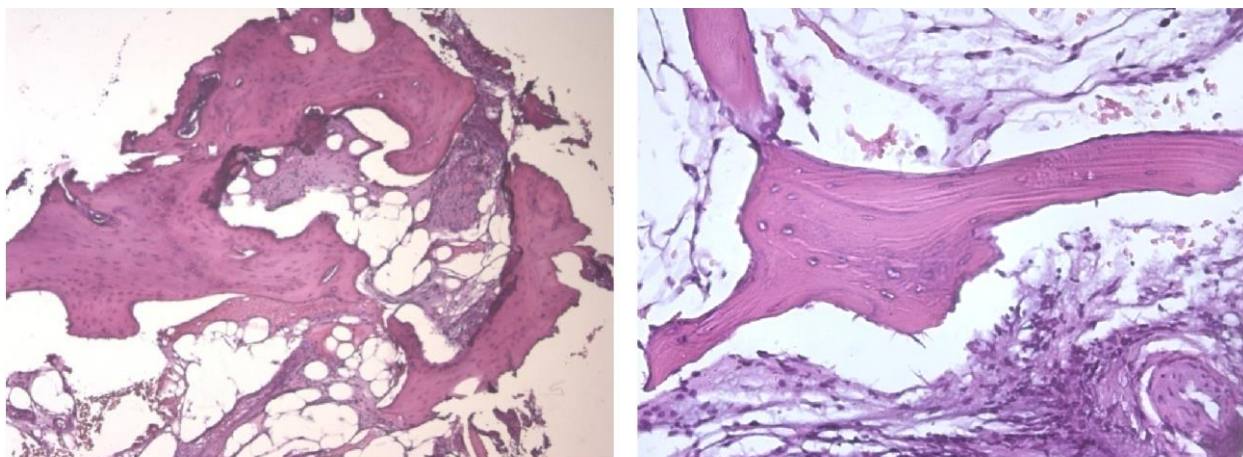
5.3.1. Морфологическая характеристика полученных результатов

Для сравнительной оценки морфологических характеристик восстановленной кости в зависимости от состава трансплантата провели гистологическое исследование трепанбиоптатов после однотипных операций синуслифтинга с наименьшим разнообразием вторичных признаков, способных повлиять на исход лечения (вид и объем костнопластического материала, свойства донорского ложа, сроки заживления и др.).

В образцах обеих групп, полученных через 4–8 месяцев после операции, наблюдали минерализованную кость, остеоид и частицы костнопластического материала. Однако соотношение основных тканевых компонентов регенерата, их морфологические характеристики и распределение указывали на более продуктивный остеогенный процесс в ОГ по сравнению с КГ.

Весь объем трепанбиоптатов ОГ представлял собой хорошо кровоснабженную костную структуру с остеоцитами, линиями цементации, первичными костномозговыми лакунами, без воспалительных инфильтратов и фиброзной ткани. Остаточные фрагменты остеозамещающего материала визуализировались в виде однородной структуры бледнорозового цвета, содержащей умеренное количество клеточных элементов преимущественно в прикраевой зоне, с фестончатыми краями и участками деградации в центре. Они окружены оксифильным ободком остеоида, переходящим в зрелую костную ткань, формирующую трабекулы разной ширины. Признаки продолжающегося остеогенного процесса прослеживались в виде участков незрелой ретикулофиброзной кости и остеоида на поверхности трабекул, остеогенных островков в межтрабекулярной соединительной ткани (рисунок 71).

Микропрепараты КГ отличались неоднородностью морфологических проявлений остеогенного процесса (рисунок 72).

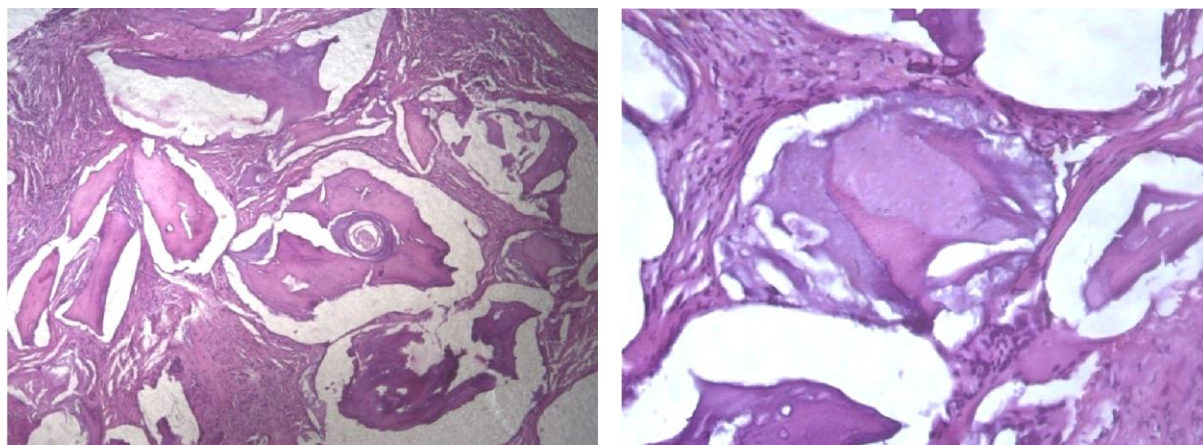


а

б

Рисунок 71 – Зрелая костная ткань, замещающая содержащий СВФ-ЖТ костнопластический материал. ОГ, 4 мес. после остеопластики.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: ×80 (а), ×400 (б)



а

б

Рисунок 72 – Нерезорбированные гранулы остеопластического материала и соединительная ткань среди тонких трабекул регенерировавшей кости. КГ, 6 мес. после остеопластики. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: ×80 (а), ×400 (б)

Дистальный участок субантрального трепанбиоптата содержал значительную долю фиброзно-волоконистой соединительной ткани с разной степенью клеточной плотности за счет лимфоидно-гистиоцитарных элементов и клеток фибробластического ряда. Вокруг нерезорбированных или частично резорбированных гранул остеопластического материала выявлялись участки фиброза с малым количеством кровеносных сосудов. В базальных отделах биоптатов, расположенных ближе к нативной кости

реципиентного ложа, можно было наблюдать формирование остеоидной субстанции непосредственно на поверхности нерезорбированных гранул остеопластического материала. Регенерировавшая костная ткань в виде тонких трабекул перемежалась соединительной тканью с редкими включениями периваскулярных остеогенных локусов.

Результаты гистоморфометрического анализа трепанбиоптатов исследуемых групп сопоставлены в таблице 29.

Таблица 29 – Основные морфологические компоненты субантрального регенерата (в процентах площади тканевого среза) в группах сравнения, $M \pm m$

Компоненты регенерата	Основная группа, n = 14	Контрольная группа, n = 13	p
Витальная минерализованная ткань	40,14 ± 3,36	24,23 ± 2,63	0,001*
Невитальная минерализованная ткань	13,31 ± 1,59	24,98 ± 1,97	< 0,001*
Неминерализованная ткань	47,11 ± 2,07	50,79 ± 2,10	0,224

Примечание: * – различия показателей статистически значимы.

Как следует из таблицы, относительная площадь витальной минерализованной, т.е. новообразованной костной ткани в 1,7 раза больше на срезах трепанбиоптатов ОГ по сравнению с КГ (различия показателей статистически значимы, $p = 0,001$ по t-критерию Стьюдента).

Относительная площадь невитальной минерализованной ткани, отражающая уровень остаточного нерезорбированного остеозамещающего материала, напротив, в 1,9 раза меньше в ОГ, чем в КГ ($p < 0,001$ по t-критерию Стьюдента).

Содержание неминерализованных тканей, включая костномозговую и фиброзную, несколько ниже в материале ОГ, по сравнению с КГ, однако разница статистически незначима ($p = 0,224$ по t-критерию Стьюдента).

По данным гистоморфометрии, плотность микрососудов статистически значимо выше в материале ОГ по сравнению с КГ, составляя $63,1 \pm 8,1$ и $36,7 \pm 7,8$ единиц/мм² соответственно ($p = 0,033$ по t-критерию Стьюдента).

Примеры иммуногистохимического окрашивания тканей субантрального остеорегенерата, выполненного с использованием антител к маркеру эндотелиальных прогениторных клеток CD34, представлены на рисунке 73.

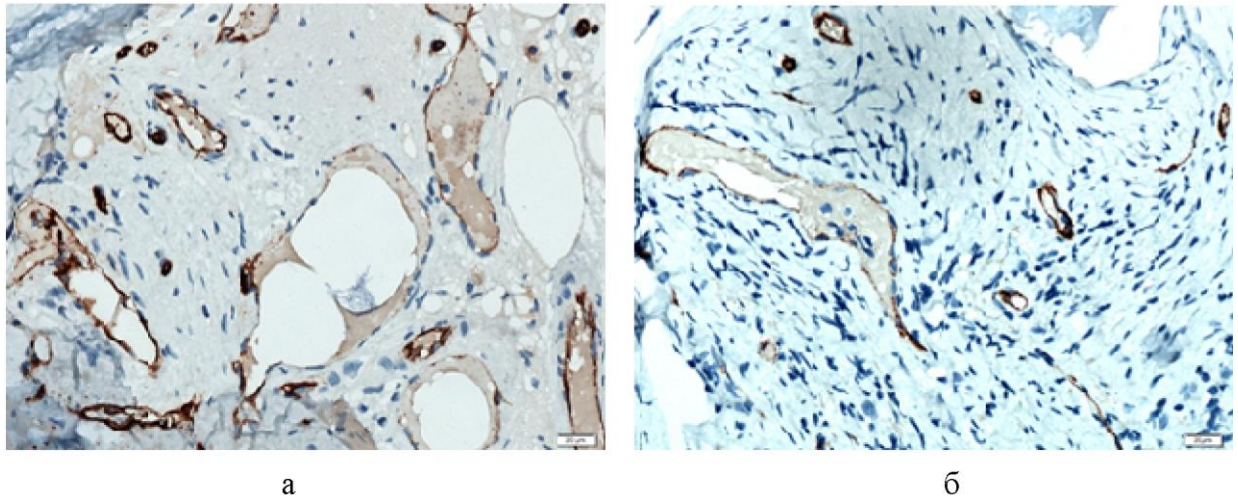


Рисунок 73 – Эндотелиальные прогениторные клетки (окрашены в коричневый цвет) в формирующемся микрососудистом русле субантрального остеорегенерата основной (а) и контрольной (б) групп сравнения. Иммуногистохимическое окрашивание антителами против маркера CD34

Таким образом, результаты морфологических исследований указывают на более высокий уровень оссификации и неоваскуляризации субантрального трансплантата, содержащего СВФ-ЖТ, по сравнению с использованием такого же костнопластического материала, но без клеточной фракции.

5.3.2. Обсуждение результатов исследования

На современном этапе развития науки и технологий установка дентальных имплантатов является наилучшим вариантом обеспечения поддержки зубопротезных конструкций при частичной или полной утрате зубов. Однако для этого необходим определенный объем опорных тканей, которого часто недостаточно в связи с регрессионной трансформацией альвеолярного челюстного гребня как неизбежным последствием отсутствия зубов естественного прикуса и исчезновения внутрикостного механического

стимула (Иванов С.Ю., Мураев А.А., Ямуркова Н.Ф., 2016; Кулаков А.А. с соавт., 2017).

По результатам скрининговой ортопантомографии лиц 65-летнего возраста было установлено, что одномоментное замещение отсутствующего зуба ортопедической конструкцией на внутрикостном имплантате возможно только в 38 % случаев на верхней челюсти и в 50 % случаев на нижней челюсти. В остальных случаях необходим предварительный этап по восстановлению альвеолярной кости достаточного объема (Oikarinen K. et al., 1995). Считается, что для долговременного успеха внутрикостной дентальной имплантации необходимо не менее 10 мм опорной кости по высоте и не менее 5 мм по ширине (Cranin A.N. et al., 1993). Применение укороченных имплантатов в настоящее время рассматривается как альтернативный метод работы на участках с ограниченной высотой альвеолярного гребня, но при этом поверхность соприкосновения кости и имплантата может быть слишком мала, что в ряде случаев приводит к ухудшению стабилизации и остеоинтеграции. По мнению экспертов, убедительных данных об успешности отдаленных результатах такого подхода еще недостаточно (Bolle C. et al., 2018; Nielsen H.B. et al., 2018).

«Золотым стандартом» восстановления опорных структур зубочелюстной системы остается пересадка аутологичной кости (Sakkas A. et al., 2017; Cunha G. et al., 2018; Dorosz N., Dominiak M., 2018; Garcia-Junior I.R. et al., 2018). Однако процедура имеет недостатки: дополнительный участок операционной травмы в полости рта или в другой области тела, ограниченный объем трансплантата, двухэтапный протокол с увеличенным временем и возросшей морбидностью вмешательства (Barone A. et al., 2011; Putters T.F. et al., 2018). После таких операций нередки нейросенсорные расстройства в донорской зоне. Высока вероятность резорбции аутокостного трансплантата (Fellichi P. et al., 2009; Khojasteh A. et al., 2013; Nkenke E., Neukam F.W., 2014). В регенеративной стоматологии

широко применяют различные костные заменители животного или синтетического происхождения, являющиеся остеокондукторами (Яременко А.И., Галецкий Д.В., Королев В.О., 2011; Yamada M., Egusa H., 2018). Но они не обладают остеоиндуктивными и остеогенными свойствами, поэтому могут быть использованы для восстановления дефектов кости небольших размеров, но малоэффективны при объемных изъянах (Dewi A.H., Ana I.D., 2018; Calori G.M. et al., 2011). Результаты доклинических и клинических исследований постэкстракционного сохранения и предимплантационной аугментации альвеолярного гребня, замещения периимплантатных костных дефектов с использованием костных морфогенетических белков, амелогенинов, тромбоцитарных концентратов не позволяют сделать однозначный вывод об эффективности такого подхода. Указывается о необходимости дальнейшей проработки вопросов доставки и дозирования рекомбинантных и других биоактивных факторов костной регенерации (Lin G.H. et al. 2016; Scheines C. et al., 2018).

Комбинирование гетерогенных костных заменителей с аутологичными остеогенными клетками представляет новую многообещающую стратегию в регенеративной стоматологии и челюстно-лицевой хирургии (Деев Р.В., Дробышев А.Ю., Бозо И.Я., 2015; Kaku M. et al., 2015; Migueta L. et al., 2017; Correia F. et al., 2018). Созданные на основе принципов тканевой инженерии полнофункциональные костнопластические материалы могли бы полностью решить проблему доступности ресурсов для остеозамещения. В большинстве работ, посвященных клеточно-вспомогательным технологиям предимплантационной аугментации альвеолярного гребня, используются дериваты костного мозга: в виде свежевыделенной фракции моноклеаров (Sauerbier S. et al., 2013; Pasquali P.J. et al., 2015; Bulgin D., Hodzic E., 2017; Valdivia E. et al., 2017) или в виде культуры клеток, размноженных *ex vivo* (Gjerde C. et al., 2018). В единичных исследованиях описывается применение ММСК-ЖТ (Кулаков А.А. с соавт., 2008; Shafieian R. et al., 2017). Между тем

остается много нерешенных вопросов, связанных с клинической доступностью подходящего клеточного материала, биобезопасностью полученных вне организма человека клеточных линий, экономической рентабельностью такого лечения и ряд других (Shanbhag S. et al., 2019).

Представленные результаты собственного исследования демонстрируют еще один важный раздел применения СВФ-ЖТ в широком спектре задач хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии и подтверждают преимущества предлагаемого клеточно-потенцированного подхода над текущими общепринятыми методами реконструкции альвеолярного гребня челюстей. В соответствии с установленными в работе критериями, реабилитация пациентов с частичной адентией и атрофией челюстного альвеолярного гребня наиболее эффективна в ОГ по сравнению с контролем по ряду параметров, включая частоту послеоперационных осложнений, достигнутый прирост опорной кости, характеристики мягких тканей в зоне имплантации, гистоморфометрические показатели остеорегенерата, периимплантатную маргинальную костную потерю (ПМКП), долгосрочную «выживаемость» имплантатов.

Наиболее неблагоприятные для исхода лечения осложнения были связаны с инфицированием операционной раны и трансплантата. В случаях трехмерной аугментации/реконструкции значительно редуцированных участков альвеолярного гребня с относительным дефицитом покровных мягких тканей наблюдались случаи расхождения швов и обнажения костнопластического материала. Это состояние несет значительную угрозу потери трансплантата. В работе Н. Nary Filho с соавт. (2014) выполнен анализ аутологичных костных блоков, экспозиционированных в ротовую полость после реконструкции альвеолярного гребня (Nary Filho H. et al., 2014). Исследователи выявили бактериальную колонизацию костнопластического материала, аналогичную по виду и распределению микрофлоры образцам, полученным при хроническом гнойном остеомиелите челюстей.

Результаты нашего исследования подтверждают большую устойчивость трансплантата, содержащего СВФ-ЖТ, к инфицированию, даже если он оказывается в прямом контакте со средой ротовой полости. Возможные механизмы такого эффекта, как обсуждалось выше, включают прямой антибактериальный эффект входящих в состав СВФ-ЖТ мезенхимальных стромальных клеток (Gupta N. et al., 2012; Mezey E., Nemeth K., 2015; Sung D.K. et al., 2016), иммуномодулирование с увеличением доли фагоцитирующих М2-макрофагов (Badylak S.F. et al., 2008; Dong Z. et al., 2013; Bowles A.C. et al., 2017), ускоренную реперфузию трансплантата (Парфенова Е.В. с соавт., 2006; Koh Y.J. et al., 2011; Zakhari J.S. et al., 2018).

Исходно размеры костной ткани челюстей, доступной для внедрения остеоинтегрируемых имплантатов, в среднем составляли менее 5,5 мм по высоте и менее 3,5 мм по ширине. При контроле через 6–8 мес. после аугментационной/реконструктивной остеопластики в обеих группах зарегистрирован статистически значимый прирост измеряемых параметров реконструируемого участка ($p < 0,001$), получен достаточный объем кости для проведения дентальной имплантации. При сравнении между группами высота доступной кости, включая реконструированный участок, в ОГ на 20,3 % превысила показатель КГ ($p < 0,001$), ширина – на 7,6 % ($p < 0,001$). Нужно отметить, что оцениваемые показатели являются зависимыми от заданного объема будущего реконструкта за счет размеров кортикальных каркасов.

Как известно, наличие кератинизированной слизистой вокруг имплантата, помимо эстетического значения, является важным фактором профилактики десневой рецессии, периимплантита и дезинтеграции (Зерницкий А.Ю., Медведева Е.Ю., 2012; Дурново Е.А. с соавт., 2018; Lin G.H. et al., 2013; Bassetti R.G. et al., 2016). Использование СВФ-ЖТ способствует приросту ширины прикрепленной/кератинизированной десны, существенно увеличивая размеры преддверия полости рта в зоне

хирургического вмешательства и снижая риск развития осложнений. Подобный эффект описан Gjerde с соавт. (2018) при аугментации альвеолярного гребня биокерамическими скаффолдами, засеянными культурой ММСК-КМ. Авторы исследования пришли к заключению, что клетки оказывают положительное влияние не только на остеогенное ремоделирование биоматериала, но и на прилежащие мягкие ткани, способствуя их заживлению и регенерации (Gjerde S. et al., 2018). Наблюдаемый нами феномен можно объяснить паракринной активностью клеток, входящих в состав СВФ-ЖТ, синтезирующих целый ряд ангиогенных и трофических факторов (Osugi M. et al., 2012; Hirose Y. et al., 2018).

Надежная остеоинтеграция является основополагающим условием долгосрочного успеха зубопротезирования на внутрикостных опорах (Кулаков А.А., Григорян А.С., 2007). Это динамический процесс, который включает механическую и биологическую фиксацию поверхности титанового винта с костной тканью воспринимающего ложа. Четыре группы факторов влияют на остеоинтеграцию дентального имплантата: 1) биосовместимость материала и дизайн изделия; 2) качество и количество опорной кости; 3) техника имплантации; 4) нагрузка на имплантат (Shao S. et al., 2015). Первичная оценка стабильности имплантатов выявила различия исследуемых групп: в ОГ все имплантации успешны, в КГ потребовалась реимплантация в 5 случаях ($p = 0,032$). Учитывая идентичность используемых имплантатов, технологии их внедрения и послеоперационных нагрузочных условий, выявленные различия можно объяснить более высоким качеством опорной кости, восстановленной пластическим материалом, включающим СВФ-ЖТ.

В гистоморфометрическом исследовании установлено, что СВФ-ЖТ, добавленная к гранулам остеозамещающего материала на основе депротеинизированной бычьей кости (ДБК), значительно увеличивает регенерацию костной ткани по сравнению с эффектом такого же биоматериала, но без клеточного сопровождения. Об этом свидетельствует

более значительная площадь, занятая жизнеспособной минерализованной костной тканью на срезах трепанбиоптатов, полученных от пациентов ОГ по сравнению с КГ: $40,14 \pm 3,36$ % и $24,23 \pm 2,63$ % соответственно ($p = 0,001$).

По данным ряда авторов, площадь костной ткани в препаратах биопсии через 6–10 месяцев после имплантации «чистых» гранул ДБК составляет от 12,6 до 35 % (Esfahanizadeh N. et al., 2012; De Lange G.L. et al., 2014; Galindo-Moreno P. et al., 2014; Jun S.H. et al., 2014; Moon J.W. et al., 2015; Schmitt M. et al., 2015). Результаты, полученные нами в КГ, укладываются в эти пределы. После применения гранул ДБК в комбинации с аутологичными костными крошками относительное содержание костной ткани в регенерате выше, чем после применения только ДБК: в двух работах приводятся следующие данные гистоморфометрии – 27,5 % и 40,6 % (Jensen S.S. et al., 2014; Schmitt M. et al., 2015). P.J. Pasquali с соавт. (2015) комбинировали ДБК с концентрированным аспирином костного мозга и применяли для субантральной аугментации. Через 6 месяцев при гистоморфометрическом анализе срезы регенерата в среднем на 55 % были представлены витальной минерализованной костной тканью (Pasquali P.J. et al., 2015). Исследователи сделали вывод, что использование клеток костного мозга в составе костнопластического материала значительно ускоряет процесс формирования опорных структур верхней челюсти, это позволяет рассматривать возможность более ранней имплантации после такого клеточно-потенцированного синус-лифтинга (Pasquali P.J. et al., 2015).

Таким образом, результаты гистоморфометрии образцов ОГ близки данным литературы о применении усовершенствованных методов костной пластики альвеолярного гребня, включая комбинирование биоматериалов с аутологичной костной крошкой и аспирином костного мозга. Преимущества использования СВФ-ЖТ в качестве источника остеогенных регенеративных клеток и стимулов были подробно обсуждены выше.

Выявленные в сравнительном иммуногистохимическом исследовании с маркером эндотелиальных прогениторных клеток CD34 различия

плотности микрососудов в образцах субантрального остеорегенерата подтверждают ангиогенные свойства СВФ-ЖТ и указывают на потенциал использования изучаемого нами регенеративного ресурса для создания васкуляризованной тканеинженерной остеозамещающей конструкции.

Данные литературы о степени васкуляризации альвеолярной кости, восстановленной с помощью других хирургических подходов, представляют значительный интерес, хотя прямое сопоставление цифровых показателей будет некорректным, так как методологии подготовки и анализа микропрепаратов имеют различия. Тем не менее считаем целесообразным привести результаты наиболее близких по дизайну работ.

В работе P. Galindo-Moreno с соавт. (2018), основанной на наблюдении 14 последовательных случаев синуслифтинга, трансплантация аутологичной кортикальной кости в комбинации с ДБК вызывала формирование более васкуляризованного субантрального остеорегенерата, чем в комбинации с аллогraftом: плотность микрососудов составила $86,63 \pm 42,44$ и $52,06 \pm 15,60$ ед/мм² соответственно (Galindo-Moreno P. et al., 2018). В используемой в качестве контроля нативной верхнечелюстной кости показатель ПМС составил $31,52 \pm 13,69$ ед/мм² (Galindo-Moreno P. et al., 2010). Через 5 месяцев после билатерального синуслифтинга у 5 пациентов плотность микрососудов на стороне, где использовался остеопластический биоматериал в виде ДБК в комбинации с плазмой, обогащенной факторами роста (plasma rich in growth factors), составила 116 ед/мм², на контрольной контрлатеральной стороне, где использовалась только ДБК, – 7 ед/мм² (Anitua A. et al., 2012). У 15 пациентов аутологичные монокортикальные костные блоки, полученные из донорских участков нижней челюсти, использовали для реконструкции верхней челюсти перед дентальной имплантацией. Через 3–9 месяцев при гистологической оценке биопсийного материала выявлено значительное количество невитальной костной ткани и слабая неоваскуляризация (Acocella A. et al., 2010).

Известно, что регенерация кости зависит от остеогенеза и васкулогенеза, и оба эти процесса, судя по результатам нашего исследования, индуцирует СВФ-ЖТ. Инициированная СВФ-ЖТ ранняя регенерация микрососудистого русла улучшает диффузию нутриентов и утилизацию продуктов распада биорезорбируемого скаффолда, способствует лучшему проникновению циркулирующих эндотелиальных прогениторных и других участвующих в остеогенезе клеток в центральные области графта. Это повышает скорость и полноту органотипического ремоделирования костнопластических биоматериалов по сравнению с аналогичными условиями, но без дополнительного клеточного источника регенеративных стимулов.

В начальном нагрузочном периоде показатель периимплантатной маргинальной костной потери (ПМКП) опосредовано отражает реакцию опорных структур в области проксимального костно-имплантатного контакта на жевательную нагрузку. Выявленные межгрупповые различия по этому показателю свидетельствуют о функциональных преимуществах опорной кости, восстановленной с применением СВФ-ЖТ. Возможно, так проявляется принцип взаимосвязи структуры и функции и реализуются описанные выше макро- и микроструктурные особенности реконструкта альвеолярного гребня у пациентов ОГ, включая оптимальные размеры несущей имплантат кости, наличие качественного мягкотканевого окружения, значительная доля витальной минерализованной костной ткани на гистоморфограммах.

При сравнительной оценке показателей в зависимости от уровня установки имплантатов наибольшие значения ПМКП обнаружены в области искусственных опор, установленных субкрестально, а не в уровень десны. Следует отметить, что при установке формирователя десны и трансфера для снятия оттиска с субкрестально расположенных имплантатов частично разрушаются первично сформированные околоимплантатные ткани в проксимальном отделе и плохо прогнозируется повторная их адаптация. Мы предположили, что в таком подходе заложен риск неконтролируемой

прогрессирующей потери опорной кости с развитием воспалительно-деструктивных осложнений, и в ходе выполнения долгосрочного исследования получили убедительные доказательства этого предположения: в структуре дезинтегрировавшихся имплантатов 2/3 занимают установленные ниже уровня костного гребня, а 1/3 – в уровень десны.

Применение разработанного клеточно-потенцированного способа аугментации/реконструкции альвеолярного гребня продемонстрировало возможность значительного, по сравнению с существующей практикой, повышения успешности дентальной имплантации в наиболее сложных клинических обстоятельствах.

После реализации предлагаемого способа у пациентов с выраженным исходным дефицитом опорной костной ткани 99,7 % дентальных имплантатов функционируют 5 лет и более; в контроле – только 96,5 % ($p = 0,006$).

Согласно данным ряда исследований, совокупная выживаемость имплантатов, установленных первично, т.е. без какой-либо хирургической подготовки реципиентного участка, через 5 лет составляет 95–100 % (Kim H.S. et al., 2018; Mameno T. et al., 2018; Raes M. et al., 2018), через 10 лет 83–97 % (Jemt T., 2017; Filius M.A.P. et al., 2018; French D. et al., 2018; Mameno T. et al., 2018; Kaneda K. et al., 2019). Следовательно, полученная в нашей работе долгосрочная выживаемость имплантатов, установленных в альвеолярный гребень, восстановленный с использованием СВФ-ЖТ-содержащего костнопластического материала, сопоставима с показателями имплантации в нативную костную ткань. Это свидетельствует о значительном соответствии восстановленной кости природному образцу.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выполненные в соответствии с поставленными задачами экспериментальные и клинические исследования позволили провести оценку остеорегенераторных свойств стромально-васкулярной фракции жировой ткани (СВФ-ЖТ), модифицировать способ получения фракции от человека и установить ее характеристики, разработать алгоритм и определить эффективность применения СВФ-ЖТ в восстановительно-реконструктивной хирургии полости рта.

В экспериментально-гистологическом исследовании на split-mouth модели дефекта нижней челюсти морских свинок изучено влияние СВФ-ЖТ на регенерацию костной ткани. Установлено, что СВФ-ЖТ существенно оптимизирует процесс остеорепарации. Индекс восстановления кости в области дефектов, заживших после локальной аутотрансплантации СВФ-ЖТ, составил в среднем 92 ± 8 %, что выше показателя контрлатеральных дефектов 42 ± 5 %, заживших в аналогичных условиях, но без клеточного потенцирования ($p < 0,001$). По данным сравнительной радиовизиографии, показатель рентгенологической плотности регенерата в среднем составил 108 ± 2 и 65 ± 6 ед. на экспериментальном и контрольном участках челюсти соответственно ($p < 0,001$). Морфологический анализ выявил закономерности процесса остеорегенерации в условиях внесения в костный дефект СВФ-ЖТ: остеогенез идет по всему объему изъяна с последовательным формированием грубоволокнистой и пластинчатой кости и интимным «спаиванием» с материнской костью. Без СВФ-ЖТ новая костная ткань образуется в небольшом количестве по краю дефекта.

Результаты экспериментального исследования подтверждают высокие регенераторные свойства и перспективность применения СВФ-ЖТ в восстановительно-реконструктивной хирургии опорных тканей полости рта.

Подробно описан адаптированный к клиническим условиям протокол выделения СВФ-ЖТ из жировой ткани человека, который характеризуется

повышенной инфекционной и иммунологической безопасностью, высокой эффективностью выхода стромальных клеток, сокращенной продолжительностью цикла и экономичностью.

Результаты цитологических тестов свидетельствуют о корректности применяющегося в работе протокола обработки жировой ткани для получения СВФ-ЖТ. Установлено, что основными морфологическими компонентами СВФ-ЖТ являются жизнеспособные фибробластоподобные клетки, волокнистые элементы стромы и фрагменты микрососудов. В процессе культивирования клетки быстро размножаются с периодом удвоения около 68 часов. По данным иммунофлуоресцентного анализа, от 95 до 100 % клеток экспрессируют маркеры мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК): CD13, CD44, CD90, CD105. Небольшое количество клеток (от 15 до 25 %) в образцах экспрессируют CD31 (маркер эндотелиальных клеток), C-kit (рецептор к фактору стволовых клеток SCF и некоторых других прогениторных клеток), десмин и гладкомышечный актин (маркеры мышечных клеток). CD34-позитивных клеток в культуре не обнаружено (маркер гематопоетических стволовых клеток). Культивируемые клетки синтетически активны в отношении компонентов внеклеточного матрикса, таких как фибронектин и коллаген I. Число клеток в пересчете на 1 мл обработанной жировой ткани составляет в среднем: ядродержащих – 2,1 млн с жизнеспособностью 78 %; прикрепившихся к пластику ММСК – 27 тыс. с жизнеспособностью 86 %.

Предлагаемый новый клеточно-потенцированный подход, объединяющий традиционные методы восстановительно-реконструктивной хирургии полости рта и технологию оптимизации локальных репаративных процессов в виде прямого внесения в область повреждения аутологичной СВФ-ЖТ или активации (витализации) ею остеокондуктивных костнопластических материалов, изучен в серии контролируемых клинических исследований.

Установлено, что операция направленной регенерации тканей пародонта с аутотрансплантацией СВФ-ЖТ в санированные, изолированные мембраной дефекты существенно повышает возможности восстановления опорных тканей околозубной локализации при хроническом пародонтите средней и тяжелой степени. После применения этой технологии получен устойчивый прирост зубодесневого прикрепления; через 2 года после операции его среднее значение составляет в основной группе $5,66 \pm 0,02$ мм, что на 73 % больше соответствующего показателя контрольной группы $3,27 \pm 0,03$ мм ($p < 0,001$), где проводилось такое же лечение, но без клеточной трансплантации.

Аппаратная периотестометрия свидетельствует о полном восстановлении опорной функции пародонта у пациентов основной группы, в то время как у большинства пациентов контрольной группы сохраняется патологическая подвижность. Среднее значение периотеста через 24 месяца после операции составляет $3,8 \pm 0,1$ и $15,6 \pm 0,3$ балла в основной и контрольной группах соответственно ($p < 0,001$).

Прирост рентгеноконтрастных структур преобладает в области дефектов, для устранения которых применялась операция направленной регенерации тканей пародонта с аутотрансплантацией СВФ-ЖТ. Рентгенологическая плотность околозубной кости увеличилась от первоначальных значений в среднем на 72 % и 49 % в основной и контрольной группах соответственно.

Результаты морфологической оценки убеждают в существенном индуцирующем влиянии СВФ-ЖТ на восстановление поврежденных тканей опорного аппарата зуба, что подтверждается обнаружением в ранние сроки в биопсийном материале, полученном от пациентов ОГ, сформированных мягкотканевых структур краевого пародонта с характерным для нормы коротким эпителием прикрепления, новым соединительнотканым прикреплением и образованием молодых костных структур альвеолы.

Среднее значение плотности микрососудов на срезах регенерирующих тканей почти в 2 раза выше в основной группе по сравнению с контрольной: $58,2 \pm 10,2$ и $30,1 \pm 7,5$ единиц на 1 мм^2 соответственно ($p = 0,047$).

Применение СВФ-ЖТ улучшает результаты лечения пациентов с одонтогенными кистозными образованиями челюстей: способствует быстрому нивелированию воспалительного процесса, заживлению раны первичным натяжением, снижению числа осложнений в послеоперационном периоде, стабилизации и сохранению причинных зубов с исходной критической потерей опорного аппарата, отсутствию рецидивов в отдаленные сроки.

В основной группе, где проводилась аутотрансплантация СВФ-ЖТ в постцистэктомический костный дефект, частота положительных клинических исходов в 2 раза выше, чем в контрольной группе с традиционными способами стимулирования остеорегенерации: 96,6 % и 47,8 % соответственно ($p < 0,05$).

По данным рентгенологических методов исследования, у большинства пациентов основной группы регистрируется восстановление губчатой кости и кортикальных пластинок челюстей, формирование нового периодонтально-связочного пространства. Рентгенологическая плотность ткани в межкортикальной зоне замещенных дефектов основной группы соответствует показателям костной ткани челюстей в норме, составляя в среднем $767 \pm 184 \text{ HU}$. В контрольной группе этот показатель значительно меньше – $368 \pm 124 \text{ HU}$ ($p < 0,001$), что объясняется наличием остаточной полости или формированием плотных, но не костных структур в центральных участках регенерата.

Динамика показателей аппаратного периотеста свидетельствует о ранней стабилизации подвижных зубов с полным восстановлением опорной функции после операции с аутотрансплантацией СВФ-ЖТ. В результате традиционного лечения патологическая подвижность вовлеченных в кисту зубов уменьшается

незначительно. Сравнение итоговых значений периотеста в конце полного периода наблюдения подтверждает превосходящую эффективность нового способа лечения над традиционным: $2,8 \pm 1,1$ против $15,0 \pm 2,1$ балла в основной и контрольной группах соответственно ($p < 0,001$).

По материалам трепанбиопсий, морфологический состав и топика регенерата свидетельствуют о полноценном по качеству и количеству органотипическом замещении постцистэктомического челюстного дефекта после остеопластики с включением в состав трансплантата СВФ-ЖТ. При традиционных подходах репаративный остеогистогенез характеризуется незавершенностью и топической избирательностью.

Применение аутологичной СВФ-ЖТ в качестве источника регенеративных клеток и стимулов в комбинации с остеокондуктивными биоматериалами повышает эффективность предимплантационной аугментации/реконструкции значительно атрофированного альвеолярного гребня челюстей.

Анализ частоты и структуры послеоперационных осложнений свидетельствует о большей безопасности применения костнопластических материалов, содержащих СВФ-ЖТ. Общая частота осложнений, развившихся в разные сроки после остеопластики и приведших в итоге к полной или частичной утрате трансплантата, составила 0,9 % и 13,7 % в основной и контрольной группах соответственно ($p < 0,001$). СВФ-ЖТ значительно снижает риск инфицирования и потери трансплантата (ОР 0,143; 95 % ДИ 0,022–0,922; $p < 0,05$).

В результате операции в обеих группах получен достаточный объем кости для проведения дентальной имплантации. При сравнении между группами высота доступной кости, включая реконструированный участок, в основной группе на 20,3 % превысила показатель контрольной группы ($p < 0,001$), ширина – на 7,6 % ($p < 0,001$).

Использование СВФ-ЖТ улучшает заживление и регенерацию покрывающих трансплантат мягких тканей, способствуя приросту ширины

прикрепленной/кератинизированной десны, существенно увеличивая размеры преддверия полости рта в зоне хирургического вмешательства, снижая риск десневой рецессии и периимплантита.

Первичная оценка стабильности имплантатов выявила различия исследуемых групп: в основной группе все имплантации успешны, в контроле потребовалась реимплантация в 5 случаях ($p = 0,032$). Учитывая идентичность используемых имплантатов, технологии их внедрения и послеоперационных нагрузочных условий, выявленные различия объясняются более высоким качеством опорной кости, восстановленной костнопластическим материалом, включающим СВФ-ЖТ.

С помощью гистоморфометрии установлено, что СВФ-ЖТ, добавленная к гранулам остеозамещающего материала на основе депротеинизированной бычьей кости, значительно увеличивает его ремоделинг *in vivo* по сравнению с эффектом такого же биоматериала, но без клеточного сопровождения: площадь витальной минерализованной ткани составила $40,14 \pm 3,36 \%$ и $24,23 \pm 2,63 \%$; остаточных гранул остеокондуктора $13,31 \pm 1,59$ и $24,98 \pm 1,97 \%$ в основной и контрольной группах соответственно ($p \leq 0,001$).

СВФ-ЖТ в составе костнопластического материала создает условия для его более активной неоваскуляризации после имплантации в зону дефекта. По данным сравнительного иммуногистохимического исследования с маркером эндотелиальных прогениторных клеток CD34 плотность микрососудов на срезах субантрального остеорегенерата составила $63,1 \pm 8,1$ и $36,7 \pm 7,8$ единиц на 1 мм^2 в основной и контрольной группах соответственно ($p = 0,033$).

Низкий уровень периимплантатной маргинальной костной потери в процессе функционирования завершенных ортопедических конструкций свидетельствует о функциональных преимуществах опорной кости, восстановленной с применением СВФ-ЖТ: во все контрольные сроки потеря

костной ткани значительно меньше в основной группе по сравнению с контролем ($p < 0,001$).

Применение разработанного клеточно-потенцированного способа аугментации/реконструкции альвеолярного гребня позволяет значительно, по сравнению с существующей практикой, повысить эффективность дентальной имплантации в наиболее сложных клинических ситуациях: у пациентов с выраженным исходным дефицитом опорной кости 99,7 % дентальных имплантатов функционируют 5 лет и более; в контроле – только 96,5 % ($p = 0,006$).

Таким образом, результаты настоящего диссертационного исследования подтверждают на примере экспериментального остеогистогенеза высокие регенераторные свойства СВФ-ЖТ, предоставляют малоинвазивный стандартизованный протокол обработки жировой ткани человека для получения СВФ-ЖТ с установленными характеристиками, свидетельствуют о безопасности и высокой эффективности применения СВФ-ЖТ в восстановительно-реконструктивной хирургии полости рта.

ВЫВОДЫ

1. В экспериментальном исследовании на модели билатеральных челюстных дефектов локальная трансплантация аутологичной СВФ-ЖТ стимулирует восстановление кости, что подтверждается замещением большей площади дефекта оссифицированной структурой ($92 \pm 8 \%$ против $42 \pm 5 \%$ в контроле, $p < 0,001$), повышением средней рентгенологической плотности замещающих дефект тканей (108 ± 2 против 65 ± 6 ед. в контроле, $p < 0,001$). Остеорегенераторный эффект СВФ-ЖТ верифицируется результатами гистологических исследований: в тестируемых условиях наблюдается формирование морфологически полноценной костной ткани с наиболее полным восстановлением органотипической архитектоники по сравнению с заживлением кости в контрольных аналогичных условиях без применения фракции.

2. Предложенный протокол обработки жировой ткани человека позволяет получить стромально-васкулярную фракцию, основными морфологическими компонентами которой являются фибробластоподобные клетки, фрагменты микрососудов и волокнистые элементы стромы. Клетки жизнеспособны, *in vitro* активно размножаются и синтезируют компоненты межклеточного матрикса, демонстрируют иммунофенотип мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток: CD13+, CD34-, CD44+, CD90+, CD105+. Количество клеток составляет в среднем $2,1 \pm 0,4 \times 10^6$ ядродержащих или $2,7 \pm 0,5 \times 10^4$ пластик-адгезивных на 1 мл обработанной жировой ткани.

3. Применение СВФ-ЖТ в ходе операции направленной регенерации тканей пародонта существенно улучшает клинические, функциональные и эстетические результаты лечения больных хроническим пародонтитом средней и тяжелой степени, обеспечивая ускоренный регресс воспалительных симптомов с долгосрочной стабильностью клинических показателей состояния ротовой полости, повышенный прирост зубодесневого

прикрепления ($5,66 \pm 0,02$ против $3,27 \pm 0,03$ мм, $p < 0,001$) с более полным и стойким восстановлением опорной функции пародонта и минимальной остаточной рецессией десневого края ($1,24 \pm 0,05$ против $2,91 \pm 0,07$ мм, $p < 0,001$) сравнительно с эффектами общепринятого лечения в контрольной группе. Разработанный способ лечения эффективен при всех видах пародонтальных дефектов, включая супраальвеолярные и фуркационные.

4. Внесенная в санированный и защищенный мембраной пародонтальный дефект СВФ-ЖТ создает оптимальные условия для запуска регенераторных процессов, что при сравнительном гистоморфологическом исследовании подтверждается обнаружением в восстанавливаемых тканях пародонта множественных участков тканевого ремоделирования с более высокой плотностью микрососудов по сравнению с контролем ($58,2 \pm 10,2$ против $30,1 \pm 7,5$ ед/мм², $p = 0,047$).

5. Применение СВФ-ЖТ при замещении объемных дефектов челюстей после удаления одонтогенных кистозных образований позволяет значительно снизить частоту послеоперационных осложнений ($1,7$ % против $23,9$ %, $p < 0,001$), повысить частоту положительных клинических исходов без рецидивов воспалительно-деструктивного процесса в отдаленные сроки наблюдений ($96,6$ % против $47,8$ %, $p < 0,05$), добиться более ранней и полной стабилизации подвижных зубов по сравнению с общепринятыми способами лечения.

6. Трансплантация СВФ-ЖТ обеспечивает релевантное клеточное сопровождение и способствует полноценному протеканию каскадных процессов репаративной регенерации кости в области постцистэктомических костных дефектов. По результатам морфологических исследований, в ближайшие сроки регенерат представлен ретикулофиброзной костной тканью, равномерно заполняющей дефект, независимо от размеров, в дальнейшем наблюдается ремоделирование регенерата в пластинчатую кость остеонного строения. При заживлении больших костных дефектов в отсутствие дополнительного источника регенераторных клеток

остеогистогенез характеризуется незавершенностью и топической избирательностью.

7. Реконструкция челюстного альвеолярного гребня с применением osteoconductive костнопластических материалов, содержащих аутологичную СВФ-ЖТ, позволяет значительно, по сравнению с существующей практикой, снизить частоту послеоперационных осложнений с полной или частичной утратой трансплантата (0,9 % против 13,7 %, $p < 0,001$), повысить успешность дентальной имплантации у пациентов с выраженным исходным дефицитом опорной костной ткани (99,7 % дентальных имплантатов функционируют 5 лет и более, в контроле – 96,5 %, $p = 0,006$).

8. Включение СВФ-ЖТ в состав osteoconductive костнопластических материалов улучшает их остеогенные свойства при синуслифтинге; по данным гистоморфометрии, содействует запуску интенсивной неоваскуляризации и ремоделированию с более высоким представительством в регенерате микрососудов ($63,1 \pm 8,1$ против $36,7 \pm 7,8$ ед/мм², $p = 0,033$) и жизнеспособной минерализованной костной ткани ($40,14 \pm 3,36$ % против $24,23 \pm 2,63$ %, $p = 0,001$), меньшей долей остаточного нерезорбированного матрикса ($13,31 \pm 1,59$ % против $24,98 \pm 1,97$ %, $p < 0,001$) по сравнению с трансформацией аналогичного ординарного остеопластического материала.

9. Стромально-васкулярная фракция жировой ткани является доступным биобезопасным персонифицированным регенеративным ресурсом, применение которого повышает основные показатели эффективности хирургического лечения больных с периодонтальными и периапикальными воспалительно-деструктивными процессами челюстей на 49–73 %, а также стоматологической реабилитации пациентов с вторичной адентией при дегенеративных изменениях челюстного альвеолярного гребня на 9–20 %, что является существенным положительным результатом и свидетельствует о целесообразности внедрения разработанных методов восстановительно-реконструктивной хирургии в широкую клиническую практику.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для получения 0,5–1 мл концентрированной стромально-васкулярной фракции необходимо аспирационное извлечение 50 мл подкожной жировой ткани, ферментативная дигестия ее в 0,083 % растворе коллагеназы I типа (активность 180–290 ед/мг) в течение 20 минут при 37 °С, центрифугирование на скорости 2750–3000 об/мин в течение 20 минут. В качестве суспендирующей среды рекомендуется использовать 10 мл сыворотки крови пациента.

2. Для улучшения остеогенных свойств костнопластических материалов остеокондуктивной направленности рекомендуется комбинировать их с аутологичной СВФ-ЖТ в пропорции 2–4 части остеозамещающего материала на 1 объемную часть концентрированной фракции (объем осадка на дне пробирки после центрифугирования по протоколу). В качестве источника естественных остеоиндуктивных стимулов (костных морфогенетических белков и др.) целесообразно добавлять крошки аутологичной кости.

3. Операцию направленной регенерации тканей с введением в санированные и защищенные мембраной пародонтальные дефекты аутологичной СВФ-ЖТ следует использовать как метод выбора при лечении больных хроническим генерализованным пародонтитом средней и тяжелой степени, особенно при супраальвеолярных и фуркационных видах дефектов.

4. В восстановительной пародонтологии аутологичную СВФ-ЖТ рекомендуется использовать для изменения фенотипа покровных тканей с тонкого на толстый, увеличения зоны прикрепленной (кератинизированной) десны без дополнительных инвазивных мукогингивальных хирургических вмешательств, а также для устранения рецессии тканей пародонта.

5. Для восстановления кости в области постцистэктомических челюстных дефектов размерами более 10 мм рекомендуется использовать

СВФ-ЖТ в комбинации с костнопластическими материалами и собственной кортикально-губчатой костью пациента, взятой трепаном из ретромолярной области, бугра верхней челюсти или беззубых участков альвеолярного гребня и измельченной в костной мельнице, с последующей адаптацией и фиксацией барьерной мембраны под мукопериостальным лоскутом. Сохранение зубов целесообразно для оптимального вторичного ремоделирования челюстной кости под функциональной нагрузкой.

6. При трехмерной регрессионной трансформации альвеолярного гребня челюстей после фиксации каркасов (аутологичные кортикальные блоки, ксеногенные или аллогенные костные блоки и пластины) в подготовленную зону регенерации кости рекомендовано вводить трансплантат из гранулированных остеопластических материалов в смеси с аутологичными СВФ-ЖТ и костной крошкой. Адаптация и фиксация реконструкта проводится с помощью резорбируемых мембран, помещаемых под расщепленный лоскут.

7. После реконструкции альвеолярного гребня рекомендовано применять системы остеоинтегрируемых дентальных имплантатов, способных перераспределять силы жевательного давления в реконструированной кости. Это способствует оптимальному протеканию процессов перестройки опорных структур во времени и лежит в основе подтвержденной эффективности функционирования искусственных опор в отдаленные сроки.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БСА	– бычий сывороточный альбумин
ВКД	– внутрикостный дефект
ГЗ	– глубина зондирования
ГИ	– гигиенический индекс
ДИ	– десневой индекс
ДБМ	– депротеинизированная бычья кость
ЗДП	– зубодесневое прикрепление
ИВК	– индекс восстановления кости
ИК	– индекс кровоточивости
КТ	– компьютерная томография
КГ	– контрольная группа
КМ	– костный мозг
КМБ	– костный морфогенетический белок
ЛА	– липоаспират
ММСК	– мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки
ММСК-ЖТ	– мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани
ММСК-КМ	– мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки костного мозга
МСК	– мезенхимальные стволовые клетки
НРТ	– направленная регенерация тканей
ОГ	– основная группа
ПИ	– пародонтальный индекс
ПМС	– плотность микрососудов
ПК	– пуповинная кровь
ПоЗДП	– потеря зубодесневого прикрепления
ПрЗДП	– прирост зубодесневого прикрепления

ПТМ	– периотестометрия
РецДК	– рецессия десневого края
САД	– супраальвеолярный дефект
СВФ-ЖТ	– стромально-васкулярная фракция жировой ткани
ФД	– фуркационный дефект
ХПСТС	– хронический пародонтит средней и тяжелой степени
ЭСК	– эмбриональные стволовые клетки
ЭТС	– эмбриональная телячья сыворотка

СПИСОК ТЕРМИНОВ

Ангиогенез – развитие новых капилляров путем миграции и пролиферации предсуществующих дифференцированных эндотелиальных клеток.

Васкулогенез – образование примитивной капиллярной сети за счет процесса дифференцировки эндотелиальных предшественников в эндотелиальные клетки.

Дифференцировка – процесс структурно-функционального преобразования клеток, связанный с их специализацией. Дифференцировка клеток происходит как в развивающихся, так и в зрелых тканях и характеризуется экспрессией части генома. Основа дифференцировки – синтез цито- и тканеспецифичных белков.

Клеточно-потенцированные хирургические технологии – традиционные методы восстановительно-реконструктивной хирургии, такие как направленная регенерация тканей, трансплантация тканей, имплантация биоматериалов, но с дополнительным применением технологии оптимизации локальных репаративных процессов в виде прямого внесения в область повреждения обладающих регенераторным потенциалом клеток или обогащения ими пластических материалов.

Мезенхимальные стволовые клетки – стволовые клетки сформировавшегося плода и взрослого организма, способные к дифференцировке в клеточные типы мезенхимального происхождения: остеобласты, хондроциты, фибробласты, тендоциты, миоциты, кардиомиоциты, адипоциты и др.

Мультипотентные клетки – клетки, способные дифференцироваться в нескольких направлениях в пределах тканевых производных одного зародышевого листка.

Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки – гетерогенная популяция клеток стромы костного мозга и некоторых иных источников, способная к дифференцировке в клетки, имеющие мезенхимальное происхождение, а также в особых условиях *in vitro* – в клетки эктодермального и энтодермального фенотипа. В эту популяцию фибробластоподобных пластик-адгезивных клеток могут входить как истинные мезенхимальные стволовые клетки, так и малодифференцированные клетки-предшественники.

Неоваскуляризация – образование новых сосудов.

Остеогенная недостаточность – патологическое состояние, обусловленное низкой активностью остеоиндуцирующих факторов системного или локального уровня и (или) малым количеством камбиальных клеток в области повреждения кости, при котором естественный ход репаративного остеогистогенеза не способен обеспечить полного ее гисто- и органотипического восстановления.

Остеогенность – способность костнопластического материала генерировать новую кость, что характерно для аутотрансплантатов или материалов, содержащих аутогенные остеопрогениторные клетки.

Остеоиндукция – способность костнопластического материала стимулировать активность остеобластов и образование новой кости, воздействуя на них сигнальными факторами.

Остеокондукция – способность костнопластического материала служить поддерживающей конструкцией для прорастания сосудов и структур формирующейся костной ткани.

Полустволовые клетки-предшественники – образующиеся в результате асимметричного деления стволовых клеток дочерние клетки, способные пройти лишь несколько циклов деления с последующей дифференцировкой только в один преобладающий тип клеток.

Пролиферация – увеличение числа клеток, процесс клеточного деления, осуществляющегося путем митоза. Пролиферация обеспечивает клеточную форму регенерации ткани.

Стволовые клетки – самоподдерживающаяся, т.е. способная к делению неограниченное количество раз, популяция клеток, которая в определенных условиях микроокружения может дифференцироваться в нескольких направлениях и формировать разные клеточные типы.

Стромально-васкулярная фракция жировой ткани – лишенный зрелых адипоцитов комплекс ядросодержащих клеток жировой ткани, включающий мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, гладкомышечные и эндотелиальные клетки микрососудов, тканевые макрофаги, тучные клетки, клетки крови. Возможно присутствие волокнистых элементов стромы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агапов, В.С. Применение препаратов колпол и гидроксипол для заполнения полостей после удаления радикулярных кист / В.С. Агапов, С.А. Аснина, А.И. Воложин // Мед. консультация. – 1996. – № 3. – С. 44–45.
2. Адамян, А.А. Полимерные материалы в восстановительной и эстетической хирургии лица (обзор литературы) / А.А. Адамян, Е.Н. Сергиенко, А.И. Щеголев // Анналы пласт., реконструктив. и эстет. хирургии. – 2005. – № 1. – С. 62–68.
3. Алексеева, И.С. Клинико-экспериментальное обоснование использования комбинированного клеточного трансплантата на основе мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани у пациентов с выраженным дефицитом костной ткани челюстей / И.С. Алексеева, А.В. Волков, А.А. Кулаков, Д.В. Гольдшейн // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2012. – Т. 7. – № 1. – С. 97–105.
4. Алиев, С.Э. Интраоперационные осложнения при заборе свободного расщепленного аутооттрансплантата теменной области и пути их решения / С.Э. Алиев, Д.Н. Назарян, Д.А. Мельников // Анналы пласт., реконструктив. и эстет. хирургии. – 2013. – № 4. – С. 22–25.
5. Аранович, А.М. Методики цифрового анализа рентгенологического изображения дистракционного регенерата при удлинении голени у больных ахондроплазией / А.М. Аранович, Г.В. Дьячкова, О.В. Климов, К.А. Дьячков, А.С. Неретин // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 1. – С. 1115–1119.
6. Аснина, С.А. Хирургическое лечение радикулярных кист челюстных костей с использованием биокомпозиционного материала «Остеоматрикс» / С.А. Аснина, В.С. Агапов, А.Ф. Панасюк // Ин-т стоматологии. – 2004. – № 2. – С. 43–44.
7. Афанасьев, В.В. Травматология челюстно-лицевой области / В.В. Афанасьев. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 256 с.

8. Байдик, О.Д. Тканевая инженерия в стоматологии / О.Д. Байдик, М.А. Титаренко, П.Г. Сысолятин // Стоматология. – 2015. – Т. 94. – № 2. – С. 65–68.

9. Бакиев, Б.А. Хирургическое лечение одонтогенных кист челюстей : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Б.А. Бакиев. – Пермь, 1986. – 17 с.

10. Баласанова, К.В. Создание тканеинженерной конструкции для восстановления костной ткани в челюстно-лицевой хирургии / К.В. Баласанова, Н.М. Золотопуп, П.А. Елистратов // В книге: Постгеномные методы анализа в биологии, лабораторной и клинической медицине. Материалы III международной научно-практической конференции. – М., 2012. – С. 261–263.

11. Бармашева, А.А. Сравнительное исследование влияния дермальных фибробластов и мультипотентных мезенхимных стромальных клеток, заключенных в коллагеновый гель, на регенерацию десны / А.А. Бармашева, Н.С. Николаенко, И.А. Самусенко // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2013. – Т. 8. – № 2. – С. 35–43.

12. Барон, А. Регенеративные технологии в стоматологии : науч.-практ. рук. / А. Барон, У. Нанмарк; пер. с англ. под ред. С.Д. Арутюнова. – М. : Практическая медицина, 2015. – 184 с.

13. Безруков, В.М. Гидроксиапатит как субстрат для костной пластики: теоретические и практические аспекты проблемы / В.М. Безруков, А.С. Григорьянц // Стоматология. – 1996. – № 5. – С. 7–12.

14. Безруков, В.М. Оперативное лечение кист челюстей с использованием гидроксиапатита ультравысокой дисперсности / В.М. Безруков, В.П. Зуев, А.С. Панкратов, Л.А. Григорьянц // Стоматология. – 1998. – № 1. – С. 31–35.

15. Бельченко, В.А. Эндопротезирование мозгового и лицевого черепа перфорированными пластинами из титана / В.А. Бельченко, В.П. Ипполитов, В.И. Лизунков, Ю.Н. Ростокин, Л.А. Каурова, С.А. Колескина // Стоматология. – 1996. – № 2. – С. 52–54.

16. Бельченко, В.А. Использование аутотрансплантатов свода черепа для устранения дефектов альвеолярного отростка верхней челюсти / В.А. Бельченко, А.Г. Притыко, Г.В. Гончалов // Новое в стоматологии. – 2000. – № 2. – С. 32–34.

17. Бобро, Л.И. Фибробласты и их значение в тканевых реакциях / Л.И. Бобро // Архив патологии. – 1990. – Т. 52. – Вып. 12. – С. 65–68.

18. Бондаренко, Н.А. Потребность в дентальной имплантации и частота ее применения / Н.А. Бондаренко, Ф.Ф. Лосев, А.Н. Бондаренко // Кубанский научный медицинский вестник. – 2010. – № 3–4 (117–118). – С. 29–32.

19. Бочарова, И.Г. Восстановление костной ткани альвеолярного отростка при перфорации верхнечелюстного синуса в условиях направленной тканевой регенерации : автореф. дис. ... канд. мед. наук / И.Г. Бочарова. – Воронеж, 2008. – 24 с.

20. Бухарова, Т.Б. Разработка тканеинженерной конструкции на основе мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани, полилактидных носителей и тромбоцитарного геля для восполнения костного дефекта : автореф. дис. ... канд. биол. наук / Т.Б. Бухарова. – М., 2014. – 26 с.

21. Буцан, С.Б. Эволюция в планировании и моделировании реваскуляризуемого малоберцового аутотрансплантата при устранении дефектов нижней челюсти / С.Б. Буцан, К.С. Гилева, Е.В. Вербо, С.Б. Хохлачев, С.В. Абрамян, А.А. Смаль, С.Г. Булат // Стоматология. – 2018. – Т. 97. – № 3. – С. 35–43.

22. Василевич, И.Б. О клеточных технологиях лечения трофических язв с использованием мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани / И.Б. Василевич, Е.В. Баранов, С.В. Пинчук [и др.] // 2-й Национальный конгресс по регенеративной медицине : мат. конгресса. (Москва, 3–5 декабря 2015). – М., 2015. – С. 34.

23. Васильев, Ю.С. Реконструктивные операции у больных с местнораспространенными злокачественными новообразованиями средней

зоны лица / Ю.С. Васильев, С.А. Васильев, И.А. Карпов, С.В. Яйцев, В.И. Сычев, Л.Е. Семенова, А.С. Захаров, В.С. Васильев, И.С. Васильев // *Анналы пласт., реконструктив. и эстет. хирургии.* – 2009. – № 2. – С. 24–33.

24. Вербо, Е.В. Прецизионное применение малоберцового аутотрансплантата в реконструкции средней зоны лица / Е.В. Вербо, С.Б. Буцан, О.С. Москалёва, К.С. Гилева, М.Н. Большаков, М.М. Черненко, С.Б. Хохлачев, С.А. Перфильев // *Анналы пласт., реконструктив. и эстет. хирургии.* – 2017. – № 1. – С. 12–29.

25. Веремеев, А.В. Стромально-васкулярная фракция жировой ткани как альтернативный источник клеточного материала для регенеративной медицины / А.В. Веремеев, Р.Н. Болгарин, М.А. Петкова [и др.] // *Гены & клетки.* – 2016. – Том XI. – № 1. – С. 35–42.

26. Виноградова, Т.П. Регенерация и пересадка костей / Т.П. Виноградова, Г.И. Лаврищева. – М. : Медицина, 1974. – 248 с.

27. Владимирская, Е.Б. Биологические основы и перспективы терапии стволовыми клетками / Е.Б. Владимирская, О.А. Майорова, С.А. Румянцев, А.Г. Румянцев. – М. : Медпрактика, 2005. – 392 с.

28. Волков, А.В. Использование аутогенных клеток костного мозга, адгезированных на гидроксиапатит, в лечении костных кист у взрослых пациентов / А.В. Волков // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* – 2006. – Т. 4. – № 2. – С. 26–27.

29. Воложин, А.И. Остеопороз / А.И. Воложин, В.С. Оганов, М.А. Серебренникова [и др.] ; под ред. А.И. Воложина, В.С. Оганова. – М. : Практическая медицина, 2005. – 238 с.

30. Воложин, Г.А. Тестирование *in vitro* остеогенных потенциалов недифференцированных клеток пародонтальных тканей / Г.А. Воложин, А.А. Докторов, К.С. Десятиченко, Г.В. Мкртчян // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* – 2010. – Т. 5. – № 3. – С. 21.

31. Волчков, С.Е. Определение оптимального источника ММСК для создания банка клеток / С.Е. Волчков, О.В. Тюмина, Л.Е. Волова // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2010. – Т. 5. – № 3. – С. 22.

32. Вольперт, У.В. Заживление костных дефектов ветви нижней челюсти кроликов под биоинженерными конструкциями из титана и золотого сплава с ксеногенными мезенхимальными стволовыми клетками / У.В. Вольперт, О.О. Янушевич, А.С. Григорьян, Н.Н. Мальгинов, А.И. Воложин // Стоматология. – 2009. – № 1. – С. 4–8.

33. Воробьев, К.А. Современные способы обработки и стерилизации аллогенных костных тканей (обзор литературы) / К.А. Воробьев, С.А. Божкова, Р.М. Тихилов, А.Ж. Черный // Травматология и ортопедия России. – 2017. – Т. 23. – № 3. – 134–147.

34. Глазко, Т.Т. Эпигенетическая и мутационная изменчивость эмбриональных стволовых клеток / Т.Т. Глазко // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2010. – Т. V. – № 3. – С. 22–23.

35. Гланц, С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. / С. Гланц. – М. : Практика, 1999. – 459 с.

36. Глотов, В.А. Тканеподобные образования с заданными биологическими свойствами на основе клеточной и тканевой инженерии *in vitro* эндотелиальных капиллярных сетей / В.А. Глотов // Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии : матер. IV Всерос. симпоз. с междунар. участ. (С.-Петербург, 21–22 апреля 2010). – С. 159.

37. Гололобов, В.Г. Регенерация костной ткани при заживлении огнестрельных переломов / В.Г. Гололобов. – СПб. : Петербург, XXI век, 1997. – 160 с.

38. Гололобов, В.Г. Стволовые стромальные клетки и остеобластический клеточный дифферон / В.Г. Гололобов, Р.В. Деев // Морфология. – 2003. – Т. 123. – № 1. – С. 9–19.

39. Гржибовский, А.М. Анализ номинальных данных (независимые наблюдения) / А.М. Гржибовский // Экология человека. – 2008. – № 6. – С. 58–68.

40. Григорьян, А.С. Проблемы интеграции имплантатов в костную ткань (теоретические аспекты) / А.С. Григорьян, А.К. Топоркова. – М. : Техносфера, 2007. – 128 с.

41. Григорьян, А.С. Динамика остеогенетического процесса, вызванного инокуляцией аутогенных мезенхимальных стволовых клеток, выделенных из жировой ткани / А.С. Григорьян, А.А. Орлов, И.Н. Сабурин, В.С. Репин, С.Д. Сысоев // Стоматология. – 2015. – Т. 94. – № 3. – С. 4–8.

42. Григорьянц, Л.А. Применение остеопластических материалов при хирургическом лечении больных с радикулярными кистами, прорастающими в верхнечелюстную синус и полость носа / Л.А. Григорьянц, Н.А. Рабухина, В.А. Бадалян // Клин. стоматология. – 1998. – № 3. – С. 36–38.

43. Грудянов, А.И. Хирургические методы лечения заболеваний пародонта / А.И. Грудянов, А.И. Ерохин. – М. : Мед. информ. агентство, 2006. – 128 с.

44. Грудянов, А.И. Заболевания пародонта / А.И. Грудянов. – М. : Мед. информ. агентство, 2008. – 336 с.

45. Грудянов, А.И. Стволовые клетки и возможности их применения в пародонтологии / А.И. Грудянов // Стоматология. – 2012. – Т. 91. – № 1. – С. 71–75.

46. Гурин, А.Н. Сравнительное исследование замещения дефектов костной ткани остеопластическими материалами на основе альфа- и бета-трикальцийфосфата / А.Н. Гурин, В.С. Комлев, И.В. Фадеева, Н.В. Петракова, Н.С. Варда // Стоматология. – 2012. – Т. 91. – № 6. – С. 16–21.

47. Гурин, А.Н. Сравнительная характеристика материалов на основе хитозана, альгината и фибрина в комплексе с бета-трикальцийфосфатом для

остеопластики (экспериментально-морфологическое исследование) / А.Н. Гурин, В.С. Комлев, А.Ю. Федотов, А.Л. Берковский, В.Е. Мамонов, А.С. Григорьян // Стоматология. – 2014. – Т. 93. – № 1. – С. 4–10.

48. Гусева, И.Е. Гармонический анализ изображений в оценке морфологических изменений в костной ткани челюстей мини-свиней при нормальной и повышенной функциональной нагрузке / И.Е. Гусева, М.Ю. Житков, Н.К. Логинова, А.В. Мохов // Стоматология. – 2014. – Т. 93. – № 5. – С. 9–12.

49. Данилов, Р.К. Вклад ученых-гистологов Военно-медицинской академии в разработку учения о тканях. Актуальные вопросы гистогенеза и регенерации. Общие принципы организации тканей позвоночных / Р.К. Данилов // Фундаментальные и прикладные проблемы гистологии : гистогенез и регенерация тканей : труды ВМедА ; под ред. Р.К. Данилова. – СПб. : ВМедА, 2004. – Т. 257. – С. 11–47.

50. Данилов, Р.К. Раневой процесс: гистогенетические основы / Р.К. Данилов. – СПб. : ВМедА им. С.М. Кирова, 2007. – 380 с.

51. Деев, Р.В. Посттравматическая регенерация костной ткани при трансплантации культуры костномозговых стромальных клеток (экспериментальное исследование) : дис. ... канд. мед. наук / Р.В. Деев. – СПб., 2006. – 175 с.

52. Деев, Р.В. Клеточные технологии в травматологии и ортопедии: пути развития / Р.В. Деев, А.А. Исаев, А.Ю. Кочиш, Р.М. Тихилов // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2007. – № 4. – С. 18–30.

53. Деев, Р.В. Судьба пересаженных в костную рану мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток / Р.В. Деев, И.Я. Бозо, Н.В. Цупкина, И.В. Честков, М.С. Калигин, Г.П. Пинаев // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2010. – Т. 5. – № 3. – С. 25–26.

54. Деев, Р.В. Тканеинженерный эквивалент кости: методологические основы создания и биологические свойства / Р.В. Деев, Н.В. Цупкина,

М.С. Калигин, И.Я. Бозо, А.Р. Гребнев, А.А. Исаев, Г.П. Пинаев // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2011. – Т. 6. – № 1. – С. 62–67.

55. Деев Р.В., Дробышев А.Ю., Бозо И.Я. Ординарные и активированные остеопластические материалы / Р.В. Деев, А.Ю. Дробышев, И.Я. Бозо // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2015. – № 1. – С. 51–65.

56. Долгалев, А.А. Методы коррекции альвеолярного отростка биокерамическими материалами при дентальной имплантации / А.А. Долгалев, В.И. Гречишников, Н.Н. Заплешко // Пробл. стоматологии и нейростоматологии. – 1999. – № 2. – С. 31–35.

57. Долгушин, И.И. Иммунология травмы / И.И. Долгушин, Л.Я. Эберт, Р.И. Лифшиц. – Свердловск : Медицина, 1989. – 188 с.

58. Дробышев, А.Ю. Экспериментальное обоснование и практическое применение отечественных биокомпозиционных материалов при костно-восстановительных операциях на челюстях : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / А.Ю. Дробышев. – М., 2001. – 46 с.

59. Дробышев, А.Ю. Возможности костной пластики и distraction для увеличения параметров альвеолярного отростка верхней и нижней челюсти при подготовке к дентальной имплантации / А.Ю. Дробышев, И.Ю. Чаусская, А.А. Егорова // Мед. алфавит. – 2011. – Т. 2. – № 6. – С. 26–29.

60. Дулаев, А.К. Оптимизация репаративного остеогенеза трансплантацией стромальных клеток костного мозга / А.К. Дулаев, Р.В. Деев, Н.С. Николаенко, Н.В. Цупкина, Г.П. Пинаев // Клеточная трансплантология. – 2004. – Т. 3. – С. 15–16.

61. Дурново, Е.А. Воспалительные заболевания челюстно-лицевой области: диагностика и лечение с учетом иммунореактивности организма : монография / Е.А. Дурново ; Нижегородская гос. мед. акад. – Нижний Новгород, 2007. – 196 с.

62. Дурново, Е.А. Оценка эффективности применения деминерализованного костного трансплантата в хирургическом лечении

больных с периапикальными воспалительно-деструктивными процессами челюстей / Е.А. Дурново, Н.Б. Рунова // *Стоматология*. – 2007. – Т. 86. – № 1. – С. 38–43.

63. Дурново, Е.А. Анализ хирургических методов увеличения ширины кератинизированной прикрепленной десны / Е.А. Дурново, Н.А. Беспалова, Н.А. Янова, А.И. Корсакова // *Научный посыл высшей школы – реальные достижения практического здравоохранения: сб. науч. трудов, посвященный 30-летию стоматологического факультета Приволжского исследовательского медицинского университета* / Под ред. О.А. Успенской, А.В. Кочубейник. – Н. Новгород : Ремедиум Приволжье, 2018. – С. 146–156.

64. Дюрягин, Н.М. Результаты оптимизации процессов репаративной регенерации нижней челюсти и височно-нижнечелюстного сустава матриксами из никелида титана (экспериментальное исследование) / Н.М. Дюрягин, С.С. Степанов, В.В. Семченко, В.Ю. Гюнтер, Е.Н. Дюрягина // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. – 2014. – Т. 16. – № 4. – С. 78–88.

65. Еремин, И.И. Возможности применения тканеинженерных костных графтов в челюстно-лицевой хирургии / И.И. Еремин, И.Я. Бозо, Г.А. Воложин, Р.В. Деев, С.И. Рожков, П.С. Еремин, В.С. Комлев, В.Л. Зорин, А.А. Пулин, Д.А. Тимашков, Н.К. Витько, К.В. Котенко // *Кремлевская медицина. Клинический вестник*. – 2015. – № 4. – С. 151–157.

66. Жукоцкий, А.В. Проблемы контроля качества продукции клеточных технологий / А.В. Жукоцкий, А.В. Мелерзанов // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. – 2010. – Т. 5. – № 3. – С. 29.

67. Жур, К.В. Искусственный фибриновый сгусток – потенциальный материал для репарации повреждений хрящевой ткани мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками костного мозга человека / К.В. Жур, В.С. Костюнина, Н.В. Гончарова [и др.] // *Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии : сб. тез. IV Всерос. симпозиум (СПб., 21–22 апреля 2010)*. – С. 64–65.

68. Зайченко, А.И. К вопросу о строении и регенерации костной ткани свода черепа у человека / А.И. Зайченко, М.Н. Потанина // Вопросы морфологии костной, сосудистой и нервной систем : Труды Саратовского мед. ин-та. – Саратов, 1968. – С. 53–59.

69. Захаров, Ю.М. Регуляция остеогенной дифференциации мезенхимальных стволовых клеток костного мозга / Ю.М. Захаров // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2013. – Т. 99. – № 4. – С. 417–432.

70. Зерницкий, А.Ю. Роль объема мягких тканей вокруг дентальных имплантатов в развитии периимплантита / А.Ю. Зерницкий, Е.Ю. Медведева // Институт стоматологии. – 2012. – № 1. – С. 80–81.

71. Золотовицкая, Н.Н. Применение клеточных культур фибробластов в лечении атрофических рубцов кожи (экспериментально-клиническое исследование) : дис. ... канд. мед. наук / Н.Н. Золотовицкая. – М., 2007. – 188 с.

72. Зорин, В.Л. Анализ зарубежного рынка регенеративной медицины / В.Л. Зорин, А.И. Зорина, В.Р. Черкасов // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2009. – Т. 4. – № 3. – С. 68–78.

73. Иванов, П.Ю. Применение богатой тромбоцитами плазмы для профилактики атрофии челюстей перед дентальной имплантацией / П.Ю. Иванов, В.П. Журавлев, О.Г. Макеев // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2011. – Т. 1. – № 33. – С. 76–78.

74. Иванов, С.Ю. Реконструктивная хирургия альвеолярной кости / С.Ю. Иванов, А.А. Мураев, Н.Ф. Ямуркова. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 360 с.

75. Иванюк, Д.И. Механизмы иммуномодулирующего действия мезенхимных стволовых клеток / Д.И. Иванюк, В.В. Турчин, А.Г. Попандопуло, В.К. Гринь // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2011. – Т. 6. – № 2. – С. 27–31.

76. Иорданишвили, А.К. Посттравматическая остеорепарация и методы ее оптимизации / А.К. Иорданишвили, А.К. Гололобов // Амбулаторная хирургия. – 2002. – Т. 2. – № 6. – С. 15–18.

77. Иорданишвили, А.К. Заболевания, повреждения и опухоли челюстно-лицевой области : рук-во по клинической стоматологии / В.С. Агапов, А.Р. Андреищев, Е.А. Васьков [и др.] ; под ред. проф. А.К. Иорданишвили. – СПб. : СпецЛит, 2007. – С. 494 с.

78. Калакуцкий, Н.В. Современные технологии при реконструкции нижней челюсти реваскуляризованными аутотрансплантатами / Н.В. Калакуцкий, А.С. Герасимов // Анналы пласт., реконструктив. и эстет. хирургии. – 2010. – № 4. – С. 16–22.

79. Калакуцкий, Н.В. Оценка функции нижней конечности после пересадки васкуляризованного аутотрансплантата из малоберцовой кости у детей при устранении дефектов нижней челюсти / Н.В. Калакуцкий, С.И. Якунин, В.В. Авраменко, К.А. Веселова // Анналы пласт., реконструктив. и эстет. хирургии. – 2016. – № 3. – С. 27–34.

80. Калакуцкий, Н.В. Латеральный край лопатки – новая донорская зона при реконструкции альвеолярного отростка верхней челюсти и альвеолярной части нижней челюсти при подготовке к имплантации / Н.В. Калакуцкий, О.Ю. Петропавловская, И.Н. Калакуцкий, С.В. Садилина // Анналы пласт., реконструктив. и эстет. хирургии. – 2017. – № 3. – С. 66–73.

81. Камилов, Ф.Х. Клеточно-молекулярные механизмы ремоделирования костной ткани и ее регуляция / Ф.Х. Камилов, Е.Р. Фаршатова, Д.А. Еникеев // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 7. – С. 836–842.

82. Канторова, В.И. Возможные источники остеогенеза при регенерации костей свода черепа у взрослых млекопитающих / В.И. Канторова // Цитологические механизмы гистогенезов. – М. : Наука, 1979. – С. 227–229.

83. Карнаухова, А.В. Применение новой силоксановой композиции «эластомед» в восстановительной хирургии / А.В. Карнаухова, Л.А. Бруслова, С.А. Еолчиян, Л.В. Гербова // *Анналы пласт., реконструктив. и эстет. хирургии.* – 2006. – № 4. – С. 83.

84. Карпюк, В.Б. Экспериментальная модель реконструкции кости путем остеогенной трансформации аутотрансплантированных свежевыделенных стромальных клеток жировой ткани / В.Б. Карпюк, М.Д. Перова, В.А. Козлов, М.Г. Шубич, О.Н. Понкина, Е.А. Мельник // *Анналы пласт., реконструктив. и эстет. хирургии.* – 2007. – № 4. – С. 14–18.

85. Кеннет, Е.С. Последние достижения в области костной трансплантации / Е.С. Кеннет // *Последние достижения в пластической хирургии (пер. с англ.).* Под ред. И. Т. Джексона. – М. : Медицина, 1985. – Гл. 15. – С. 267–286.

86. Киселева, Е.В. Перспективы использования стволовых клеток в реконструкции черепно-лицевого скелета / Е.В. Киселева, С.Е.Черняев, А.В. Васильев, А.И.Воложин // *Стоматология.* – 2009. – Т. 88. – № 4. – С. 77–81.

87. Клишов, А.А. Гистогенез и регенерация тканей / А.А. Клишов. – Л. : Медицина, 1984. – 232 с.

88. Конев, В.А. Изучение процессов организации различных остеозамещающих материалов при заполнении костных дефектов (экспериментально-клиническое исследование) : автореф. дис. ... канд. мед. наук / В.А. Конев. – СПб., 2014. – 174 с.

89. Корж, А.А. Репаративная регенерация кости / А.А. Корж, А.М. Белоус, Е.Я. Панков. – М. : Медицина, 1972. – 232 с.

90. Котенко, К.В. Способ малоинвазивного лечения стриктуры уретры / К.В. Котенко, И.И. Еремин, П.С. Кызласов // Пат. RU 2539012; Заяв. 08.02.2013; Оpubл. 10.01.2015.

91. Кравченко, Д.В. Анатомо-структурные показатели костных аутотрансплантатов у пациентов с дефектами челюстей / Д.В. Кравченко,

Е.И. Трофимов, Р.Н. Акимов, Н.В. Пичугина // *Анналы пласт., реконструктив. и эстет. хирургии.* – 2017. – № 1. – С. 57–66.

92. Кречина, Е.К. Нарушения микроциркуляции в тканях пародонта при его заболеваниях и клиничко-функциональное обоснование методов их коррекции : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Е.К. Кречина. – М., 1996. – 43 с.

93. Кузнецов, С.А. Образование костной ткани путем трансплантации стромальных клеток костного мозга и эмбриональных стволовых клеток человека / С.А. Кузнецов, Н. Черман, М. Манкани, П.Г. Робей // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* – 2010. – Т. 5. – № 3. – С. 35–36.

94. Кузьминых, И.А. Клинический опыт использования остеопластического материала Алломатрикс-имплант и фибрина, насыщенного тромбоцитами, при хирургическом лечении радикулярных кист челюстей / И.А. Кузьминых // *Стоматология.* – 2009. – Т. 88. – № 1. – С. 51–53.

95. Кулаков, А.А. Проблема интеграции в дентальной имплантологии / А.А. Кулаков, А.С. Григорян // *Стоматология.* – 2007. – Т. 86. – № 3. – С. 1–8.

96. Кулаков, А.А. Клиническое исследование эффективности применения комбинированного клеточного трансплантата на основе мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани у пациентов с выраженным дефицитом костной ткани в области верхней и нижней челюсти / А.А. Кулаков, Д.В. Гольдштейн, А.С. Григорьян, А.А. Ржанинова, И.С. Алексеева, И.В. Арутюнян, А.В. Волков // *Клеточные технологии в биологии и медицине.* – 2008. – № 4. – С. 206–210.

97. Кулаков, А.А. Биодegradуемые полимерные материалы медицинского назначения (основные направления исследований и перспективы развития) / А.А. Кулаков, А.С. Григорьян // *Стоматология.* – 2014. – Т. 93. – № 2. – С. 63–66.

98. Кулаков, А.А. Реакция тканевых элементов кости на имплантацию синтетических биорезорбируемых материалов на основе молочной и

гликолевой кислот / А.А. Кулаков, А.С. Григорьян // Стоматология. – 2014. – Т. 93. – № 4. – С. 4–7.

99. Кулаков, А.А. Современные подходы к применению метода дентальной имплантации при атрофии и дефектах костной ткани челюстей / А.А. Кулаков, Р.Ш. Гветадзе, Т.В. Брайловская, А.А. Харьковская, Л.С. Дзиковицкая // Стоматология. – 2017. – Т. 96. – № 1. – С. 43–45.

100. Кулаков, О.Б. Применение различных материалов для костной пластики дефектов альвеолярного отростка челюстных костей в сочетании с дентальными имплантатами / О.Б. Кулаков, В.В. Матюнин, А.А. Докторов, А.Г. Малый // Институт стоматологии. – 2004. – № 3. – С. 58–61.

101. Кулаков, О.Б. Показания к применению трансплантатов из ветви нижней челюсти для замещения дефектов альвеолярного отростка челюстей в сочетании с дентальными имплантатами и сравнительный анализ результатов / О.Б. Кулаков, Я.В. Шорстов, С.Н. Супрунов // Институт стоматологии. – 2009. – № 1. – С. 36–38.

102. Лаврищева, Г.И. Морфологические и клинические аспекты репаративной регенерации опорных органов и тканей / Г.И. Лаврищева, Г.А. Оноприенко. – М. : Медицина, 1996. – 208 с.

103. Ламовская, Н.В. Влияние ростовых факторов на эндотелиальную дифференцировку мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток человека *in vitro* / Н.В. Ламовская, М.М. Зафранская, Г.Я. Хулуп // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2010. – Т. V. – № 3. – С. 36–37.

104. Лекишвили, М.В. Новые биопластические материалы в реконструктивной хирургии / М.В. Лекишвили, А.Ф. Панасюк // Вестник РАМН. – 2008. – № 9. – С. 33–36.

105. Лосев, В.Ф. Применение пористого минералнаполненного полилактида с мезенхимальными стромальными клетками костного мозга для стимуляции остеогенеза (экспериментальное исследование) : автореф. дис. ... канд. мед. наук / В.Ф. Лосев. – М., 2009. – 25 с.

106. Лошкарев, В.П. Сравнительная характеристика отдаленных результатов применения биопланта и колапола КП-3 и методика ведения костной раны под кровяным сгустком при хирургическом лечении околокорневых кист / В.П. Лошкарев, Е.В. Баученкова // Стоматология. – 2000. – № 6. – С. 23–26.

107. Лысенко, Л.Н. Остеогенез и возможности остеозамещения / Л.Н. Лысенко // Клиническая имплантология и стоматология. – 2001. – № 1–2. – С. 107–111.

108. Любарский, М.С. Применение стромальных клеток жировой ткани для стимуляции ангиогенеза / М.С. Любарский, И.А. Алтухов, О.В. Повещенко, Н.Р. Мустафаев, Р.И. Аглиулин // Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии : сб. тез. IV Всерос. симпоз. (СПб, 21–22 апреля 2010). – С. 269.

109. Люндуп, А.В. Методы тканевой инженерии костной ткани в челюстно-лицевой хирургии / А.В. Люндуп, Ю.А. Медведев, К.В. Баласанова, Н.М. Золотопуп, С.Б. Бродская, П.А. Елистратов // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2013. – № 5. – С. 10–15.

110. Майбородин, И.В. Влияние аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костномозгового происхождения на регенерацию поврежденной кости нижней челюсти крыс / И.В. Майбородин, В.А. Матвеева, И.С. Колесников, М.Н. Дровосеков, М.С. Тодер, А.И. Шевела // Стоматология. – 2012. – Т. 91. – № 1. – С. 5–8.

111. Малаховская, В.И. Опыт аутотрансплантации жировой ткани, обогащенной стромально-васкулярной клеточной фракцией, для коррекции дефектов челюстно-лицевой области / В.И. Малаховская // Вестник Эстет. Медицины. – 2013. – Т. 12. – № 1. – С. 15–19.

112. Малышев, И.Ю. Тканевая инженерия зуба: направления развития, достижения и нерешенные проблемы / И.Ю. Малышев, О.О. Янушевич // Стоматология. – 2017. – Т. 96. – № 4. – С. 72–79.

113. Мальгинов, Н.Н. Структурная организация костного регенерата в экспериментально воспроизведенных дефектах ветви нижней челюсти под влиянием ксеногенных стромальных клеток // Н.Н. Мальгинов, А.С. Григорьян, Е.Н. Фролова, И.Ю. Лебедеенко, В.Н. Матвеева, А.И. Воложин // Стоматология. – 2009. – Т. 88. – № 4. – С. 34–38.

114. Мамонов, В.Е. Роль мультипотентных мезенхимных стромальных клеток из костного мозга в восстановлении больших костных дефектов / В.Е. Мамонов, Н.В. Сац, И.Н. Шипунова [и др.] // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2010. – Т. 5. – № 3. – С. 38–39.

115. Медведев, Ю.А. Применение имплантатов из тканевого никелида титана для реконструкции нижней стенки глазницы / Ю.А. Медведев, Л.С. Шаманаева, П.С. Петрук, Я. Синь, А.А. Соловьева // Стоматология. – 2014. – Т. 93. – № 3. – С. 35–38.

116. Медик, В.А. Математическая статистика в медицине / В.А. Медик, М.С. Токмачев. – М. : Финансы и статистика, 2007. – 798 с.

117. Миланов, Н.О. Перспективы клинического применения стволовых клеток жировой ткани в пластической хирургии и регенеративной медицине / Н.О. Миланов, О.И. Старцева, А.Л. Истранов, Д.В. Мельников, А.С. Захаренко // Хирургия. – 2014. – № 4. – С. 70–76.

118. Мирошниченко, В.В. Применение клеточных технологий в практической стоматологии / В.В. Мирошниченко, А.В. Урамаева // Университетская медицина Урала. – 2018. – Т. 4. – № 1. – С. 70–73.

119. Митрошенков, П.Н. Сравнительная оценка эффективности пластики тотальных и субтотальных дефектов верхней и средней зон лица с использованием перфорированных экранов из титана и костных аутотрансплантатов / П.Н. Митрошенков // Анналы пласт., реконструктив. и эстет. хирургии. – 2007. – № 4. – С. 32–45.

120. Мусина, Р.А. Сравнение мезенхимальных стволовых клеток, полученных из различных тканей человека / Р.А. Мусина, Е.С. Бекчанова, Г.Т. Сухих // Клеточн. технол. в биол. и мед. – 2005. – № 2. – С. 89–94.

121. Наследов, А.Д. SPSS 19. Профессиональный статистический анализ данных / А.Д. Наследов. – СПб. : Питер, 2011. – 399 с. – С. 321.

122. Неробеев, А.И. Применение биосовместимых рассасывающихся полимеров в восстановительной хирургии / А.И. Неробеев, С.И. Белых, А.С. Григорьян // Мед. техника. – 1994. – № 2. – С. 40–41.

123. Обыденнов, С.А. Основы реконструктивной пластической микрохирургии / С.А. Обыденнов, И.В. Фраучи. – СПб. : Человек, 2000. – 144 с.

124. Оганов, В.С. Остеопенический синдром при дефиците механической нагрузки / В.С. Оганов // Руководство по остеопорозу ; под ред. Л.И. Беневоленской. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003. – С. 442–468.

125. Орехова, Л.Ю. Роль изменений в системе иммунитета при заболеваниях тканей пародонта / Л.Ю. Орехова, Л.Н. Бубнова, Т.В. Глазанова, Н.К. Розанов // Пародонтология. – 1999. – № 1. – С. 27–29.

126. Орехова, Л.Ю. Клинико-лучевая характеристика хронического генерализованного пародонтита / Л.Ю. Орехова, М.А. Чибисова, Н.В. Серова // Пародонтология. – 2013. – № 3 (68). – С. 3–9.

127. Осепян, И.А. Лечение несращений, ложных суставов и дефектов трубчатых костей трансплантацией аутологичных костномозговых фибробластов, выращенных *in vitro* и помещенных на спонгиозный костный матрикс / И.А. Осепян, Р.К. Чайлахян, Е.С. Гарибян // Орт. травматология. – 1987. – № 9. – С. 59–61.

128. Парахонский, А.П. Патогенез и последствия воспалительных заболеваний пародонта / А.П. Парахонский // Соврем. проблемы науки и образования. – 2006. – № 6. – С. 39–40.

129. Парфенова, Е.В. Поиск новых «инструментов» для терапевтического ангиогенеза / Е.В. Парфенова, В.А. Ткачук, Н.И. Калинина [и др.] // Молекулярная медицина. – 2006. – № 2. – С. 10–23.

130. Перова, М.Д. Лечение костных дефектов челюстей с использованием различных мембранных барьеров. Часть 1. Клиническое исследование / М.Д. Перова // Пародонтология. – СПб., 1999. – Т. 11. – № 1. – С. 6–10.

131. Перова, М.Д. Исходы хирургического лечения пародонтита с применением остеозамещающих имплантационных материалов / М.Д. Перова // Новое в стоматологии. – 1999. – № 4. – С. 36–43.

132. Перова, М.Д. Оценка эффективности новой нерезорбируемой ПТФЭ-мембраны при направленной регенерации тканей пародонта / М.Д. Перова, В.Е. Дьяков, Л.М. Федотова, Ю.В. Кортунов // Новое в стоматологии. – 2002. – № 6. – С. 47–57.

133. Перова М.Д. Ткани пародонта: норма, патология, пути восстановления / М.Д. Перова. – М. : Триада Лтд, 2005. – 312 с.

134. Петренко, А.Ю. Перспективы применения в трансплантологии мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в составе гидрогелей, микросфер и широкопористых криогелей на основе альгината / А.Ю. Петренко, Ю.А. Петренко, А.И. Правдюк [и др.] // Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии : сб. тез. IV Всерос. симпоз. (СПб., 21–22 апреля 2010). – С. 176–177.

135. Петри, А. Наглядная статистика в медицине. Пер. с англ. / А. Петри, К. Сэбин. – М. : Гэотар-Мед, 2003. – 144 с.

136. Писаревский, И.Ю. Клиническое значение уровней минеральной плотности челюстных костей при планировании дентальной имплантации / И.Ю. Писаревский, И.И. Бородулина, Ю.Л. Писаревский, А.Б. Сарафанова // Дальневосточный медицинский журнал. – 2012. – № 3. – С. 54–56.

137. Повещенко, О.В. Способы выделения и условия культивирования стромальных клеток жировой ткани человека, полученной из разных источников / О.В. Повещенко, А.П. Колесников, И.И. Ким [и др.] // Бюллетень СО РАМН. – 2008. – Т. 133. – № 5. – С. 90–95.

138. Полежаев, Л.В. Восстановление нерегенерирующих костей черепа у млекопитающих / Л.В. Полежаев // Изв. АН СССР, серия Биология. – 1957. – № 5. – С. 556–571.

139. Применение препарата «Культура клеток диплоидных человека для заместительной терапии» в современной стоматологии. – Екатеринбург : Медицина и Биотехнологии, 2004. – 56 с.

140. Репин, В.С. Эмбриональные стволовые клетки. Фундаментальная биология и медицина / В.С. Репин, А.А. Ржанинова, Д.А. Шаменков. – М. : РеМеТэкс, 2002. – 225 с.

141. Решетов, И.В. Реконструкция челюстно-лицевой зоны реберно-мышечными лоскутам у онкологических больных / И. В. Решетов, С.А. Кравцов, О.В. Маторин, А.П. Поляков, М.М. Филюшин, М.В. Ратушный // Анналы пласт., реконструктив. и эстет. хирургии. – 2004. – № 4. – С. 139–140.

142. Решетов, И.В. Тромбозы микрососудистых анастомозов при реконструктивно-пластических операциях в онкологии / И.В. Решетов, С.А. Кравцов, О.В. Маторин, А.П. Поляков, М.М. Филюшин, М.В. Ратушный // Проблемные ситуации в пластической, реконструктивной и эстетической хирургии и дерматокосметологии : сб. тез. I Междунар. конф. (Москва, 11–13 марта 2004). – М., 2004. – С. 81–82.

143. Решетов, И.В. Использование биокерамических материалов для реконструкции костных дефектов челюстно-лицевой зоны у онкологических больных / И.В. Решетов, Н.С. Сергеева, С.М. Баринов, И.К. Свиридова, В.А. Кирсанова, В.С. Комлев, М.М. Филюшин // Анналы пласт., реконструктив. и эстет. хирургии. – 2012. – № 4. – С. 18–27.

144. Решетов, И.В. Современные биоинженерные конструкции для реконструкции костной ткани / И.В. Решетов, А.С. Зелянин, В.В. Филиппов, Н.В. Харьковская, Н.С. Сукорцева, В.К. Попов, А.В. Миронов, В.С. Комлев // Анналы пласт., реконструктив. и эстет. хирургии. – 2016. – № 1. – С. 50–59.

145. Решетов, И.В. Разработка трехмерного биосовместимого матрикса для задач реконструктивной хирургии / И.В. Решетов, О.И. Старцева, А.Л. Истранов, Б.Н. Люндуп, И.В. Гуляев, Д.В. Мельников, Д.В. Штанский // *Анналы пласт., реконструктив. и эстет. хирургии.* – 2016. – № 2. – С. 85–95.

146. Русанов, В.П. Изучение эффективности аутологичных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани на экспериментальной модели локального пародонтита / В.П. Русанов, Г.Т. Ермуханова, У.Р. Мирзакулова [и др.] // *Medicine (Almaty).* – 2016. – № 4. – Р. 63–67.

147. Ряховский, А.Н. Периотестометрия и реопародонтография в оценке эффективности вантового шинирования при лечении пародонтита / А.Н. Ряховский, Н.К. Логинова, С.А. Котенко // *Институт стоматологии.* – 2007. – № 4. – С. 54.

148. Салафутдинов, И.И. Терапевтический потенциал клеток стромально-васкулярной фракции жировой ткани при регенерации дефектов периферических нервов / И.И. Салафутдинов, Р.Ф. Масгутов, А.А. Богов [и др.] // *Матер. IV Всерос. науч. конф. «Стволовые клетки и регенеративная медицина»*, Москва, 24–27 октября 2011. – С. 69.

149. Семенов, М.Г. Перспективы применения стволовых клеток в реконструктивно-восстановительной хирургии челюстно-лицевой области / М.Г. Семенов, Ю.В. Степанова, Д.О. Трощиева // *Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста.* – 2016. – Т. 4. – № 4. – С. 84–92.

150. Сёмкин, В.А. Амбулаторное лечение пациентов с обширными кистами челюстных костей / В.А. Сёмкин, А.С. Зарецкая // *Стоматология.* – 2010. – Т. 89. – № 3. – С. 34–36.

151. Сёмкин, В.А. Ретроспективный анализ результатов лечения пациентов с деструктивными процессами в зоне корней моляров нижней челюсти / В.А. Сёмкин, З.М. Измайлова, П.А. Колотиков // *Стоматология.* – 2017. – Т. 96. – № 3. – С. 23–25.

152. Семченко, В.В. Фундаментальные и клинические аспекты регенеративной биологии и медицины / В.В. Семченко, С.С. Степанов, Р.М. Дюрягин [и др.] // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2013. – № 4 (46). – С. 138–141.

153. Сергеева, Н.С. Культивирование и характеристика негемопоэтических постнатальных стволовых клеток из жировой ткани человека / Н.С. Сергеева, И.К. Свиридова, В.А. Кирсанова [и др.] // Молекулярная медицина. – 2006. – № 2. – С. 23–29.

154. Синельников, Р.Д. Развитие и возрастные особенности костей / Р.Д. Синельников, Я.Р. Синельников // Атлас анатомии человека : учеб. пособие в 4-х томах. – М. : Медицина, 1989. – Т. 1. – С. 122–132.

155. Сирак, С.В. Субантральная аугментация пористым титаном в эксперименте и клинике / С.В. Сирак, Е.В. Щетинин, А.А. Слетов // Стоматология. – 2016. – Т. 95. – № 1. – С. 55–58.

156. Смышляев, И.А. Оценка безопасности и эффективности внутрисуставного введения стромально-васкулярной фракции жировой ткани для лечения гонартроза: промежуточные результаты клинического исследования / И.А. Смышляев, С.И. Гильфанов, В.А. Копылов [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2017. – Т. 23. – № 3. – С. 17–31.

157. Степанова, И.И. Использование аутофибробластов при лечении пациентов с рецессиями слизистой оболочки и дефицитом десны в области зубов и зубных имплантатов : дис. ... канд. мед. наук / И.И. Степанова. – М., 2009. – 120 с.

158. Сухих, Т.Г. Мезенхимальные стволовые клетки / Т.Г. Сухих, В.В. Малайцев, И.М. Богданова, И.В. Дубровина // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2002. – Т. 133. – № 2. – С. 124–131.

159. Сысолятин, П.Г. Замещение дефектов лицевого скелета деминерализованными костными аллотрансплантатами / П.Г. Сысолятин, Т.В. Ефимова // Стоматология. – 2001. – № 3. – С. 92–94.

160. Тарасенко, С.В. Применение синтетических остеопластических материалов для увеличения параметров альвеолярной кости челюстей перед дентальной имплантацией / С.В. Тарасенко, А.М. Ершова // Стоматология. – 2017. – Т. 96. – № 2. – С. 70–74.

161. Тепляшин, А.С. Способ выделения мезенхимальных стволовых клеток / А.С. Тепляшин // Пат. РФ 2252252 С 12 N 5/08; Заяв. 09.04.2004; Опубл. 20.05.2005; Бюл. № 14; 2004110701/13. – 11 с.

162. Тер-Асатуров, Г.П. Экспериментальная оценка биологических материалов, используемых в реконструктивной хирургии / Г.П. Тер-Асатуров, А.Т. Бигвава, А.Ю. Рябов, Ю.Б. Юрасова, М.В. Лекишвили // Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии : сб. тез. IV Всерос. симпоз. (СПб., 21–22 апреля 2010). – С. 125–128.

163. Терминология, используемая в практике клеточных технологий // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2007. – Т. 1. – № 4. – С. 6–8.

164. Терюшкова, Ж.И. Клиническое наблюдение полного закрытия постлучевого ректовагинального свища методом микроинъекционной аутотрансплантации жировой ткани / Ж.И. Терюшкова, В.С. Васильев, Е.Л. Казачков [и др.] // Колопроктология. – 2016. – № 3 (57). – С.70–76.

165. Трактуев, Д.О. Стромальные клетки жировой ткани – пластический тип клеток, обладающих высоким терапевтическим потенциалом / Д.О. Трактуев, Е.В. Парфенова, В.А. Ткачук, К.Л. Марч // Цитология. – 2006. – Т. 48. – № 2. – С. 83–94.

166. Трунин, Д.А. Особенности регенерации костной ткани при использовании различных остеопластических материалов в эксперименте / Д.А. Трунин, Л.В. Волова, А.Е. Беззубова, В.Л. Кириллова, Е.А. Белозерцева // Стоматология. – 2008. – Т. 87. – № 5. – С. 4–8.

167. Трунин, Д.А. Способ хирургического лечения пародонтита с применением композиции аллоимплантатов / Д.А. Трунин, В.П. Кириллова, И.В. Бажутова // Пародонтология. – 2008. – № 1 (46). – С. 40–44.

168. Тюменцева, Н.В. Восстановление микрососудистого русла при трансплантации клеток различных тканей / Н.В. Тюменцева, Б.Г. Юшков, Р.К. Гафарова // Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии : сб. тез. IV Всерос. симпоз. (СПб., 21–22 апреля 2010) – С. 192–193.

169. Усиков, Д.В. Морфологические и клинические аспекты репаративной регенерации костной ткани челюстей / Д.В. Усиков, А.К. Иорданишвили, Д.В. Балин, Е.В. Шенгелия. – СПб. : Нордмедиздат, 2014. – 144 с.

170. Ушаков, Р.В. Механизмы тканевой деструкции при пародонтите / Р.В. Ушаков, Т.П. Герасимова // Стоматология. – 2017. – Т. 96. – № 4. – С. 63–66.

171. Ушкалов, Ю.Г. Сравнительная оценка некоторых методов ускорения заживления костных полостей после оперативных вмешательств по поводу одонтогенных кист : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Ю.Г. Ушкалов. – Л., 1972. – 16 с.

172. Федеральный закон «О биомедицинских клеточных продуктах» от 23.06.2016 N 180-ФЗ (ред. от 03.08.2018). Сборник основных федеральных законов РФ [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <https://fzrf.su/zakon/o-biomedicinskih-kletochnyh-produktah-180-fz/>

173. Фатхудинов, Т.Х. Особенности репаративного остеогенеза при трансплантации мезенхимальных стволовых клеток / Т.Х. Фатхудинов, Д.В. Гольдштейн, А.С. Григорьян // Бюлл. эксперим. биол. – 2005. – Т. 140. – № 7. – С. 109–113.

174. Фионова, Э.В. Репаративные процессы в нижней челюсти кроликов при использовании остеопластического материала ИНДОСТ пластины с мезенхимальными стромальными клетками / Э.В. Фионова, К.С. Десятниченко, А.А. Докторов, А.И. Воложин // Cathedra. – 2008. – № 1. – С. 16–20.

175. Фролова, Е.Н. Заживление костного дефекта в челюсти кроликов под влиянием ксеногенных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга, культивированных на титановых носителях / Е.Н. Фролова, Н.И. Мальгинов, А.С. Григорьян [и др.] // Российский стоматол. журнал. – 2008. – № 3. – С. 12–14.

176. Хлусов, И.А. Концепция «ниша – рельеф» для стволовых клеток как основа биомиметического подхода к инженерии костной и кроветворной тканей / И.А. Хлусов, Н.М. Шевцова, М.Ю. Хлусова, К.В. Зайцев, Ю.П. Шаркеев, В.Ф. Пичугин, Е.В. Легостаева // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2011. – Т. 4. – № 2. – С. 55–64.

177. Хрущов, Н.Г. Тканевые системы со стволовыми клетками / Н.Г. Хрущов // Онтогенез. – 1991. – Т. 22. – № 2. – С. 118–124.

178. Чеканов, А.В. Создание остеоиндуктивных материалов нового поколения для регенерации костной ткани на основе рекомбинантных морфогенетических белков семейства BMP / А. В. Чеканов, И.С. Фадеева, М.В. Лекишвили, В.С. Акатов // Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии : сб. тез. IV Всерос. симпоз. (СПб., 21–22 апреля 2010). – С. 199–200.

179. Чергештов, Ю.И. Иммунный статус больных, перенесших реконструктивные операции на челюсти с использованием разных типов трансплантатов / Ю.И. Чергештов, Т.Г. Сажина, А.И. Воложин // Стоматология. – 1995. – № 1. – С. 46–47.

180. Шарифуллина, С.З. Выделение мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани человека и их характеристика / С.З. Шарифуллина, Н.И.Чупкиова, М.С. Ростовская, А.С. Тепляшин // Цитология. – 2004. – Т. 46. – № 10. – С. 947.

181. Шаркеев, Ю.П. Изучение состава и свойств костнопластических аллобиоматериалов / Ю.П. Шаркеев, И.А. Кирилова, В.Т. Подорожная, Е.В. Легостаева, П.В. Уваркин // Актуальные вопросы тканевой и клеточной

трансплантологии : сб. тез. IV Всерос. симпоз. (СПб., 21–22 апреля 2010) – С. 140–141.

182. Шафеев, И.Р. Клиническая характеристика пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта и дефектами твердых тканей и зубных рядов / И.Р. Шафеев, А.И. Булгакова, И.В. Валеев, Г.Ш. Зубаирова // Пародонтология. – 2014. – № 4 (73). – С. 59–62.

183. Швырков, М.Б. Стадийность регенерации кости и основы фармакологической коррекции репаративного остеогенеза нижней челюсти / М.Б. Швырков // Стоматология. – 2012. – Т. 91. – № 1. – С. 9–12.

184. Шевцов, В.И. Морфологическая характеристика ранних стадий репаративного процесса при замещении дефектов костей черепа методом дозированной дистракции (сообщение II) / В.И. Шевцов, А.М. Чиркова, А.Н. Дьячков // Вестн. травм. и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2000. – № 1. – С. 61–66.

185. Шинкевич, В.И. Роль клеточных факторов иммунитета в ремоделировании тканей десны при хроническом генерализованном пародонтите / В.И. Шинкевич, И.П. Кайдашев // Стоматология. – 2012. – Т. 91. – № 1. – С. 23–27.

186. Шишацкая, Е.И. Полигидроксиалканоаты как матрикс в клеточных технологиях / Е.И. Шишацкая, Т.Г. Волова // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2010. – Том V. – № 3. – С. 55–56.

187. Шубич, М.Г. На пути к открытию стволовых клеток костного мозга / М.Г. Шубич // Морфология. – 2001. – Т. 119. – № 1. – С. 94–95.

188. Щепкина, Е.А. Особенности репаративных процессов при использовании аутогенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток на деминерализованном костном трансплантате при лечении ложных суставов бедренной и большеберцовой костей / Е.А. Щепкина, П.В. Кругляков, Л.Н. Соломин [и др.] // Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии : сб. тез. IV Всерос. симпоз. (СПб., 21–22 апреля 2010). – С. 203–204.

189. Щипский, А.В. Причины рецидива кистозных образований челюстей / А.В. Щипский, И.В. Годунова // *Стоматология*. – 2016. – Т. 95. – № 2. – С. 84–88.
190. Яременко, А.И. Современные остеопластические и остеокондуктивные материалы. Состояние проблемы. Перспективы применения в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии / А.И. Яременко, Д.В. Галецкий, В.О. Королев // *Институт стоматологии*. – 2011. – № 2 (51). – С. 70–71.
191. Яременко, А.И. Возможности применения полимерной матрицы на основе хитозана для возмещения дефекта верхней челюсти. Экспериментальное исследование / А.И. Яременко, Д.Н. Суслов, А.В. Лысенко, П.В. Попрядухин, В.Е. Юдин // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. – 2016. – № 5–2. – С. 259–261.
192. Acocella, A. Clinical, histological and histomorphometric evaluation of the healing of mandibular ramus bone block grafts for alveolar ridge augmentation before implant placement / A. Acocella, R. Bertolai, M. Colafranceschi, R. Sacco // *J. Craniomaxillofac. Surg.* – 2010. – Vol. 38. – № 3. – P. 222–230.
193. Aichelmann-Reidy, M.E. Predictability of clinical outcomes following regenerative therapy in intrabony defects / M.E. Aichelmann-Reidy, M.A. Reynolds // *J. Periodontol.* – 2008. – Vol. 79. – № 3. – P. 387–393.
194. Aimetti, M. Autologous dental pulp stem cells in periodontal regeneration: a case report / M. Aimetti, F. Ferrarotti, L. Cricenti [et al.] // *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* – 2014. – Vol. 34, Supp. 13. – P. 27–33.
195. Akbay, E. Reconstruction of isolated mandibular bone defects with non-vascularized corticocancellous bone autograft and graft viability / E. Akbay, F. Aydogan // *Auris Nasus Larynx.* – 2014. – Vol. 41. – № 1. – P. 56–62.
196. Albandar, J.M. Periodontal disease surveillance / J.M. Albandar // *J. Periodontol.* – 2007. – Vol. 78. – № 7. – P. 1179–1181.

197. Albanese, M. Fresh-frozen human bone graft to repair defect after mandibular giant follicular cyst removal: a case report / M. Albanese, P. Procacci, G. Sancassani, P.F. Nocini // *Cell Tissue Bank.* – 2012. – Vol. 13. – № 2. – P. 305–313.

198. Albelda, S.M. Molecular and cellular properties of PECAM-1 (endoCAM/CD31): a novel vascular cell-cell adhesion molecule / S.M. Albelda, W.A. Muller, C.A. Buck, P.J. Newman // *J. Cell Biol.* – 1991. – Vol. 114. – № 5. – P. 1059–1068.

199. Alexander, R.W. Understanding Mechanical Emulsification (Nanofat) Versus Enzymatic Isolation of Tissue Stromal Vascular Fraction (tSVF) Cells from Adipose Tissue: Potential Uses in Biocellular Regenerative Medicine / R.W. Alexander // *J. Prolotherapy.* – 2016. – Vol. 8. – P. e947–e960.

200. Allen, M.R. Periosteum: biology, regulation, and response to osteoporosis therapies / M.R. Allen, J.M. Hock, D.B. Burr // *Bone.* – 2004. – Vol. 35. – P. 1003–1012.

201. Alvira-Gonzalez, J. Assessment of bone regeneration using adipose-derived stem cells in critical-size alveolar ridge defects: an experimental study in a dog model / J. Alvira-Gonzalez, M.A. Sanchez-Garces, J.R. Cairo [et al.] // *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* – 2016. – Vol. 31. – № 1. – P. 196–203.

202. Amable, P.R. Protein synthesis and secretion in human mesenchymal cells derived from bone marrow, adipose tissue and Wharton's jelly / P.R. Amable, M.V. Teixeira, R.B. Carias [et al.] // *Stem Cell Res. Ther.* – 2014. – Vol. 5. – № 2. – P. 53.

203. Anitua, E. Bilateral sinus elevation evaluating plasma rich in growth factors technology: a report of five cases / E. Anitua, R. Prado, G. Orive // *Clin. Implant. Dent. Relat. Res.* – 2012. – Vol. 14. – № 1. – P. 51–60.

204. Aronowitz, J.A. Adipose stromal vascular fraction isolation: a head-to-head comparison of four commercial cell separation systems / J.A. Aronowitz, J.A. Ellenhorn // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2013. – Vol. 132. – № 6. – P. 932e–939e.

205. Aronowitz, J.A. Mechanical versus enzymatic isolation of stromal vascular fraction cells from adipose tissue [Электронный ресурс] / J.A. Aronowitz, R.A. Lockhart, C.S. Hakakian // Springerplus. – 2015. – Vol. 4. – URL : <https://doi.org/10.1186/s40064-015-1509-2>

206. Aruffo, A. CD44 is the principal cell surface receptor for hyaluronate / A. Aruffo, I. Stamenkovic, M. Melnick [et al.] // Cell. – 1990. – Vol. 61. – № 7. – P. 1303–1313.

207. Ashjian, P.H. In vitro differentiation of human processed lipoaspirate cells into early neural progenitors / P.H. Ashjian, A.S. Elbarbary, B. Edmonds [et al.] // Plast. Reconstr. Surg. – 2003. – Vol. 111. – № 6. – P. 1922–1931.

208. Aslan, H. Osteogenic differentiation of noncultured immunoisolated bone marrow-derived CD105+ cells / H. Aslan, Y. Zilberman, L. Kandel [et al.] // Stem Cells – 2006. – Vol. 24. – № 7. – P. 1728–1737.

209. Auquier, P. Comparison of anxiety, pain and discomfort in two procedures of hematopoietic stem cell collection: leukocytapheresis and bone marrow harvest / P. Auquier, G. Macquart-Moulin, J.P. Moatti [et al.] // Bone Marrow Transplant. – 1995. – Vol. 16. – № 4. – P. 541–547.

210. Aust, L. Yield of human adipose-derived adult stem cells from liposuction aspirates / L. Aust, B. Devlin, S.J. Foster [et al.] // Cytotherapy. – 2004. – Vol. 6. – № 1. – P. 7–14.

211. Azari, K. Bone morphogenetic proteins: a review for cranial and maxillofacial surgery / K. Azari, J.S. Doctor, B.A. Doll [et al.] // Oral. Maxillofac. Surg. Clin. North Am. – 2002. – Vol. 14. – № 1. – P. 1–14.

212. Badylak, S.F. Macrophage phenotype as a determinant of biologic scaffold remodeling / S.F. Badylak, J.E. Valentin, A.K. Ravindra [et al.] // Tissue Eng. Part A. – 2008. – Vol. 14. – № 11. – P. 1835–1842.

213. Baer, P.C. Adipose-derived mesenchymal stromal/stem cells: an update on their phenotype in vivo and in vitro / P.S. Baer // World J. Stem Cells. – 2014. – Vol. 6 – № 3. – P. 256–265.

214. Bansal, H. Intra-articular injection in the knee of adipose derived stromal cells (stromal vascular fraction) and platelet rich plasma for osteoarthritis [Электронный ресурс] / H. Bansal, K. Comella, J. Leon [et al.] // J. Transl. Med. – 2017. – Vol. 15. – № 1. – URL : <https://doi.org/10.1186/s12967-017-1242-4>

215. Barone, A. Morbidity associated with iliac crest harvesting in the treatment of maxillary and mandibular atrophies: a 10-year analysis / A. Barone, M. Ricci, F. Mangano, U. Covani // J. Oral Maxillofac. Surg. – 2011. – Vol. 69. – № 9. – P. 2298–2304.

216. Barry, C.P. Case report – odontogenic keratocysts: enucleation, bone grafting and implant placement: an early return to function / C.P. Barry, G.J. Kearns // J. Ir. Dent. Assoc. – 2003. – Vol. 49. – № 3. – P. 83–88.

217. Bartold, P.M. Principles and applications of cell delivery systems for periodontal regeneration / P.M. Bartold, Y. Xiao, S.P. Lyngstaadas [et al.] // Periodontol. 2000. – 2006. – Vol. 41. – P. 123–135.

218. Bassetti, R.G. Soft tissue augmentation procedures at second-stage surgery: a systematic review / R.G. Bassetti, A. Stahli, M.A. Bassetti, A. Sculean // Clin. Oral Investig. – 2016. – Vol. 20. – № 7. – P. 1369–1387.

219. Bi, H.S. Basic and Clinical Evidence of an Alternative Method to Produce Vivo Nanofat / H.S. Bi, C. Zhang, F.F. Nie [et al.] // Chin. Med. J. (Engl). – 2018. – Vol. 131. – № 5. – P. 588–593.

220. Bianco, P. Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications / P. Bianco, M. Riminucci, S. Gronthos, P.G. Robey // Stem Cells. – 2001. – Vol. 19. – P. 180–192.

221. Bliley, J.M. Imaging the Stromal Vascular Fraction during Soft-Tissue Reconstruction / J.M. Bliley, L. Satish, M.M. McLaughlin [et al.] // Plast. Reconstr. Surg. – 2015. – Vol. 136. – № 6. – P. 1205–1215.

222. Bodner, L. Effect of decalcified freeze-dried bone allograft on the healing of jaw defects after cyst enucleation / L. Bodner // J. Oral Maxillofac. Surg. – 1996. – Vol. 54. – № 11. – P. 1282–1286.

223. Boguest, A.C. Isolation and transcription profiling of purified uncultured human stromal stem cells: alteration of gene expression after in vitro cell culture / A.C. Boguest, A. Shahdadfar, K. Fronsdal [et al.] // *Mol. Biol. Cell.* – 2005. – Vol. 16. – № 3. – P. 1131–1141.

224. Bolle, C. 4 mm long vs longer implants in augmented bone in posterior atrophic jaws: 1-year post-loading results from a multicentre randomised controlled trial / C. Bolle, P. Felice, C. Barausse [et al.] // *Eur. J. Oral. Implantol.* – 2018. – Vol. 11. – № 1. – P. 31–47.

225. Bonab, M.M. Aging of mesenchymal stem cell in vitro / M.M. Bonab, K. Alimoghaddam, F. Talebian [et al.] // *BMC Cell Biol.* – 2006. – Vol. 7. – P. 14.

226. Bonewald, L.F. Osteocytes as dynamic multifunctional cells / L.F. Bonewald // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 2007. – Vol. 1116. – P. 281–290.

227. Bora, P. Adipose tissue-derived stromal vascular fraction in regenerative medicine: a brief review on biology and translation [Электронный ресурс] / P. Bora, A.S. Majumdar // *Stem Cell Res Ther.* – 2017. – Vol. 8. – № 145. – URL : <https://doi.org/10.1186/s13287-017-0598-y>

228. Bourin, P. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT) / P. Bourin, B.A. Bunnell, L. Casteilla [et al.] // *Cytherapy.* – 2013. – Vol. 15. – P. 641–648.

229. Bowles, A.C. Immunomodulatory Effects of Adipose Stromal Vascular Fraction Cells Promote Alternative Activation Macrophages to Repair Tissue Damage / A.C. Bowles, R.M. Wise, B.Y. Gerstein [et al.] // *Stem Cells.* – 2017. – Vol. 35. – № 10. – P. 2198–2207.

230. Brown, B.N. Inductive, scaffold-based, regenerative medicine approach to reconstruction of the temporomandibular joint disk / B. N. Brown, W.L. Chung, A.J. Almarza [et al.] // *J. Oral. Maxillofac. Surg.* – 2012. – Vol. 70. – P. 2656–2668.

231. Buettner, H. Tissue breakdown and exposure associated with orbital hydroxyapatite implants / H. Buettner, G.B. Bartley // *Am. J. Ophthalmol.* – 1992. – Vol. 113. – № 6. – P. 669–673.

232. Bulgin, D. Autologous Bone Marrow-Derived Mononuclear Cells Combined With β -TCP for Maxillary Bone Augmentation in Implantation Procedures / D. Bulgin, E. Hodzic // *J. Craniofac. Surg.* – 2017. – Vol. 28. – № 8. – P. 1982–1987.

233. Buschmann, J. Tissue engineered bone grafts based on biomimetic nanocomposite PLGA/amorphous calcium phosphate scaffold and human adipose-derived stem cells / J. Buschmann, L. Härter, S. Gao [et al.] // *Injury.* – 2012. – Vol. 43. – № 10. – P. 1689–1697.

234. Buschmann, J. Yield and proliferation rate of adipose-derived stromal cells as a function of age, body mass index and harvest site-increasing the yield by use of adherent and supernatant fractions / J. Buschmann, S. Gao, L. Harter [et al.] // *Cytherapy.* – 2013. – Vol. 15. – № 9. – P. 1098–1105.

235. Calabrese, G. Collagen-Hydroxyapatite Scaffolds Induce Human Adipose Derived Stem Cells Osteogenic Differentiation In vitro [Электронный ресурс] / G. Calabrese, R. Giuffrida, C. Fabbi [et al.] // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11, e0151181. – URL : <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151181>

236. Calori, G.M. The use of bone-graft substitutes in large bone defects: any specific needs? / G.M. Calori, E. Mazza, M. Colombo, C. Ripamonti // *Injury.* – 2011. – Vol. 42. – № 2. – P. 56–63.

237. Campbell, M.J. Medical statistics: a textbook for the health sciences / M.J. Campbell, D. Machin, S.J. Walters. – 4th ed. / JohnWiley&Sons, Ltd., 2007. – 331 p.

238. Canalis, E. Effects of platelet-derived growth factor on bone formation in vitro / E. Canalis, T.L. McCarthy, M. Centrella [et al.] // *J. Cell. Physiol.* – 1989. – Vol. 140. – № 3. – P. 530–537.

239. Cao, Y. Human adipose tissue-derived stem cells differentiate into endothelial cells in vitro and improve postnatal neovascularization in vivo /

Y. Cao, Z. Sun, L. Liao [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2005. – Vol. 332. – P. 370–379.

240. Caplan, A.I. Mesenchymal stem cells / A.I. Caplan // *J. Orthop. Res.* – 1991. – Vol. 9. – P. 641–650.

241. Carmeliet, P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis / P. Carmeliet // *Nat. Med.* – 2000. – Vol. 6. – № 4. – P. 389–395.

242. Carnes, D.L. Cells with osteoblastic phenotypes can be expanded from human gingival and periodontal ligament / D.L. Carnes, C.L. Maeder, D.T. Graves // *J. Periodontol.* – 1997. – Vol. 68. – № 7. – P. 701–707.

243. Carstens, M.H. In situ osteogenesis: regeneration of 10-cm mandibular defect in porcine model using recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) and Helistat absorbable collagen sponge / M.H. Carstens, M. Chin, X.J. Li // *J. Craniofac. Surg.* – 2005. – Vol. 16. – P. 1033–1042.

244. Catterson, E.J. Three-dimensional cartilage formation by bone marrow-derived cells seeded in polylactide/alginate amalgam / E.J. Catterson, L.J. Nesti, W.J. Li [et al.] // *J. Biomed. Mater. Res.* – 2001. – Vol. 57. – P. 394–403.

245. Cervelli, V. Application of enhanced stromal vascular fraction and fat grafting mixed with PRP in post-traumatic lower extremity ulcers / V. Cervelli, P. Gentile, B. De Angelis [et al.] // *Stem Cell Res.* – 2011. – Vol. 6. – № 2. – P. 103–111.

246. Cestero, H.J. Regenerative potential of bone and periosteum / H.J. Cestero, K.E. Salyer // *Surg. Forum.* – 1975. – Vol. 26. – P. 555–556.

247. Chacko, R. Spontaneous bone regeneration after enucleation of large jaw cysts: a digital radiographic analysis of 44 consecutive cases / R. Chacko, S. Kumar, A. Paul, Arvind // *J. Clin. Diagn. Res.* – 2015. – Vol. 9. – № 9. – P. 84–89.

248. Chang, M.K. Osteal tissue macrophages are intercalated throughout human and mouse bone lining tissues and regulate osteoblast function in vitro and in vivo / M.K. Chang, L.J. Raggatt, K.A. Alexander [et al.] // *J. Immunol.* – 2008. – Vol. 181. – № 2. – P. 1232–1244.

249. Chen, F.M. Stem cell-delivery therapeutics for periodontal tissue regeneration / F.M. Chen, H.H. Sun, H. Lu, Q. Yu // *Biomaterials*. – 2012. – Vol. 33. – № 27. – P. 6320–6344.

250. Chen, J.C. Mechanical signals promote osteogenic fate through a primary cilia-mediated mechanism / J.C. Chen, D.A. Hoey, M. Chua [et al.] // *FASEB J*. – 2016. – Vol. 30. – № 4. – P. 1504–1511.

251. Chiapasco, M. Alveolar distraction osteogenesis vs. vertical guided bone regeneration for the correction of vertically deficient edentulous ridges: a 1-3-year prospective study on humans / M. Chiapasco, E. Romeo, P. Casentini, L. Rimondini // *Clin. Oral Implants Res*. – 2004. – Vol. 15. – № 1. – P. 82–95.

252. Choi, J.-W. Rapid Induction of Osteogenic Markers in Mesenchymal Stem Cells by Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction Cells / J.-W. Choi, S. Shin, C.Y. Lee [et al.] // *Cell Physiol. Biochem*. – 2017. – Vol. 44. – P. 53–65.

253. Cohen, M.A. Pathways of inflammatory cellular exudates through radicular cyst epithelium: a light and scanning electron microscope study / M.A. Cohen // *J. Oral Pathol*. – 1979. – Vol. 8. – № 6. – P. 369–378.

254. Colangeli, W. Jaw bones regeneration using mesenchymal stem cells. A single-center experience / W. Colangeli, U. Riccelli, A. Giudice [et al.] // *Ann. Ital. Chir*. – 2018. – Vol. 89. – P. 20–23.

255. Coleman, D.L. The foreign reaction: a chronic inflammatory response / D.L. Coleman, R.N. King, J.D. Andrade // *J. Biomed. Mater. Res*. – 1974. – Vol. 8. – P. 199–211.

256. Conejero, J.A. Repair of palatal bone defects using osteogenically differentiated fat-derived stem cells / J.A. Conejero, J.A. Lee, B.M. Parrett [et al.] // *Plast. Reconstr. Surg*. – 2006. – Vol. 117. – № 3. – P. 857–863.

257. Correia, F. The applications of regenerative medicine in sinus lift procedures: A systematic review / F. Correia, D.H. Pozza, S. Gouveia [et al.] // *Clin. Implant. Dent. Relat. Res*. – 2018. – Vol. 20. – № 2. – P. 229–242.

258. Cranin, A.N. Atlas of oral implantology / A.N. Cranin, M. Klein, A. Simons. – New York : Theme Med. Publ., 1993. – 342 p.

259. Cullinan, M.P. Periodontal disease and systemic illness: Will the evidence ever be enough? / M.P. Cullinan, G.J. Seymour // *Periodontol.* 2000. – 2013. – Vol. 62. – № 1. – P. 271–286.

260. Cunha, G. Atrophic Maxilla Reconstruction With Autogenous Iliac Graft and Guided Dental Implants / G. Cunha, A.F.L. Rocha, V.A.P. Filho [et al.] // *J. Craniofac. Surg.* – 2018. – Vol. 29. – № 8. – P. 2218–2219.

261. De Baat, P. Development, physiology, and cell activity of bone / P. de Baat, M.P. Heijboer, C. de Baat // *Ned. Tijdschr. Tandheelkd.* – 2005. – Vol. 112. – № 7. – P. 258–263.

262. De Groot, R.J. Bone augmentation followed by implant surgery in the edentulous mandible: A systematic review / R.J. de Groot, M.A.E.M. Oomens, T. Forouzanfar, E.A.J.M. Schulten // *J. Oral Rehabil.* – 2018. – Vol. 45. – № 4. – P. 334–343.

263. Deijkers, R.L. Contamination of bone allografts: analysis of incidence and predisposing factors / R.L. Deijkers, R.M. Bloem, P.L. Petit [et al.] // *J. Bone Joint Surg. Br.* – 1997. – Vol. 79. – № 1. – P. 161–166.

264. De Lange, G.L. A histomorphometric and micro-computed tomography study of bone regeneration in the maxillary sinus comparing biphasic calcium phosphate and deproteinized cancellous bovine bone in a human split-mouth model / G.L. de Lange, J.R. Overman, E. Farre-Guasch [et al.] // *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.* – 2014. – Vol. 117. – P. 8–22.

265. De Miguel, M.P. Immunosuppressive properties of mesenchymal stem cells: advances and applications / M.P. de Miguel, S. Fuentes-Julian, A. Blazquez-Martinez [et al.] // *Curr. Mol. Med.* – 2012. – Vol. 12. – № 5. – P. 574–591.

266. De Ugarte, D.A. Comparison of multi-lineage cells from human adipose tissue and bone marrow / D.A. de Ugarte, K. Morizono, A. Elbarbary [et al.] // *Cells Tissues Organs.* – 2003. – Vol. 174. – № 3. – P. 101–109.

267. Dewi, A.H. The use of hydroxyapatite bone substitute grafting for alveolar ridge preservation, sinus augmentation, and periodontal bone defect:

A systematic review [Электронный ресурс] / A.H. Dewi, I.D. Ana // *Heliyon*. – 2018. – Vol. 4. – № 10. – P. e00884. – URL : <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00884>

268. Dhote, R. Stem cells cultured on beta tricalcium phosphate (β -TCP) in combination with recombinant human platelet-derived growth factor – BB (rh-PDGF-BB) for the treatment of human infrabony defects / R. Dhote, P. Charde, M. Bhongade, J. Rao // *J. Stem Cells*. – 2015. – Vol. 10. – № 4. – P. 243–254.

269. Di Battista, J.A. Proliferation and differentiation of human adipose-derived mesenchymal stem cells (ASCs) into osteoblastic lineage are passage dependent / J.A. Di Battista, W. Shebaby, O. Kizilay [et al.] // *Inflamm. Res*. – 2014. – Vol. 63. – № 11. – P. 907–917.

270. Di Bella, C. Bone regeneration in a rabbit critical-sized skull defect using autologous adipose-derived cells / C. Di Bella, P. Farlie, A.J. Penington // *Tissue Eng. Part A*. – 2008. – Vol. 14. – № 4. – P. 483–490.

271. Ding, G. Allogeneic periodontal ligament stem cell therapy for periodontitis in swine / G. Ding, Y. Liu, W. Wang [et al.] // *Stem Cells*. – 2010. – Vol. 28. – № 10. – P. 1829–1838.

272. Di Rocco, G. Myogenic potential of adipose-tissue-derived cells / G. Di Rocco, M.G. Iachininoto, A. Tritarelli [et al.] // *J Cell Sci*. – 2006. – Vol. 119, Pt 14. – P. 2945–2952.

273. Di Stefano, D.A. Treatment of a bone defect consequent to the removal of a periapical cyst with equine bone and equine membranes: clinical and histological outcome / D.A. Di Stefano, M. Andreasi Bassi, L. Cinci, L. Pieri // *Minerva Stomatol*. – 2012. – Vol. 61. – № 11–12. – P. 477–490.

274. Dominici, M. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement / M. Dominici, K. Le Blanc, I. Mueller [et al.] // *Cytotherapy*. – 2006. – Vol. 8. – № 4. – P. 315–317.

275. Dong, Z. The survival condition and immunoregulatory function of adipose stromal vascular fraction (SVF) in the early stage of nonvascularized adipose transplantation [Электронный ресурс] / Z. Dong, Z. Peng, Q. Chang, F. Lu // PLoS One. – 2013. – Vol. 8. – № 11 – URL : <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080364>

276. Dorosz, N. Mandibular ridge reconstruction: A review of contemporary methods / N. Dorosz, M. Dominiak // Adv. Clin. Exp. Med. – 2018. – Vol. 27. – № 8. – P. 1159–1168.

277. Dos-Anjos Vilaboa, S. Age influence on stromal vascular fraction cell yield obtained from human lipoaspirates / S. Dos-Anjos Vilaboa, M. Navarro-Palou, R. Llull // Cytotherapy. – 2014. – Vol. 16. – № 8. – P. 1092–1097.

278. Dragoo, J.L. Tissue-engineered cartilage and bone using stem cells from human infrapatellar fat pads / J.L. Dragoo, B. Samimi, M. Zhu [et al.] // J. Bone Joint Surg. Br. – 2003. – Vol. 85. – № 5. – P. 740–747.

279. Dragoo, J.L. Tissue-engineered bone from BMP-2-transduced stem cells derived from human fat / J.L. Dragoo, J.R. Lieberman, R.S. Lee [et al.] // Plast. Reconstr. Surg. – 2005. – Vol. 115. – № 6. – P. 1665–1673.

280. Duan, X. Application of induced pluripotent stem (iPS) cells in periodontal tissue regeneration / X. Duan, Q. Tu, J. Zhang [et al.] // J. Cell Physiol. – 2011. – Vol. 226. – № 1. – P. 150–157.

281. Edwards, J.T. Osteoinduction of human demineralized bone: characterization in a rat model / J.T. Edwards, M.H. Diegmaun, N.L. Scarborough // Clin. Orthop. Relat. Res. – 1998. – № 357. – P. 219–228.

282. Epstein, N.E. Complications due to the use of BMP/INFUSE in spine surgery: The evidence continues to mount / N.E. Epstein // Surg. Neurol. Int. – 2013. – Vol. 4 (Suppl 5). – P. S343–352.

283. Esfahanizadeh, N. Comparison of lateral window and osteotome techniques in sinus augmentation: histological and histomorphometric evaluation / N. Esfahanizadeh, A.R. Rokn, M. Paknejad [et al.] // J. Dent. (Tehran). – 2012. Summer. – Vol. 9. – № 3. – P. 237–246.

284. Everts, V. The bone lining cell: its role in cleaning Howship's lacunae and initiating bone formation/ V. Everts, J.M. Delaisse, W. Korper [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* – 2002. – Vol. 17. – № 1. – P. 77–90.

285. Fan, J. Adipose-derived stem cells and BMP-2 delivery in chitosan-based 3D constructs to enhance bone regeneration in a rat mandibular defect model / J. Fan, H. Park, M.K. Lee [et al.] // *Tissue Eng. Part A.* – 2014. – Vol. 20. – № 15–16. – P. 2169–2179.

286. Fang, D. Three-Dimensional Printed Scaffolds with Multipotent Mesenchymal Stromal Cells for Rabbit Mandibular Reconstruction and Engineering / D. Fang, M. Roskies, M.N. Abdallah [et al.] // *Methods Mol. Biol.* – 2017. – Vol. 1553. – P. 273–291.

287. Fawzy El-Sayed, K.M. Periodontal regeneration employing gingival margin-derived stem/progenitor cells: An animal study / K.M. Fawzy El-Sayed, S. Paris, S.T. Becker [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 2012. – Vol. 39. – № 9. – P. 861–870.

288. Fazel, S. Cardioprotective c-kit+cells are from the bone marrow and regulate the myocardial balance of angiogenic cytokines / S. Fazel, M. Cimini, L. Chen [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2006. – Vol. 116. – № 7. – P. 1865–1877.

289. Felice, P. Inlay versus onlay iliac bone grafting in atrophic posterior mandible: a prospective controlled clinical trial for the comparison of two techniques / P. Felice, R. Pistilli, G. Lizio [et al.] // *Clin. Implant. Dent. Relat. Res.* – 2009. – Vol. 11. – № 1. – P. 69–82.

290. Feng, R. Application of stem cell technology in dental regenerative medicine / R. Feng, C. Lengner // *Adv. Wound. Care.* – 2013. – Vol. 2. – P. 296–305.

291. Fennema, E.M. Ectopic bone formation by aggregated mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue: A comparative study / E.M. Fennema, L.A.H. Tchang, H. Yuan [et al.] // *J. Tissue Eng. Regen. Med.* – 2018. – Vol. 12. – № 1. – P. e150–e158.

292. Ferraro, G.A. Human adipose CD34(+) CD90(+) stem cells and collagen scaffold constructs grafted in vivo fabricate loose connective and adipose tissues / G.A. Ferraro, F. De Francesco, G. Nicoletti [et al.] // *J. Cell Biochem.* – 2013. – Vol. 114. – P. 1039–1049.

293. Filius, M.A.P. Long-term implant performance and patients' satisfaction in oligodontia / M.A.P. Filius, A. Vissink, M.S. Cune [et al.] // *J. Dent.* – 2018. – Vol. 71. – P. 18–24.

294. Fishero, B.A. Current concepts of bone tissue engineering for craniofacial bone defect repair / B.A. Fishero, N. Kohli, A. Das [et al.] // *Craniofac. Trauma Reconstr.* – 2015. – Vol. 8. – № 1. – P. 23–30.

295. Folkman, J. Self-regulation of growth in three dimensions / J. Folkman, M. Hochberg // *J. Exp. Med.* – 1973. – Vol. 138. – № 4. – P. 745–753.

296. Franceschi, R.T. Multiple signaling pathways converge on the Cbfa1/Runx2 transcription factor to regulate osteoblast differentiation / R.T. Franceschi, G. Xiao, D. Jiang [et al.] // *Connect. Tissue Res.* – 2003. – Vol. 44, Suppl. 1. – P. 109–116.

297. Frazier, T.P. Serially transplanted nonpericytic CD146(–) adipose stromal/stem cells in silk bioscaffolds regenerate adipose tissue in vivo / T.P. Frazier, A. Bowles, S. Lee [et al.] // *Stem Cells.* – 2016. – Vol. 34. – P. 1097–1111.

298. French, D. Retrospective Study of 1087 Anodized Implants Placed in Private Practice: Risk Indicators Associated With Implant Failure and Relationship Between Bone Levels and Soft Tissue Health [Электронный ресурс] / D. French, H. Larjava, M. Tallarico // *Implant. Dent.* – 2018. – URL : <http://doi:10.1097/ID.0000000000000743>

299. Friedman, C.D. Остеосинтез и остеогенез мозгового и лицевого черепа / C.D. Friedman // *Пластическая и реконструктивная хирургия лица*; под ред. А.Д. Пейпла, пер. с англ. – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. – Гл. 55. – С. 737–747.

300. Fu, S. Fate of adipose-derived stromal vascular fraction cells after co-implantation with fat grafts: evidence of cell survival and differentiation in ischemic adipose tissue / S. Fu, J. Luan, M. Xin [et al.] // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2013. – Vol. 132. – № 2. – 363–373.

301. Galindo-Moreno, P. Optimal microvessel density from composite graft of autogenous maxillary cortical bone and anorganic bovine bone in sinus augmentation: influence of clinical variables / P. Galindo-Moreno, M. Padial-Molina, J.E. Fernandez-Barbero [et al.] // *Clin. Oral Implants Res.* – 2010. – Vol. 21. – № 2. – P. 221–227.

302. Galindo-Moreno, P. Morphological evidences of Bio-Oss® colonization by CD44-positive cells / P. Galindo-Moreno, P. Hernandez-Cortes, J. Aneiros-Fernandez [et al.] // *Clin. Oral Implants Res.* – 2014. – Vol. 25. – № 3. – P. 366–371.

303. Galindo-Moreno, P. Histopathological comparison of healing after maxillary sinus augmentation using xenograft mixed with autogenous bone versus allograft mixed with autogenous bone / P. Galindo-Moreno, J.G. de Buitrago, M. Padial-Molina [et al.] // *Clin Oral Implants Res.* – 2018. – Vol. 29. – № 2. – P. 192–201.

304. Garcia-Junior, I.R. Maxillary Alveolar Ridge Atrophy Reconstructed With Autogenous Bone Graft Harvested From the Proximal Ulna / I.R. Garcia-Junior, F.A. Souza, A.A.S. Figueiredo [et al.] // *J. Craniofac. Surg.* – 2018. – Vol. 29. – № 8. – P. 2304–2306.

305. Garg, A.K. The use of platelet-rich plasma to enhance the success of bone grafts around dental implants / A.K. Garg // *Dental Implantol. Update.* – 2000. – Vol. 11. – P. 17–21.

306. Gerritsen, A.E. Tooth loss and oral health-related quality of life: a systematic review and meta-analysis [Электронный ресурс] / A.E. Gerritsen, P.F. Allen, D.J. Witter [et al.] // *Health Qual. Life Outcomes.* – 2010. – Vol. 8. – URL : <http://hqlo.biomedcentral.com/articles/10.1186/1477-7525-8-126>

307. Gimble, J.M. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine / J.M. Gimble, A.J. Katz, B.A. Bunnell // *Circ. Res.* – 2007. – Vol. 100. – P. 1249–1260.

308. Gjerde, C. Cell therapy induced regeneration of severely atrophied mandibular bone in a clinical trial [Электронный ресурс] / C. Gjerde, K. Mustafa, S. Hellem [et al.] // *Stem Cell Res. Ther.* – 2018. – Vol. 9. – URL : <https://doi.org/10.1186/s13287-018-0951-9>.

309. Glowacki, J. Application of the biological principle of induced osteogenesis for craniofacial defects / J. Glowacki, L.D. Kaban, J.E. Murray [et al.] // *Lancet.* – 1981. – Vol. 1. – № 8227. – P. 959–962.

310. Grasy, J. Content of soluble factors and characteristics of stromal vascular fraction cells in lipoaspirates from different subcutaneous adipose tissue depots / J. Grasy, B. Kim, N. Pallua // *Aesthetic Surg. J.* – 2016. – Vol. 36. – P. 831–841.

311. Guo, J. Stromal vascular fraction: A regenerative reality? Part 2: Mechanisms of regenerative action / J. Guo, A. Nguyen, D.A. Banyard [et al.] // *Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* – 2016. – Vol. 69. – № 2. – P. 180–188.

312. Gupta, N. Mesenchymal stem cells enhance survival and bacterial clearance in murine *Escherichia coli* pneumonia / N. Gupta, A. Krasnodembskaya, M. Kapetanaki [et al.] // *Thorax.* – 2012. – Vol. 67. – № 6. – P. 533–539.

313. Gurkan, U.A. The mechanical environment of bone marrow: a review / U.A. Gurkan, O. Akkus // *Ann. Biomed. Eng.* – 2008. – Vol. 36. – № 12. – P. 1978–1991.

314. Haghghat, A. Adipose derived stem cells for treatment of mandibular bone defects: An autologous study in dogs / A. Haghghat, A. Akhavan, B. Hashemi-Beni [et al.] // *Dent. Res. J. (Isfahan).* – 2011. – Suppl. 1. – S. 51–57.

315. Han, J. Stem cells, tissue engineering and periodontal regeneration / J. Han, D. Menicanin, S. Gronthos, P.M. Bartold // *Aust. Dent. J.* – 2014. – Vol. 59, Suppl. 1. – P. 117–130.

316. Han, S. Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction Cells: Update on Clinical Utility and Efficacy / S. Han, H.M. Sun, K.C. Hwang, S.W. Kim // *Crit. Rev. Eukaryot Gene Expr.* – 2015. – Vol. 25. – № 2. – P. 145–152.

317. Hao, J. Mechanobiology of mesenchymal stem cells: Perspective into mechanical induction of MSC fate / J. Hao, Y. Zhang, D. Jing [et al.] // *Acta Biomater.* – 2015. – Vol. 20. – P. 1–9.

318. Hattori, H. Osteogenic potential of human adipose tissue-derived stromal cells as an alternative stem cell source / H. Hattori, M. Sato, K. Masuoka [et al.] // *Cells Tissues Organs.* – 2004. – Vol. 178. – № 1. – P. 2–12.

319. Hauge, E.M. Cancellous bone remodeling occurs in specialized compartments lined by cells expressing osteoblastic markers / E.M. Hauge, D. Qvesel, E.F. Eriksen [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* – 2001. – Vol. 16. – № 9. – P. 1575–1582.

320. Heino, T.J. Osteocytes inhibit osteoclastic bone resorption through transforming growth factor-beta: enhancement by estrogen / T.J. Heino, T.A. Hentunen, H.K. Vaananen // *J. Cell Biochem.* – 2002. – Vol. 85. – № 1. – P. 185–197.

321. Helene, B. Isolation and characterization of human mesenchymal stromal cell subpopulations: comparison of bone marrow and adipose tissue / B. Helene, N. Mehdi, R. Gordana [et al.] // *Stem Cells Dev.* – 2015. – Vol. 24. – № 18. – P. 2142–2157.

322. Helgeland, E. Scaffold-Based Temporomandibular Joint Tissue Regeneration in Experimental Animal Models: A Systematic Review / E. Helgeland, S. Shanbhag, T.O. Pedersen [et al.] // *Tissue Eng. Part B Rev.* – 2018. – Vol. 24. – № 3. – P. 300–316.

323. Hicok, K.C. Human adipose-derived adult stem cells produce osteoid in vivo / K.C. Hicok, T.V. Du Laney, Y.S. Zhou [et al.] // *Tissue Eng.* – 2004. – Vol. 10. – № 3–4. – P. 371–380.

324. Hirose, Y. Comparison of trophic factors secreted from human adipose-derived stromal vascular fraction with those from adipose-derived stromal/stem

cells in the same individuals / Y. Hirose, Y. Funahashi, Y. Matsukawa [et al.] // *Cytherapy*. – 2018. – Vol. 20. – P. 589–591.

325. Hu, J.J. Bone defect repair with a new tissue-engineered bone carrying bone morphogenetic protein in rabbits / J.J. Hu, D. Jin, D.P. Quan [et al.] // *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*. – 2005. – Vol. 25. – № 11. – P. 1369–1374.

326. Huang, C. Effect of hydrostatic pressure on bone regeneration using human mesenchymal stem cells / C. Huang, R. Ogawa // *Tissue Eng. Part A*. – 2012. – Vol. 18. – № 19–20. – P. 2106–2113.

327. Huang, G.T. Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine / G.T. Huang, S. Gronthos, S. Shi // *J. Dent. Res.* – 2009. – Vol. 88. – № 9. – P. 792–806.

328. Huri, P.Y. Myogenic Differentiation of ASCs Using Biochemical and Biophysical Induction / P.Y. Huri, J. Morrissette-McAlmon, W.L. Grayson // *Methods Mol. Biol.* – 2018. – Vol. 1773. – P. 123–135.

329. Im, G.I. Do adipose tissue-derived mesenchymal stem cells have the same osteogenic and chondrogenic potential as bone marrow-derived cells? / G.I. Im, Y.W. Shin, K.B. Lee // *Osteoarthritis Cartilage*. – 2005. – Vol. 13. – № 10. – P. 845–853.

330. Im, S.Y. Growth factor releasing porous poly (epsilon-caprolactone)-chitosan matrices for enhanced bone regenerative therapy / S.Y. Im, S.H. Cho, J.H. Hwang, S.J. Lee // *Arch. Pharm. Res.* – 2003. – Vol. 26. – № 1. – P. 76–82.

331. Iohara, K. A novel combinatorial therapy with pulp stem cells and granulocyte colony-stimulating factor for total pulp regeneration / K. Iohara, M. Murakami, N. Takeuchi [et al.] // *Stem Cells Transl. Med.* – 2013. – Vol. 2. – P. 521–533.

332. Jabbar, S. Osteoprotegerin RANKL and bone turnover in postmenopausal osteoporosis / S. Jabbar, J. Drury, J.N. Nordham [et al.] // *J. Clin. Pathol.* – 2011. – Vol. 64. – № 4. – P. 354–357.

333. Jager, M. Proliferation and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells cultured onto three different polymers in vitro / M. Jager, T. Feser, H. Denck, R. Krauspe // *Ann. Biomed. Eng.* – 2005. – Vol. 33. – № 10. – P. 1319–1332.

334. Jalaluddin, M. Effectiveness of Platelet Rich Plasma and Bone Graft in the Treatment of Intrabony Defects: A Clinico-radiographic Study / M. Jalaluddin, J. Mahesh, R. Mahesh [et al.] // *Open Dent J.* – 2018. – Vol. 12. – P. 133–154.

335. Jazayeri, H.E. A current overview of materials and strategies for potential use in maxillofacial tissue regeneration / H.E. Jazayeri, M. Tahriri, M. Razavi [et al.] // *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.* – 2017. – Vol. 70. – № 1. – P. 913–929.

336. Jemt, T. A retro-prospective effectiveness study on 3448 implant operations at one referral clinic: A multifactorial analysis. Part II: Clinical factors associated to peri-implantitis surgery and late implant failures / T. Jemt // *Clin. Implant. Dent. Relat. Res.* – 2017. – Vol. 19. – № 6. – P. 972–979.

337. Jensen, O.T. Anterior maxillary alveolar distraction osteogenesis: a prospective 5-year clinical study / O.T. Jensen, R. Cockrell, L. Kuhike, G. Reed // *Int J. Oral Maxillofac. Implants.* – 2002. – Vol. 17. – № 1. – P. 52–68.

338. Jensen, S.S. Long-term stability of contour augmentation in the esthetic zone: histologic and histomorphometric evaluation of 12 human biopsies 14 to 80 months after augmentation / S.S. Jensen, D.D. Bosshardt, R. Gruber, D. Buser // *J. Periodontol.* – 2014. – Vol. 85. – № 11. – P. 1549–1556.

339. Jiang, J. Application of autologous periosteal cells for the regeneration of class III furcation defects in Beagle dogs / J. Jiang, X. Wu, M. Lin // *Cytotechnology.* – 2010. – Vol. 62. – № 3. – P. 235–243.

340. Jun, S.H. A prospective study on the effectiveness of newly developed autogenous tooth bone graft material for sinus bone graft procedure / S.H. Jun, J.S. Ahn, J.I. Lee [et al.] // *J. Adv. Prosthodont.* – 2014. – Vol. 6. – № 6. – P. 528–538.

341. Jurgens, W.J. Effect of tissue-harvesting site on yield of stem cells derived from adipose tissue: implications for cell-based therapies / W.J. Jurgens, M.J. Oedayrajsingh-Varma, M.N. Helder [et al.] // *Cell Tissue Res.* – 2008. – Vol. 332. – № 3. – P. 415–426.

342. Kakabadze, A. Reconstruction of mandibular defects with autogenous bone and decellularized bovine bone grafts with freeze-dried bone marrow stem cell paracrine factors / A. Kakabadze, K. Mardaleishvili, G. Loladze [et al.] // *Oncol. Lett.* – 2017. – Vol. 13. – № 3. – P. 1811–1818.

343. Kaku, M. Cell-based bone regeneration for alveolar ridge augmentation--cell source, endogenous cell recruitment and immunomodulatory function / M. Kaku, Y. Akiba, K. Akiyama [et al.] // *J. Prosthodont. Res.* – 2015. – Vol. 59. – № 2. – P. 96–112.

344. Kamakura, T. Autologous cell-enriched fat grafting for breast augmentation / T. Kamakura, K. Ito // *Aesthetic Plast. Surg.* – 2011. – Vol. 35. – № 6. – P. 1022–1030.

345. Kamioka, H. A three-dimensional distribution of osteocyte processes revealed by the combination of confocal laser scanning microscopy and differential interference contrast microscopy / H. Kamioka, T. Honjo, T. Takano-Yamamoto // *Bone.* – 2001. – Vol. 28. – № 2. – P. 145–149.

346. Kan, I. Integral therapeutic potential of bone marrow mesenchymal stem cells / Kan I., Melamed E., Offen D. // *Curr. Drug Targets.* – 2005. – Vol. 6. – № 1. – P. 31–41.

347. Kanakaris, N.K. Application of BMP-7 to tibial non-unions: a 3-year multicenter experience / N.K. Kanakaris, G.M. Calori, R. Verdonk [et al.] // *Injury.* – 2008. – Vol. 39, Suppl. 2. – P. S83–S90.

348. Kaneda, K. Ten-year survival of immediate-loading implants in fully edentulous mandibles in the Japanese population: a multilevel analysis / K. Kaneda, Y. Kondo, C. Masaki [et al.] // *J. Prosthodont. Res.* – 2019. – Vol. 63. – № 1. – P. 35–39.

349. Karageorgiou, V. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis / V. Karageorgiou, D. Kaplan // *Biomaterials*. – 2005. – Vol. 26. – № 27. – P. 5474–5491.

350. Karlan, M.S. Potentiation of infections by biomaterials: comparison of three materials / M.S. Karlan, R.A. Mufson, M.B. Grizzard [et al.] // *Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 1981. – Vol. 89. – № 4. – P. 582–534.

351. Karsenty, G. Transcriptional control of skeletogenesis / G. Karsenty // *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* – 2008. – Vol. 9. – P. 183–196.

352. Kawaguchi, H. Enhancement of periodontal tissue regeneration by transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells / H. Kawaguchi, A. Hirachi, N. Hasegawa [et al.] // *J. Periodontol.* – 2004. – Vol. 75. – № 9. – P. 1281–1287.

353. Kelly, D.J. The role of mechanical signals in regulating chondrogenesis and osteogenesis of mesenchymal stem cells / D.J. Kelly, C.R. Jacobs // *Birth Defects Res. Part C, Embryo today*. – 2010. – Vol. 90. – № 1. – P. 75–85.

354. Kemaloglu, C.A. Nanofat grafting under a split-thickness skin graft for problematic wound management [Электронный ресурс] / C.A. Kemaloglu // *Springerplus*. – 2016. – Vol. 5. – № 138. – URL : <https://doi.org/10.1186/s40064-016-1808-2>.

355. Khojasteh, A. Clinical importance of recipient site characteristics for vertical ridge augmentation: a systematic review of literature and proposal of a classification / A. Khojasteh, G. Morad, H. Behnia // *J. Oral Implantol.* – 2013. – Vol. 39. – № 3. – P. 386–398.

356. Khojasteh, A. Guided bone regeneration for the reconstruction of alveolar bone defects / A. Khojasteh, L. Kheiri, S.R. Motamedian, V. Khoshkam // *Ann. Maxillofac. Surg.* – 2017. – Vol. 7. – № 2. – P. 263–277.

357. Khorsand, A. Autologous dental pulp stem cells in regeneration of defect created in canine periodontal tissue / A. Khorsand, M.B. Eslaminejad, M. Arabsolghar [et al.] // *J. Oral Implantol.* – 2013. – Vol. 39. – № 4. – P. 433–443.

358. Khosla, S. Circulating cells with osteogenic potential / S. Khosla, G. Z. Eghbali-Fatourehchi // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2006. – Vol. 1068. – P. 489–497.

359. Kim, H.J. Progressive ankylosis protein (ANK) in osteoblasts and osteoclasts controls bone formation and bone remodeling / H.J. Kim, T. Minashima, E.F. McCarthy [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* – 2010. – Vol. 25. – № 8. – P. 1771–1783.

360. Kim, H.S. Implant survival and patient satisfaction in completely edentulous patients with immediate placement of implants: a retrospective study [Электронный ресурс] / H.S. Kim, H.A. Cho, Y.Y. Kim, H. Shin // *BMC Oral Health.* – 2018. – Vol. 18. – URL : <https://doi.org/10.1186/s12903-018-0669-1>

361. Kim, Y.M. Angiotensin II-induced differentiation of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells to smooth muscle-like cells / Y.M. Kim, E.S. Jeon, M.R. Kim [et al.] // *Int J Biochem Cell Biol.* – 2008. – Vol. 40. – № 11. – P. 2482–2491.

362. Kiyokawa, K. New regenerative surgical treatment of cystic diseases of the jaw by utilizing grafting of cancellous iliac bone and replanting of patient's teeth / K. Kiyokawa, M. Kiyokawa, Y. Tai, S. Tanaka // *J. Craniofac. Surg.* – 2004. – Vol. 15. – № 5. – P. 792–796.

363. Knight, M.N. Mesenchymal stem cells in bone regeneration / Knight M.N., Hankenson K.D. // *Adv. Wound Care (New Rochelle).* – 2013. – Vol. 2. – № 6. – P. 306–316.

364. Knippenberg, M. Osteogenesis versus chondrogenesis by BMP-2 and BMP-7 in adipose stem cells / M. Knippenberg, M.N. Helder, B.Z. Doulabi B [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2006. – Vol. 342. – № 3. – P. 902–908.

365. Koh, Y.J. Stromal vascular fraction from adipose tissue forms profound vascular network through the dynamic reassembly of blood endothelial cells / Y.J. Koh, B.I. Koh, H. Kim [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2011. – Vol. 31. – № 5. – P. 1141–1150.

366. Kokai, L.E. Adipose stem cells: biology and clinical applications for tissue repair and regeneration / L.E. Kokai, K. Marra, J.P. Rubin // *Transl. Res.* – 2014. – Vol. 163. – P. 399–408.

367. Komori, T. Roles of Runx2 in Skeletal Development / T. Komori // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2017. – Vol. 962. – P. 83–93.

368. Kong, Y.Y. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis / Y.Y. Kong, H. Yoshida, I. Sarosi [et al.] // *Nature.* – 1999. – Vol. 397. – № 6717. – P. 315–323.

369. Kondell, P.A. Immunological responses to maxillary on-lay allogenic bone grafts / P.A. Kondell, T. Mattsson, P. Astrand // *Clin. Oral Implants Res.* – 1996. – Vol. 7. – № 4. – P.373–377.

370. Konig, M.A. Direct transplantation of native pericytes from adipose tissue: A new perspective to stimulate healing in critical size bone defects / M.A. Konig, D.D. Canepa, D. Cadosch [et al.] // *Cytherapy.* – 2016. – Vol. 18. – № 1. – P. 41–52.

371. Krasnodembskaya, A. Antibacterial effect of human mesenchymal stem cells is mediated in part from secretion of the antimicrobial peptide LL-37 / A. Krasnodembskaya, Y. Song, X. Fang [et al.] // *Stem Cells.* – 2010. – Vol. 28. – № 12. – P. 2229–2238.

372. Krawiec, J.T. Evaluation of the stromal vascular fraction of adipose tissue as the basis for a stem cell-based tissue-engineered vascular graft / J.T. Krawiec, H.T. Liao, L.L. Kwan [et al.] // *J. Vasc. Surg.* – 2017. – Vol. 66. – № 3. – P. 883–890.

373. Kuci, S. Basic biology and clinical application of multipotent mesenchymal stromal cells: from bench to bedside [Электронный ресурс] / S. Kuci, R. Henschler, I. Muller [et al.] // *Stem Cells Int.* – 2012. – Vol. 2012. – URL : <https://doi.org/10.1155/2012/185943>

374. Kumagai, K. Circulating cells with osteogenic potential are physiologically mobilized into the fracture healing site in the parabiotic mice

model / K. Kumagai, A. Vasanji, J.A. Drazba [et al.] // *J. Orthop. Res.* – 2008. – Vol. 26. – № 2. – P. 165–175.

375. Kuo, Y.R. Adipose-derived stem cells accelerate diabetic wound healing through the induction of autocrine and paracrine effects / Y.R. Kuo, C.T. Wang, J.T. Cheng [et al.] // *Cell Transplantation.* – 2016. – Vol. 25. – № 1. – P. 71–81.

376. Kuznetsov, S.A. A look at the history of bone marrow stromal cells / S.A. Kuznetsov, P.G. Robey // *Graft.* – 2000. – Vol. 3. – № 6. – P. 278–283.

377. Lai, C.F. Signal transductions induced by bone morphogenetic protein-2 and transforming growth factor-beta in normal human osteoblastic cells / C.F. Lai, S.L. Cheng // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol. 277. – № 18. – P. 15514–15522.

378. Lee, J.A. Biological alchemy: engineering bone and fat from fat-derived stem cells / J.A. Lee, B.M. Parrett, J.A. Conejero [et al.] // *Ann. Plast. Surg.* – 2003. – Vol. 50. – № 6. – P. 610–617

379. Lee, M.K. Biomimetic scaffolds facilitate healing of critical-sized segmental mandibular defects / M.K. Lee, A.S. DeConde, M. Lee [et al.] // *Am. J. Otolaryngol.* – 2015. – Vol. 36. – № 1. – P. 1–6.

380. Lee, R.H. Characterization and expression analysis of mesenchymal stem cells from human bone marrow and adipose tissue / R.H. Lee, B. Kim, I. Choi [et al.] // *Cell Physiol. Biochem.* – 2004. – Vol. 14. – № 4–6. – P. 311–324.

381. Lee, S.K. Facial Soft Tissue Augmentation using Autologous Fat Mixed with Stromal Vascular Fraction / S.K. Lee, D.W. Kim, E.S. Dhong [et al.] // *Arch. Plast. Surg.* – 2012. – Vol. 39. – № 5. – P. 534–539.

382. Levi, B. Human adipose derived stromal cells heal critical size mouse calvarial defects [Электронный ресурс] / B. Levi, A.W. James, E.R. Nelson [et al.] // *PLoS One.* – 2010. – Vol. 5. – № 6. – URL : <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011177>

383. Lewallen, E.A. Osteogenic potential of human adipose-tissue-derived mesenchymal stromal cells cultured on 3D-printed porous structured titanium /

E.A. Lewallen, D.L. Jones, A. Dudakovic [et al.] // *Gene*. – 2016. – Vol. 581. – № 2. – P. 95–106.

384. Li, H. Application of autologous cryopreserved bone marrow mesenchymal stem cells for periodontal regeneration in dogs / H. Li, F. Yan, L. Lei [et al.] // *Cells Tissues Organs*. – 2009. – Vol. 190. – P. 94–101.

385. Li, M. C-kit is required for cardiomyocyte terminal differentiation / M. Li, N. Naqvi, E. Yahiro [et al.] // *Circ. Res.* – 2008. – Vol. 102. – № 6. – P. 677–685.

386. Li, X. Sclerostin binds to LRP5/6 and antagonizes canonical Wnt signaling / X. Li, Y. Zhang, H. Kang [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol. 280. – № 20. – P. 19883–19887.

387. Li, Y. B cells and T cells are critical for the preservation of bone homeostasis and attainment of peak bone mass in vivo / Y. Li, G. Toraldo, A. Li [et al.] // *Blood*. – 2007. – Vol. 109. – № 9. – P. 3839–3848.

388. Li, Z. Repair of mandible defect with tissue engineering bone in rabbits / Z. Li, Z. B. Li // *ANZ J. Surg.* – 2005. – Vol. 75. – № 11. – P. 1017–1021.

389. Lilla, J.A. The long-term effects of hard alloplastic implants when put on bone / J.A. Lilla, L.M. Vistnes, R.P. Jobe // *Plast. Reconstr. Surg.* – 1976. – Vol. 58. – № 1. – P. 14–18.

390. Lima Junior, S.M. Analysis of 40 cases of intraoral verticosagittal ramus osteotomies to treat dentofacial deformities / S.M. Lima Junior, R. Granato, C. Marin [et al.] // *J. Oral Maxillofac. Surg.* – 2009. – Vol. 67. – № 9. – P. 1840–1843.

391. Lin, G.H. The significance of keratinized mucosa on implant health: a systematic review / G.H. Lin, H.L. Chan, H.L. Wang // *J. Periodontol.* – 2013. – Vol. 84. – № 12. – P. 1755–1767.

392. Lin, G.H. Recombinant human bone morphogenetic protein 2 outcomes for maxillary sinus floor augmentation: a systematic review and meta-analysis / G.H. Lin, G. Lim, H.L. Chan [et al.] // *Clin. Oral Implants Res.* – 2016. – Vol. 27. – № 11. – P. 1349–1359.

393. Lo Furno, D. Neural differentiation of human adipose-derived mesenchymal stem cells induced by glial cell conditioned media / D. Lo Furno, G. Mannino, R. Giuffrida [et al.] // *J. Cell Physiol.* – 2018. – Vol. 233. – № 10. – P. 7091–7100.

394. Lo, Y.P. Three-dimensional spherical spatial boundary conditions differentially regulate osteogenic differentiation of mesenchymal stromal cells [Электронный ресурс] / Y.P. Lo, Y.S. Liu, M.G. Rimando [et al.] // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6. – URL : <http://www.nature.com/articles/srep21253>

395. Lutolf, M.P. Synthetic biomaterials as instructive extracellular microenvironments for morphogenesis in tissue engineering / M.P. Lutolf, J.A. Hubbell // *Nat. Biotechnol.* – 2005. – Vol. 23. – № 1. – P. 47–55.

396. Maas, M. Endothelial cell PECAM-1 confers protection against endotoxic shock / M. Maas, M. Stapleton, C. Bergom [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2005. – Vol. 288. – P. 159–164.

397. Maglione, M. In vivo evaluation of chitosan-glycerol gel scaffolds seeded with stem cells for full-thickness mandibular bone regeneration / M. Maglione, S. Spano, M.E. Ruaro [et al.] // *J. Oral Sci.* – 2017. – Vol. 59. – № 2. – P. 225–232.

398. Mameno, T. Longitudinal study on risk indicators for peri-implantitis using survival-time analysis [Электронный ресурс] / T. Mameno, M. Wada, Y. Onodera [et al.] // *J. Prosthodont. Res.* – 2018. – Vol. 18. – URL : [https://doi:10.1016/j.jpor.2018.12.002](https://doi.org/10.1016/j.jpor.2018.12.002).

399. Manimaran, K. Regeneration of mandibular ameloblastoma defect with the help of autologous dental pulp stem cells and buccal pad of fat stromal vascular fraction / K. Manimaran, S. Rohini, S. Sankaranarayanan, S.M. Perumal // *Ann. Maxillofac. Surg.* – 2016. – Vol. 6. – № 1. – P. 97–100.

400. Mankani, M.H. In vivo bone formation by human marrow stromal cells: Reconstruction of the mouse calvarium and mandible / M.H. Mankani, S.A. Kuznetsov, R.M. Wolfe [et al.] // *Stem cells.* – 2006. – Vol. 24. – № 9. – P. 2140–2149.

401. Mansukhani, A. Signaling by fibroblast growth factors (FGF) and fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2)-activating mutations blocks mineralization and induces apoptosis in osteoblasts / A. Mansukhani, P. Bellosta, M. Sahni, C. Basilico // *J. Cell Biol.* – 2000. – Vol. 149. – № 6. – P. 1297–1308.

402. Mao, J.J. Craniofacial tissue engineering by stem cells / J.J. Mao, W.V. Giannobile, J.A. Helms [et al.] // *J. Dent. Res.* – 2006. – Vol. 85. – P. 966–979.

403. Mao, J. Cartilage grafts in dorsal nasal augmentation of traumatic saddle nose deformity: a long-term follow-up / J. Mao, M. Carron, S. Tomovic [et al.] // *Laryngoscope.* – 2009. – Vol. 119. – № 11. – P. 2111–2117.

404. Marthy, S. Human immunodeficiency virus activity in rib allografts / S. Marthy, M. Richter // *J. Oral. Maxillofac. Surg.* – 1998. – Vol. 56. – № 4. – P. 474–476.

405. Martin, T.J. Osteoclast-derived activity in the coupling of bone formation to resorption / T.J. Martin, N.A. Sims // *Trends Mol. Med.* – 2005. – Vol. 11. – № 2. – P. 76–81.

406. Massague, J. Transcriptional control by the TGF-beta/Smad signaling system / J. Massague, D. Wotton // *EMBO J.* – 2000. – Vol. 19. – № 8. – P. 1745–1754.

407. Matsumoto, T. Circulating endothelial/skeletal progenitor cells for bone regeneration and healing / T. Matsumoto, R. Kuroda, Y. Mifune [et al.] // *Bone.* – 2008. – Vol. 43. – № 3. – P. 434–439.

408. Matziolis, D. Osteogenic predifferentiation of human bone marrow-derived stem cells by short-term mechanical stimulation / D. Matziolis, J. Tuischer, G. Matziolis [et al.] // *Open Orthop. J.* – 2011. – Vol. 5. – P. 1–6.

409. Mauney, J.R. In vitro and in vivo evaluation of differentially demineralized cancellous bone scaffolds combined with human bone marrow stromal cells for tissue engineering / J.R. Mauney, C. Jaquiere, V. Volloch [et al.] // *Biomaterials.* – 2005. – Vol. 26. – № 16. – P. 3173–3185.

410. Mauney, J.R. Role of adult mesenchymal stem cells in bone tissue engineering applications: current status and future prospects / J.R. Mauney, V. Volloch, D.L. Kaplan // *Tissue Eng.* – 2005. – Vol. 11. – № 5–6. – P. 787–802.

411. Mauney, J.R. Engineering adipose-like tissue in vitro and in vivo utilizing human bone marrow and adipose-derived mesenchymal stem cells with silk fibroin 3D scaffolds / J.R. Mauney, T. Nguyen, K. Gillen [et al.] // *Biomaterials.* – 2007. – Vol. 28. – № 35. – P. 5280–5290.

412. Mayaleh, H.A. Mandibular reconstruction following cyst removal by the autologous cancellous bone and marrow grafts / H. A. Mayaleh, M. Y. Louis // *Rev. Laryngol. Otol. Rhinol. (Bord).* – 2009. – Vol. 130. – № 4–5. – P. 305–306.

413. McIntosh, K. The immunogenicity of human adipose-derived cells: temporal changes in vitro / K. McIntosh, S. Zvonic, S. Garrett [et al.] // *Stem Cells.* – 2006. – Vol. 24, № 5. – P. 1246–1253.

414. McKay, W.F. A comprehensive clinical review of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (INFUSE Bone Graft) / W.F. McKay, S.M. Peckham, J.M. Badura // *Int Orthop.* – 2007. – Vol. 31. – № 6. – P. 729–734.

415. McLean, A.K. Untested, unproven, and unethical: the promotion and provision of autologous stem cell therapies in Australia [Электронный ресурс] / A.K. McLean, C. Stewart, I. Kerridge // *Stem Cell Res. Ther.* – 2015. – Vol. 6. – № 1. – URL : <https://doi.org/10.1186/s13287-015-0047-8>

416. Meirelles, L.S. Methodology, biology and clinical applications of mesenchymal stem cells / L.S. Meirelles, N.B. Nardi // *Front Biosci.* – 2009. – Vol. 14. – P. 4281–4298.

417. Mertens, C. Early bone resorption of free microvascular reanastomized bone grafts for mandibular reconstruction – a comparison of iliac crest and fibula grafts / C. Mertens, C. Decker, M. Engel [et al.] // *J. Craniomaxillofac. Surg.* – 2014. – Vol. 42. – № 5. – P. 217–223.

418. Mezey, E. Mesenchymal stem cells and infectious diseases: Smarter than drugs / E. Mezey, K. Nemeth // *Immunol. Lett.* – 2015. – Vol. 168. – № 2. – P. 208–214.

419. Miguita, L. Can stem cells enhance bone formation in the human edentulous alveolar ridge? A systematic review and meta-analysis / L. Miguita, A. Mantesso, C.M. Pannuti, M.C.Z. Deboni // *Cell Tissue Bank.* – 2017. – Vol. 18. – № 2. – P. 217–228.

420. Mildmay-White, A. Cell Surface Markers on Adipose-Derived Stem Cells: A Systematic Review / A. Mildmay-White, W. Khan // *Curr. Stem Cell Res. Ther.* – 2017. – Vol. 12. – № 6. – P. 484–492.

421. Minguell, J.J. Mesenchymal stem cells / J.J. Minguell, A. Erices, P. Conget // *Exp. Biol. and Med.* – 2001. – Vol. 226. – P. 507–520.

422. Miranville, A. Improvement of postnatal neovascularization by human adipose tissue-derived stem cells / A. Miranville, C. Heeschen, C. Sengenès [et al.] // *Circulation.* – 2004. – Vol. 110. – № 3. – P. 349–355.

423. Mirkovic, S. Application of concentrated growth factors in reconstruction of bone defects after removal of large jaw cysts – the two cases report / S. Mirkovic, T. Djurdjevic-Mirkovic, T. Pugkar // *Vojnosanit Pregl.* – 2015. – Vol. 72. – № 4. – P. 368–371.

424. Misch, C.E., Judy, K.W. Classification of partially edentulous arches for implant dentistry // *Int. J. Oral Implantol.* – 1987. – Vol. 4. – № 2. – P. 7–13.

425. Mishra, A.K. Allogenic bone grafts in post-traumatic juxta-articular defects: Need for allogenic bone banking / A.K. Mishra, R. Vikas, H.S. Agrawal // *Med. J. Armed Forces India.* – 2017. – Vol. 73. – № 3. – P. 282–286.

426. Mitchell, J.B. Immunophenotype of human adipose-derived cells: temporal changes in stromal-associated and stem cell-associated markers / J.B. Mitchell, K. McIntosh, S. Zvonic [et al.] // *Stem Cells.* – 2006 – Vol. 24. – № 2. – P. 376–385.

427. Mitchell, A.C. Engineering growth factors for regenerative medicine applications / A.C. Mitchell, P.S. Briquez, J.A. Hubbell, J.R. Cochran // *Acta Biomater.* – 2016. – Vol. 30. – P. 1–12.

428. Mizuno, H. Myogenic differentiation of human processed lipoaspirate cells / H. Mizuno, P.A. Zuk, M. Zhu [et al.] // *Plastic. Reconstr. Surg.* – 2002. – Vol. 109. – № 1. – P. 199–209.

429. Monsarrat, P. Concise review: mesenchymal stromal cells used for periodontal regeneration: a systematic review / P. Monsarrat, J.N. Vergnes, C. Nabet [et al.] // *Stem Cells Transl. Med.* – 2014. – Vol. 3. – № 6. – P. 768–774.

430. Moon, J.W. Comparison of two kinds of bovine bone in maxillary sinus augmentation: a histomorphometric study / J.W. Moon, D.S. Sohn, J.U. Heo, J.S. Kim // *Implant Dent.* – 2015. – Vol. 24. – № 1. – P. 19–24.

431. Moon, M.H. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells improve postnatal neovascularization in a mouse model of hindlimb ischemia / M.H. Moon, S.Y. Kim, Y.J. Kim [et al.] // *Cell Physiol. Biochem.* – 2006. – Vol. 17. – P. 279–290.

432. Morgan, T.A. A retrospective review of treatment of the odontogenic keratocyst / T.A. Morgan, C.C. Burton, F. Qian // *J. Oral. Maxillofac. Surg.* – 2005. – Vol. 63. – № 5. – P. 635–639.

433. Mu, S. Culture-expanded mesenchymal stem cell sheets enhance extraction-site alveolar bone growth: An animal study / S. Mu, B.C. Tee, H. Emam [et al.] // *J. Periodontal Res.* – 2018. – Vol. 54. – № 4. – P. 514–524.

434. Munavalli, G.S. Successful treatment of depressed, distensible acne scars using autologous fibroblasts: a multi-site, prospective, double blind, placebo-controlled clinical trial / G.S. Munavalli, S. Smith, J.M. Maslowski, R.A. Weiss // *Dermatol. Surg.* – 2013. – Vol. 39. – P. 1226–1236.

435. Nakahara, T. In situ tissue engineering of periodontal tissues by with periodontal ligament-derived cells / T. Nakahara, T. Nakamura, E. Kobayashi [et al.] // *Tissue Eng.* – 2004. – Vol. 10. – № 3–4. – P. 537–544.

436. Nakashima, M. Mobilized dental pulp stem cells for pulp regeneration: initiation of clinical trial / M. Nakashima, K. Iohara // *J. Endod.* – 2014. – Vol. 40. – P. 26–32.

437. Nart, J. Use of guided tissue regeneration in the treatment of a lateral periodontal cyst with a 7-month reentry / J. Nart, E. Gagari, M.A. Kahn, T.J. Griffin // *J. Periodontol.* – 2007. – Vol. 78. – № 7. – P. 1360–1364.

438. Nary Filho, H. Autogenous bone grafts contamination after exposure to the oral cavity / H. Nary Filho, T.F. Pinto, C.P. de Freitas [et al.] // *J. Craniofac. Surg.* – 2014. – Vol. 25. – № 2. – P. 412–414.

439. Nguyen, A. Stromal vascular fraction: A regenerative reality? Part 1: Current concepts and review of the literature / A. Nguyen, J. Guo, D.A. Banyard [et al.] // *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* – 2016. – Vol. 69. – № 2. – P. 170–179.

440. Nielsen, H.B. Short implants (≤ 8 mm) compared to standard length implants (> 8 mm) in conjunction with maxillary sinus floor augmentation: a systematic review and meta-analysis / H.B. Nielsen, S. Schou, F. Isidor [et al.] // *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* – 2018. – Vol. 48. – № 2. – P. 239–249.

441. Nishimori, M. Health-related quality of life of unrelated bone marrow donors in Japan / M. Nishimori, Y. Yamada, K. Hoshi [et al.] // *Blood.* – 2002. – Vol. 99. – P. 1995–2001.

442. Nixon, A.J. Insulin-like growth factor-I gene therapy applications for cartilage repair / A.J. Nixon, B.D. Brower-Toland, S.J. Bent [et al.] // *Clin. Orthop. Relat. Res.* – 2000. – Vol. 379, Suppl. – P. 201–213.

443. Nkenke, E. Autogenous bone harvesting and grafting in advanced jaw resorption: morbidity, resorption and implant survival / E. Nkenke, F.W. Neukam // *Eur. J. Oral Implantol.* – 2014. – Vol. 7. – Suppl. 2. – P. S203–S217.

444. Noth, U. In vitro engineered cartilage constructs produced by press-coating biodegradable polymer with human mesenchymal stem cells / U. Noth, R. Tuli, A.M. Osyczka [et al.] // *Tissue Eng.* – 2002. – Vol. 8. – № 1. – P. 131–144.

445. Ogawa, R. Chondrogenic and osteogenic differentiation of adipose-derived stem cells isolated from GFP transgenic mice / R. Ogawa, H. Mizuno, H. Hyakusoku [et al.] // *J. Nippon. Med. Sch.* – 2004. – Vol. 71. – P. 240–241.

446. Ohgushi, H. Osteogenically differentiated mesenchymal stem cells and ceramics for bone tissue engineering / H. Ohgushi // *Expert. Opin. Biol. Ther.* – 2014. – Vol. 14. – № 2. – P. 197–208.

447. Oikarinen, K. General and local contraindications for endosseal implants – an epidemiological panoramic radiographic study in 65 year old subjects / K. Oikarinen, A.M. Raustia, M. Hartikainen // *Community Dent. Oral Epidemiol.* – 1995. – Vol. 23. – P. R114–118.

448. Oppenheimer, A.J. Current and emerging basic science concepts in bone biology: implications in craniofacial surgery / A.J. Oppenheimer, J. Mesa, S.R. Buchman // *J. Craniofac. Surg.* – 2012. – Vol. 23. – № 1. – P. 30–36.

449. Osugi, M. Conditioned media from mesenchymal stem cells enhanced bone regeneration in rat calvarial bone defects / M. Osugi, W. Katagiri, R. Yoshimi [et al.] // *Tissue Eng. Part A.* – 2012. – Vol. 18. – № 13–14. – P. 1479–1489.

450. Pallua, N. Characterisation of angiogenic growth factor production in adipose tissue-derived mesenchymal cells / N. Pallua, M. Serin, T.P. Wolter // *J. Plast. Surg. Hand Surg.* – 2014. – Vol. 48. – P. 412–416.

451. Park, J.Y. Efficacy of periodontal stem cell transplantation in the treatment of advanced periodontitis / J.Y. Park, S.H. Jeon, P.H. Choung // *Cell Transplant.* – 2011. – Vol. 20. – № 2. – P. 271–285.

452. Park, S.H. Chip-based comparison of the osteogenesis of human bone marrow- and adipose tissue-derived mesenchymal stem cells under mechanical stimulation [Электронный ресурс] / S.H. Park, W.Y. Sim, B.H. Min [et al.] // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7. – № 9. – URL : <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046689>

453. Pasquali, P.J. Maxillary Sinus Augmentation Combining Bio-Oss with the Bone Marrow Aspirate Concentrate: A Histomorphometric Study in Humans [Электронный ресурс] / P.J. Pasquali, M.L. Teixeira, T.A. de Oliveira [et al.] // *Int. J. Biomater.* – 2015. – Vol. 2015, Article ID 121286. – URL : <http://dx.doi.org/10.1155/2015/121286>

454. Pati, S. Human mesenchymal stem cells inhibit vascular permeability by modulating vascular endothelial cadherin/ β -catenin signaling / S. Pati, A.Y. Khakoo, J. Zhao [et al.] // *Stem Cells Dev.* – 2011. – Vol. 20. – № 1. – P. 89–101.

455. Pelaez, D. Extracellular signal-regulated kinase (ERK) dictates osteogenic and/or chondrogenic lineage commitment of mesenchymal stem cells under dynamic compression / D. Pelaez, N. Arita, H. S. Cheung // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2012. – Vol. 417. – № 4. – P. 1286–1291.

456. Pellacchia, V. Bone Regeneration of the Maxillofacial Region Through the Use of Mesenchymal Cells Obtained by a Filtration Process of the Adipose Tissue / V. Pellacchia, G. Renzi, R. Becelli, F. Socciarelli // *J. Craniofac. Surg.* – 2016. – Vol. 27. – № 3. – P. 558–560.

457. Peterson, B. Healing of critically sized femoral defects, using genetically modified mesenchymal stem cells from human adipose tissue / B. Peterson, J. Zhang, R. Iglesias [et al.] // *Tissue Eng.* – 2005. – Vol. 11. – № 1–2. – P. 120–129.

458. Philandrianos, C. First clinical case report of local microinjection of autologous fat and adipose-derived stromal vascular fraction for perianal fistula in Crohn's disease [Электронный ресурс] / C. Philandrianos, M. Serrero, F. Grimaud [et al.] // *Stem Cell Res. Ther.* – 2018. – Vol. 9. – № 4. – URL : <https://doi.org/10.1186/s13287-017-0736-6>

459. Pihlstrom, B.L. Periodontal diseases / B.L. Pihlstrom, B.S. Michalowicz, N.W. Johnson // *Lancet.* – 2005. – Vol. 366. – № 9499. – P. 1809–1820.

460. Pittenger, M.F. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells / M.F. Pittenger, A.M. Mackay, S.C. Beck [et al.] // *Science.* – 1999. – Vol. 284. – P. 143–147.

461. Planat-Benard, V. Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells: physiological and therapeutic perspectives / V. Planat-Benard,

J.S. Silvestre, B. Cousin [et al.] // *Circulation*. – 2004. – Vol. 109. – № 5. – P. 656–663.

462. Planat-Benard, V. Spontaneous cardiomyocyte differentiation from adipose tissue stroma cells / V. Planat-Benard, J.S. Silvestre, B. Cousin [et al.] // *Circ Res*. – 2004. – Vol. 94. – № 2. – P. 223–229.

463. Polykandriotis, E. Autonomously vascularized cellular constructs in tissue engineering: opening a new perspective for biomedical science / E. Polykandriotis, A. Arkudas, R.E. Horch [et al.] // *J. Cell Mol. Med*. – 2007. – Vol. 11. – № 1. – P. 6–20.

464. Pradel, W. Bone regeneration after enucleation of mandibular cysts: comparing autogenous grafts from tissue-engineered bone and iliac bone / W. Pradel, U. Eckelt, G. Lauer // *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod*. – 2006. – Vol. 101. – № 3. – P. 285–290.

465. Premaratne, G.U. Stromal vascular fraction transplantation as an alternative therapy for ischemic heart failure: anti-inflammatory role [Электронный ресурс] / G.U. Premaratne, L.P. Ma, M. Fujita [et al.] // *J. Cardiothorac. Surg*. – 2011. – Vol. 6. – № 43. – URL : <https://doi.org/10.1186/1749-8090-6-43>

466. Prins, H.J. Bone regeneration using the freshly isolated autologous stromal vascular fraction of adipose tissue in combination with calcium phosphate ceramics / H.J. Prins, E.A. Schulten, C.M. ten Bruggenkate [et al.] // *Stem Cells Transl. Med*. – 2016. – Vol. 5. – P. 1362–1374.

467. Puissant, B. Immunomodulatory effect of human adipose tissue-derived adult stem cells: comparison with bone marrow mesenchymal stem cells / B. Puissant, C. Barreau, P. Bourin [et al.] // *Br. J. Haematol*. – 2005. – Vol. 129. – № 1. – P. 118–129.

468. Putters, T.F. Morbidity of anterior iliac crest and calvarial bone donor graft sites: a 1-year randomized controlled trial / T.F. Putters, D.E. Wortmann, J. Schortinghuis [et al.] // *Int. J. Oral Maxillofac. Surg*. – 2018. – Vol. 47. – № 11. – P. 1474–1480.

469. Rada, T. Chondrogenic potential of two hASCs subpopulations loaded onto gellan gum hydrogel evaluated in a nude mice model / T. Rada, P.P. Carvalho, T.C. Santos [et al.] // *Curr. Stem Cell Res. Ther.* – 2013. – Vol. 8. – № 5. – P. 357–564.

470. Raes, M. A 5-year randomized clinical trial comparing minimally with moderately rough implants in patients with severe periodontitis / M. Raes, R. D'hondt, W. Teughels [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 2018. – Vol. 45. – № 6. – P. 711–720.

471. Raggatt, L.J. Cellular and Molecular Mechanisms of Bone Remodeling / L.J. Raggatt, N.C. Partridge // *J. Biol. Chem.* – 2010. – Vol. 285. – № 33. – P. 25103–25108.

472. Reddi, A.H. The matrix of rat calvarium as transformant of fibroblasts / A.H. Reddi // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* – 1975. – Vol. 150. – № 2. – P. 324–326.

473. Reddi, A.H. Initiation of fracture repair by bone morphogenetic proteins / A.H. Reddi // *Clin. Orthop. Relat. Res.* – 1998. – № 355, Suppl. – P. 66–72.

474. Rehman, J. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells / J. Rehman, D. Traktuev, J. Li [et al.] // *Circulation.* – 2004. – Vol. 109. – № 10. – P. 1292–1298.

475. Rhee, S.C. In vivo evaluation of mixtures of uncultured freshly-isolated adipose-derived stem cells and demineralized bone matrix for bone regeneration in a rat critically-sized calvarial defect model / S.C. Rhee, Y.H. Ji, N.A. Gharibjanian [et al.] // *Stem Cells Dev.* – 2011. – Vol. 20. – P. 233–242.

476. Ridwan-Pramana, A. Porous polyethylene implants in facial reconstruction: Outcome and complications / A. Ridwan-Pramana, J. Wolff, A. Raziei [et al.] // *J. Craniomaxillofac. Surg.* – 2015. – Vol. 43. – № 8. – P. 1330–1334.

477. Rigotti, G. Clinical treatment of radiotherapy tissue damage by lipoaspirate transplant: a healing process mediated by adipose-derived adult stem

cells / G. Rigotti, A. Marchi, M. Galie [et al.] // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2007. – Vol. 119. – P. 1409–1422.

478. Robling, A.G. Mechanical stimulation of bone in vivo reduces osteocyte expression of Sost/sclerostin / A.G. Robling, P.J. Niziolek, L.A. Baldrige [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2008. – Vol. 283. – № 9. – P. 5866–5875.

479. Ryu, Y.J. Phenotypic characterization and in vivo localization of human adipose-derived mesenchymal stem cells / Y.J. Ryu, T.J. Cho, D.S. Lee [et al.] // *Mol. Cells.* – 2013. – Vol. 35. – P. 557–64.

480. Sakkas, A. Autogenous bone grafts in oral implantology – is it still a “gold standard”? A consecutive review of 279 patients with 456 clinical procedures / A. Sakkas, F. Wilde, M. Heufelder [et al.] // *Int. J. Implant. Dent.* – 2017. – Vol. 3. – № 1. – P. 23.

481. Salai, M. The effects of prolonged cryopreservation on the biomechanical properties of bone allografts: A microbiological, histological and mechanical study / M. Salai, T. Brosh, N. Keller [et al.] // *Cell Tissue Bank.* – 2000. – Vol. 1. – № 1. – P. 69–73.

482. Sandor, G.K. Adipose stem cells used to reconstruct 13 cases with cranio-maxillofacial hard-tissue defects / G.K. Sandor, J. Numminen, J. Wolff [et al.] // *Stem Cells Transl. Med.* – 2014. – Vol. 3. – № 4. – P. 530–540.

483. Sankaranarayanan, S. Periodontal regeneration by autologous bone marrow mononuclear cells embedded in a novel thermo reversible gelation polymer / S. Sankaranarayanan, N. Jetty, J.S. Gadagi [et al.] // *J. Stem Cells.* – 2013. – Vol. 8. – № 2. – P. 99–103.

484. Santamaria, J. Bone regeneration after radicular cyst removal with and without guided bone regeneration / J. Santamaria, A.M. Garcia, J.C. de Vicente [et al.] // *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* – 1998. – Vol. 27. – № 2. – P. 118–120.

485. Sauerbier, S. Bone marrow aspirate concentrate used with bovine bone mineral to reconstruct vertical and horizontal mandibular defects: report of two techniques / S. Sauerbier, B. Giessenhagen, W. Gutwerk [et al.] // *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* – 2013. – Vol. 28. – № 5. – P. e310–314.

486. Scarano, A. Bone Regeneration Induced by Bone Porcine Block with Bone Marrow Stromal Stem Cells in a Minipig Model of Mandibular "Critical Size" Defect [Электронный ресурс] / A. Scarano, V. Crincoli, A. di Benedetto [et al.] // *Stem Cells Int.* – 2017. – Vol. 2017. – URL : <https://doi.org/10.1155/2017/9082869>

487. Scheines, C. Recombinant Human Platelet-Derived Growth Factor-BB in Human Alveolar Ridge Augmentation: A Review of the Literature / C. Scheines, S.D. Hokett, J.A. Katancik // *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* – 2018. – Vol. 33. – № 5. – P. 1047–1056.

488. Scheller, E.L. Tissue engineering: state of the art in oral rehabilitation / E.L. Scheller, P.H. Krebsbach, D.H. Kohn // *J. Oral Rehabil.* – 2009. – Vol. 36. – № 5. – P. 368–389.

489. Scherberich, A. Adipose tissue-derived progenitors for engineering osteogenic and vasculogenic grafts / A. Scherberich, A.M. Müller, D.J. Schafer [et al.] // *J. Cell Physiol.* – 2010. – Vol. 225. – P. 348–353.

490. Schmitt, C.M. Anorganic bovine bone (ABB) vs. autologous bone (AB) plus ABB in maxillary sinus grafting. A prospective non-randomized clinical and histomorphometrical trial / C.M. Schmitt, T. Moest, R. Lutz [et al.] // *Clin. Oral Implants Res.* – 2015. – Vol. 26. – № 9. – P. 1043–1050.

491. Seebach, C. Endothelial progenitor cells improve directly and indirectly early vascularization of mesenchymal stem cell-driven bone regeneration in a critical bone defect in rats / C. Seebach, D. Henrich, K. Wilhelm [et al.] // *Cell Transplant.* – 2012. – Vol. 21. – № 8. – P. 1667–1677.

492. Semon, J.A. Administration of murine stromal vascular fraction ameliorates chronic experimental autoimmune encephalomyelitis / J.A. Semon, X. Zhang, A.C. Pandey [et al.] // *Stem Cells Transl. Med.* – 2013. – Vol. 2. – P. 789–796.

493. Sfeir, C. Signaling molecules for tissue engineering / C. Sfeir, J. Jadowiec, H. Koch, P. Campbell // *Bone tissue engineering*. Edited by J.O. Hollinger [et al.]. – CRC PRESS, 2005. – Chapter XX. – P. 125–149.

494. Shafieian, R. Effects of Human Adipose-derived Stem Cells and Platelet-Rich Plasma on Healing Response of Canine Alveolar Surgical Bone Defects / R. Shafieian, M.M. Matin, A. Rahpeyma [et al.] // Arch. Bone Jt. Surg. – 2017. – Vol. 5. – № 6. – P. 406–418.

495. Shah, F.S. A non-enzymatic method for isolating human adipose tissue-derived stromal stem cells / F.S. Shah, X. Wu, M. Dietrich [et al.] // Cytotherapy. – 2013. – Vol. 15. – № 8. – P. 979–985.

496. Shahdadfar, A. In vitro expansion of human mesenchymal stem cells: choice of serum is a determinant of cell proliferation, differentiation, gene expression, and transcription stability / A. Shahdadfar, K. Frønsdal, T. Haug [et al.] // Stem Cells. – 2005. – Vol. 23. – P. 1357–1366.

497. Shakya, A.K. Three-dimensional macroporous materials for tissue engineering of craniofacial bone / A.K. Shakya, U. Kandalam // Br. J. Oral Maxillofac. Surg. – 2017. – Vol. 55. – № 9. – P. 875–891.

498. Shan, X. Bone engineering by cell sheet technology to repair mandibular defects / X. Shan, D. Hu // Exp. Ther. Med. – 2017. – Vol. 14. – № 5. – P. 5007–5011.

499. Shanbhag, S. Cell therapy for orofacial bone regeneration: a systematic review and meta-analysis [Электронный ресурс] / S. Shanbhag, S. Suliman, N. Pandi [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 2019. – URL : <https://doi.org/10.1111/jcpe.13049>

500. Shao, S. Effects of alveolar ridge preservation on delayed implant osseointegration / S. Shao, B. Li, H.M. Xue [et al.] // Int. J. Clin. Exp. Med. – 2015. – Vol. 8. – № 7. – P. 10773–10778.

501. Shi, Y. Mesenchymal stem cells: a new strategy for immunosuppression and tissue repair / Y. Shi, G. Hu, J. Su [et al.] // Cell Res. – 2010. – Vol. 20. – № 5. – P. 510–518.

502. Shigeishi, H. Risk factors for postoperative complications following oral surgery / H. Shigeishi, K. Ohta, M. Takechi // J. Appl. Oral Sci. – 2015. – Vol. 23. – № 4. – P. 419–423.

503. Shrivats, A.R. Bone tissue engineering: state of the union / A.R. Shrivats, M.C. McDermott, J.O. Hollinger // *Drug Discov. Today*. – 2014. – Vol. 19. – № 6. – P. 781–786.

504. Shu, W. Tissue engineering of the temporomandibular joint disc: current status and future trends / W. Shu, L. Liu, G. Bao, H. Kang // *Int. J. Artif. Organs*. – 2015. – Vol. 38. – P. 55–68.

505. Simonacci, F. Off-label use of adipose-derived stem cells / F. Simonacci, N. Bertozzi, E. Raposio // *Ann. Med. Surg. (Lond)*. – 2017. – Vol. 25. – № 24. – P. 44–51.

506. Sonoyama, W. Skeletal stem cells in regenerative medicine / W. Sonoyama, C. Coppe, S. Gronthos, S. Shi // *Curr. Top. Dev. Biol.* – 2005. – Vol. 67. – P. 305–323.

507. Sotiropoulou, P.A. Characterization of optimal culture conditions for clinical scale production of human mesenchymal stem cells / P.A. Sotiropoulou, S.A. Perez, M. Salagianni [et al.] // *Stem cells*. – 2006. – Vol. 24. – P. 462–471.

508. Spalding, K.L. Dynamics of fat cell turnover in humans / K.L. Spalding, E. Arner, P.O. Westermarck [et al.] // *Nature*. – 2008. – Vol. 453. – № 7196. – P. 783–787.

509. Spector, M. Basis principles of tissue engineering / M. Spector // *Tissue Engineering. Applications in maxillofacial surgery and periodontics*, ed. S.E. Lynch [et al.]. Quintessence Publishing Co, Inc. – 1999. – P. 3–16.

510. Steward, A.J. The pericellular environment regulates cytoskeletal development and the differentiation of mesenchymal stem cells and determines their response to hydrostatic pressure / A.J. Steward, D.R. Wagner, D.J. Kelly // *Eur. Cell Mater*. – 2013. – Vol. 25. – P. 167–178.

511. Steward, A.J. Mechanical regulation of mesenchymal stem cell differentiation / A.J. Steward, D.J. Kelly // *J. Anat.* – 2015. – Vol. 227. – № 6. – P. 717–731.

512. Streckbein, P. Reconstruction of critical-size mandibular defects in immunoincompetent rats with human adipose-derived stromal cells / P. Streckbein,

S. Jackel, C.Y. Malik [et al.] // *J. Craniomaxillofac. Surg.* – 2013. – Vol. 41. – № 6. – P. 496–503.

513. Strem, B.M. Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells / B.M. Strem, K.C. Hicok, M. Zhu [et al.] // *Keio J. Med.* – 2005. – Vol. 54. – № 3. – P. 132–141.

514. Strioga, M. Comparison of adipose tissue-derived versus bone marrow-derived mesenchymal stem and stromal cells / M. Strioga, S. Viswanathan, A. Darinskas [et al.] // *Stem Cells Dev.* – 2012. – Vol. 21. – P. 2724–2752.

515. Suaid, F.F. Autologous periodontal ligament cells in the treatment of Class III furcation defects: a study in dogs / F.F. Suaid, F.V. Ribeiro, T.R. Gomes [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 2012. – Vol. 39. – № 4. – P. 377–384.

516. Sugar, A.W. Titanium mesh in orbital wall reconstruction / A.W. Sugar, M. Kuriakose, N.D. Walshaw // *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* – 1992. – Vol. 21. – № 3. – P. 140–144.

517. Sung, D.K. Antibacterial effect of mesenchymal stem cells against *Escherichia coli* is mediated by secretion of beta-defensin-2 via toll-like receptor 4 signalling / D.K. Sung, Y.S. Chang, S.I. Sung [et al.] // *Cell Microbiol.* – 2016. – Vol. 18. – № 3. – P. 424–436.

518. Szoke, K. Human adipose tissue as a source of cells with angiogenic potential / K. Szoke, K.J. Beckstrom, J.E. Brinchmann // *Cell Trans.* – 2012. – Vol. 21. – № 1. – P. 235–250.

519. Takedachi, M. Periodontal tissue regeneration by transplantation of adipose tissue-derived stem cells / M. Takedachi, K. Sawada, S. Yamamoto [et al.] // *J. Oral Biosci.* – 2013. – Vol. 55. – № 3. – P. 137–142.

520. Tamburino, S. The role of nanofat grafting in vulvar lichen sclerosus: a preliminary report / S. Tamburino, G.A. Lombardo, M.S. Tarico, R.E. Perrotta // *Arch. Plast. Surg.* – 2016. – Vol. 43. – № 1. – P.93–95.

521. Tang, Y. TGF-beta1-induced migration of bone mesenchymal stem cells couples bone resorption with formation / Y. Tang, X. Wu, W. Lei [et al.] // *Nat. Med.* – 2009. – Vol. 15. – № 7. – P. 757–765.

522. Teitelbaum, S.L. Bone resorption by osteoclasts / S.L. Teitelbaum // *Science*. – 2000. – Vol. 289. – № 5484. – P. 1504–1508.

523. Tobita, M. Periodontal tissue regeneration by combined implantation of adipose tissue-derived stem cells and platelet-rich plasma in a canine model / M. Tobita, C.A. Uysal, X. Guo [et al.] // *Cytherapy*. – 2013. – Vol. 15. – P. 1517–1526.

524. Tong, L. Facial bone grafts: contemporary science and thought / L. Tong, S.R. Buchman // *J. Craniomaxillofac. Trauma*. – 2000. – Vol. 6. – P. 31–41.

525. Tonnard, P. Nanofat grafting: basic research and clinical applications / P. Tonnard, A. Verpaele, G. Peeters [et al.] // *Plast. Reconstr. Surg.* – 2013. – Vol. 132. – P. 1017–1726.

526. Traktuev, D.O. Robust functional vascular network formation in vivo by cooperation of adipose progenitor and endothelial cells / D.O. Traktuev, D.N. Prater, S. Merfeld-Clauss [et al.] // *Circ. Res.* – 2009. – Vol. 104. – P. 1410–1420.

527. Tran Van, P. An electron-microscopic study of the bone-remodeling sequence in the rat / P. Tran Van, A. Vignery, R. Baron // *Cell Tissue Res.* – 1982. – Vol. 225. – № 2. – P. 283–292.

528. Tsao, Y.P. Factors influencing treatment outcomes in mandibular Class II furcation defects / Y.P. Tsao, R. Neiva, K. Al-Shammari [et al.] // *J. Periodontol.* – 2006. – Vol. 77. – № 4. – P. 641–646.

529. Tsumanuma, Y. Comparison of different tissue-derived stem cell sheets for periodontal regeneration in a canine 1-wall defect model / Y. Tsumanuma, T. Iwata, K. Washio [et al.] // *Biomaterials*. – 2011. – Vol. 32. – № 25. – P. 5819–5825.

530. Uddstromer, L. Healing of membranous and long bone defects. An experimental study in growing rabbits / L. Uddstromer, V. Ritsila // *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.* – 1979. – Vol. 13. – P. 281–287.

531. Ueyama, Y. Maxillofacial bone regeneration with osteogenic matrix cell sheets: An experimental study in rats / Y. Ueyama, N. Yagyuu, M. Maeda [et al.] // Arch. Oral Biol. – 2016. – Vol. 72. – P. 138–145.

532. Usami, K. Composite implantation of mesenchymal stem cells with endothelial progenitor cells enhances tissue-engineered bone formation / K. Usami, H. Mizuno, K. Okada [et al.] // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2009. – Vol. 90. – № 3. – P. 730–741.

533. Valdivia, E. Tissue Engineering Therapy for Atrophic Maxilla Using Minimally Manipulated CD90 and CD105 Bone Marrow Stem Cells: A Case Report / E. Valdivia, G. Mendoza-Azpur, J. Pando [et al.] // Int. J. Periodontics Restorative Dent. – 2017. – Vol. 37. – № 3. – P. 355–361.

534. Van Bellinghen, X. Temporomandibular Joint Regenerative Medicine [Электронный ресурс] / X. Van Bellinghen, Y. Idoux-Gillet, M. Pugliano [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2018. – Vol. 19. – № 2. – URL : <https://doi.org/10.3390/ijms19020446>

535. Van Dijk, A. Differentiation of human adipose-derived stem cells towards cardiomyocytes is facilitated by laminin / A. van Dijk, H.W. Niessen, B.Z. Doulabi [et al.] // Cell Tissue Res. – 2008. – Vol. 334. – № 3. – P. 457–467.

536. Van Dongen, J.A. Comparison of intraoperative procedures for isolation of clinical grade stromal vascular fraction for regenerative purposes: a systematic review / J.A. van Dongen, A.J. Tuin, M. Spiekman [et al.] // J. Tissue Eng. Regen. Med. – 2018. – Vol. 1. – P. e261–e274.

537. Varma, M.J. Phenotypical and functional characterization of freshly isolated adipose tissue-derived stem cells / M.J. Varma, R.G. Breuls, T.E. Schouten [et al.] // Stem Cell Dev. – 2007. – Vol. 16. – № 1. – P. 91–104.

538. Verborgt, O. Spatial distribution of Bax and Bcl-2 in osteocytes after bone fatigue: complementary roles in bone remodeling regulation? / O. Verborgt, N.A. Tatton, R.J. Majeska, M.B. Schaffler // J. Bone Miner. Res. – 2002. – Vol. 17. – № 5. – P. 907–914.

539. Volk, S.W. Effects of osteogenic inducers on cultures of canine mesenchymal stem cells / S.W. Volk, D.L. Diefenderfer, S.A. Christopher [et al.] // *Am. J. Vet. Res.* – 2005. – Vol. 66. – № 10. – P. 1729–1737.

540. Wagdargi, S.S. Evaluation of spontaneous bone regeneration after enucleation of large cysts of the jaws using radiographic computed software / S.S. Wagdargi, K.K. Rai, K.V. Arunkumar [et al.] // *J. Contemp. Dent. Pract.* – 2016. – Vol. 17. – № 6. – P. 489–495.

541. Wang, F. Regeneration of subcutaneous tissue-engineered mandibular condyle in nude mice / F.Wang, Y. Hu, D. He [et al.] // *J. Craniomaxillofac. Surg.* – 2017. – Vol. 45. – № 6. – P. 855–861.

542. Wang, J. Mechanical stimulation orchestrates the osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells by regulating HDAC1 [Электронный ресурс] / J. Wang, C.D. Wang, N. Zhang [et al.] // *Cell Death Dis.* – 2016. – Vol. 7. – URL : <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.112>

543. Wang, L. The experimental study on porous calcium phosphate cement with bone marrow stromal cells for bone tissue engineering / L. Wang, Y.J. Li, Y. Zhang [et al.] // *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* – 2010. – Vol. 28. – № 3. – P. 315–318.

544. Wang, X. Effects of continuous passage on immunomodulatory properties of human adipose-derived stem cells / X. Wang, C. Liu, S. Li [et al.] // *Cell Tissue Bank.* – 2015. – Vol. 16. – № 1. – P. 143–150.

545. Wang, Y. Outgrowth of a transformed cell population derived from normal human BM mesenchymal stem cell culture / Y. Wang, D.L. Huso, J. Harrington [et al.] // *Cytherapy.* – 2005 – Vol. 7. – № 6. – P. 509–519.

546. Wang, Y.K. Cell adhesion and mechanical stimulation in the regulation of mesenchymal stem cell differentiation / Y.K. Wang, C.S. Chen // *J. Cell Mol. Med.* – 2013. – Vol. 17. – № 7. – P. 823–832.

547. Wilson, S.M. Adipose-derived mesenchymal stem cells enhance healing of mandibular defects in the ramus of swine / S.M. Wilson,

M.S. Goldwasser, S.G. Clark [et al.] // *J. Oral Maxillofac. Surg.* – 2012. – Vol. 70. – № 3. – P. e193–203.

548. Witsenburg, B. Autogenous rib graft for reconstruction of alveolar bone defects in cleft patients / B. Witsenburg, H. Peter, M. Freihofer // *J. Craniomaxillofac. Sur.* – 1990. – Vol. 18. – P. 55–62.

549. Wobus, A.M. Embryonic stem cells: prospects for developmental biology and cell therapy / A.M. Wobus, K.R. Boheler // *Physiol. Rev.* – 2005. – Vol. 85. – № 2. – P. 635–678.

550. Wu, Y. Mesenchymal stem cells enhance wound healing through differentiation and angiogenesis / Y. Wu, L. Chen, P.G. Scott, E.E. Tredget // *Stem Cells.* – 2007. – Vol. 25. – № 10. – P. 2648–2659.

551. Xu, Y. Adipose-derived mesenchymal cells as a potential cell source for skeletal regeneration / Y. Xu, P. Malladi, D.R. Wagner, D.R. Longaker // *Curr. Opin. Mol. Ther.* – 2005. – Vol. 7. – № 4. – P. 300–305.

552. Yamada, M. Current bone substitutes for implant dentistry / M. Yamada, H. Egusa // *J. Prosthodont. Res.* – 2018. – Vol. 62. – № 2. – P. 152–161.

553. Yamada, Y. A novel approach to periodontal tissue regeneration with mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma using tissue engineering technology: A clinical case report / Y. Yamada, M. Ueda, H. Hibi, S. Baba // *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* – 2006. – Vol. 26. – № 4. – P. 363–369.

554. Yang, C.M. Mechanical strain induces collagenase-3 (MMP-13) expression in MC3T3-E1 osteoblastic cells / C.M. Yang, C.S. Chien, C.C. Yao [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279. – № 21. – P. 22158–22165.

555. Yang, M. In vitro and in vivo induction of bone formation based on ex vivo gene therapy using rat adipose-derived adult stem cells expressing BMP-7 / M. Yang, Q.J. Ma, G.T. Dang [et al.] // *Cytherapy.* – 2005. – Vol. 7. – № 3. – P. 273–281.

556. Yang, Y. Synergism of MSC-secreted HGF and VEGF in stabilising endothelial barrier function upon lipopolysaccharide stimulation via the Rac1

pathway [Электронный ресурс] / Y. Yang, Q.H. Chen, A.R. Liu [et al.] // Stem Cell Res. Ther.– 2015. – Vol. 6. – № 250. – URL : <http://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-015-0257-0>

557. Yao, Y. Adipose Extracellular Matrix/Stromal Vascular Fraction Gel: A Novel Adipose Tissue-Derived Injectable for Stem Cell Therapy / Y. Yao, Z. Dong, Y. Liao [et al.] // Plast. Reconstr. Surg. – 2017. – Vol. 139. – № 4. – P. 867–879.

558. Yarden, Y. Human proto-oncogene c-kit: a new cell surface receptor tyrosine kinase for an unidentified ligand / Y. Yarden, W.J. Kuang, T. Yang-Feng [et al.] // EMBO J. – 1987. – Vol. 6. – P. 3341–3351.

559. Ye, Y. Comparative study of the osteogenic differentiation capacity of human bone marrow- and human adipose-derived stem cells under cyclic tensile stretch using quantitative analysis / Y. Ye, Y. Du, F. Guo [et al.] // Int. J. Mol. Med. – 2012. – Vol. 30. – № 6. – P. 1327–1334.

560. Yi, T. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their therapeutic applications / T. Yi, S.U. Song // Arch. Pharm. Res. – 2012. – Vol. 35. – № 2. – P. 213–221.

561. Yoon, E. In vivo osteogenic potential of human adipose-derived stem cells/poly lactide-co-glycolic acid constructs for bone regeneration in a rat critical-sized calvarial defect model / E. Yoon, S. Dhar, D.E. Chun [et al.] // Tissue Eng. – 2007. – Vol. 13. – № 3. – P. 619–627.

562. Yoshimura, K. Characterization of freshly isolated and cultured cells derived from the fatty and fluid portions of liposuction aspirates / K. Yoshimura, T. Shigeura, D. Matsumoto [et al.] // J. Cell Physiol. – 2006. – Vol. 208. – P. 64–67.

563. Yoshimura, K. Cell-assisted lipotransfer for cosmetic breast augmentation: supportive use of adipose-derived stem/stromal cells / K. Yoshimura, K. Sato, N. Aoi [et al.] // Aesthetic Plast. Surg. – 2008. – Vol. 32. – № 1. – P. 48–55.

564. Yoshimura, K. Adipose-derived stem/progenitor cells: roles in adipose tissue remodeling and potential use for soft tissue augmentation / K. Yoshimura, H. Suga, H. Eto // *Regen. Med.* – 2009. – Vol. 4. – № 2. – P. 265–273.

565. Yoshimura, K. Cell-assisted lipotransfer for breast augmentation: grafting of progenitor-enriched fat tissue autologous fat transfer / K. Yoshimura, K. Sato, D. Matsumoto // In *Autologous Fat Transfer.* – Springer, 2010. – P. 261–271.

566. Yu, G. Isolation of human adipose-derived stem cells from lipoaspirates / G. Yu, E. Floyd, X. Wu [et al.] // *Methods Mol. Biol.* – 2011. – Vol. 702. – P. 17–27.

567. Yu, N. Enhanced periodontal tissue regeneration by periodontal cell implantation / N. Yu, D.A. Oortgiesen, A.L. Bronckers [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 2013. – Vol. 40. – № 7. – P. 698–706.

568. Zakhari, J.S. Vasculogenic and angiogenic potential of adipose stromal vascular fraction cell populations in vitro / J.S. Zakhari, J. Zabanick, B. Gettler, S.K. Williams // *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.* – 2018. – Vol. 54. – № 1. – P.32–40.

569. Zhang, Z.Y. Superior osteogenic capacity for bone tissue engineering of fetal compared with perinatal and adult mesenchymal stem cells / Z.Y. Zhang, S.H. Teoh, M.S. Chong [et al.] // *Stem Cells.* – 2009. – Vol. 27. – № 1. – P. 126–137.

570. Zhao, Y.H. Hydrostatic pressure promotes the proliferation and osteogenic/chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells: The roles of RhoA and Rac1 / Y.H. Zhao, X. Lv, Y.L. Liu [et al.] // *StemCell Res.* – 2015. – Vol. 14. – № 3. – P. 283–296.

571. Zhu, B. Somatic stem cell biology and periodontal regeneration / B. Zhu, Y. Liu, D. Li, Y. Jin // *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* – 2013. – Vol. 28. – № 6. – P. e494–e502.

572. Zimmerlin, L. Stromal vascular progenitors in adult human adipose tissue / L. Zimmerlin, V.S. Donnemberg, M.E. Pfeifer [et al.] // *Cytometry*. – 2010. – Vol. 77. – № 1. – P. 22–30.

573. Zuk, P.A. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies / P.A. Zuk, M. Zhu, H. Mizuno [et al.] // *Tissue Eng.* – 2001. – Vol. 7. – P. 211–228.

574. Zuk, P.A. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells / P.A. Zuk, M. Zhu, P. Ashjian [et al.] // *Mol. Biol. Cell.* – 2002. – Vol. 13. – № 12. – P. 4279–4295.

ПРИЛОЖЕНИЯ

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2336841

СПОСОБ КОСТНОЙ ПЛАСТИКИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Патентообладатель(ли): **Карнюк Владимир Борисович (RU)**Автор(ы): **Карнюк Владимир Борисович (RU)**Заявка № **2006137868**Приоритет изобретения **26 октября 2006 г.**Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации **27 октября 2008 г.**Срок действия патента истекает **26 октября 2026 г.**

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам



Б.П. Симонов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2320285

**СПОСОБ ВОССТАНОВЛЕНИЯ КОСТИ
АЛЬВЕОЛЯРНОГО ГРЕБНЯ ЧЕЛЮСТИ И ТКАНЕЙ
ПАРОДОНТА С РЕДУЦИРОВАННЫМ
РЕГЕНЕРАТОРНЫМ ПОТЕНЦИАЛОМ**

Патентообладатель(ли): **Перова Марина Дмитриевна (RU)**

Автор(ы): **Перова Марина Дмитриевна (RU), Карпюк
Владимир Борисович (RU), Фомичева Анна Владимировна
(RU), Фомичева Елена Александровна (RU), Шубич
Моисей Григорьевич (RU)**

Заявка № 2006116152

Приоритет изобретения 10 мая 2006 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре
изобретений Российской Федерации 27 марта 2008 г.

Срок действия патента истекает 10 мая 2026 г.

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной
собственности, патентам и товарным знакам



Б.И. Симонов

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения
«Научно-исследовательский институт-
Краевая клиническая больница №1 имени
профессора С.В. Очаповского» министерства
здравоохранения Краснодарского края
350086, г.Краснодар, ул. 1-го Мая, 167 №2

предприятие, организация,
учреждение

Акт об использовании предложения

« 18 » ноября 2016 г.

Регистрационный номер (рационализаторского предложения или авторского свидетельства): Патент РФ на изобретение № 2336841 от 26.10.2006

Название предложения: «Способ костной пластики в эксперименте»

использовано с « 06 » декабря 2012 г.

в ГБУЗ «Научно-исследовательский институт - Краевая клиническая
больница № 1 имени профессора С. В. Очаповского» министерства здравоохранения
Краснодарского края

в соответствии с описанием рационализаторского предложения или с формулой изобретения.

Руководитель предприятия, организации,
учреждения (начальник цеха):



(подпись)

Члены комиссии:

Начальник отдела по изобретательству
и рационализации (начальник патентного
отдела или уполномоченный
по рационализации и изобретательству)

Дегунов Д.Н.
(подпись)

С началом использования предложения ознакомлен(ы)

Автор (соавторы): Карпюк В.Б.

Карпюк В.Б.

государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Краевая клиническая стоматологическая поликлиника» министерства здравоохранения Краснодарского края 350063, г. Краснодар, ул. Рашиповская, 31

предприятие, организация, учреждение

Акт об использовании предложения

« 17 » ноября 2016 г.

Регистрационный номер (рационализаторского предложения или авторского свидетельства): Патент РФ на изобретение № 2320285 от 10.05.2006

Название предложения: «Способ восстановления кости альвеолярного гребня челюсти и тканей пародонта с редуцированным регенераторным потенциалом»

использовано с « 12 » октября 2010 г.

в ГБУЗ «Краевая клиническая стоматологическая поликлиника» министерства здравоохранения Краснодарского края

в соответствии с описанием рационализаторского предложения или с формулой изобретения.



Руководитель предприятия, организации, учреждения (начальник цеха):

(подпись)

Члены комиссии:

Начальник отдела по изобретательству и рационализации (начальник патентного отдела или уполномоченный по рационализации и изобретательству)

(подпись)

С началом использования предложения ознакомлен(ы)

Автор (соавторы): Перова М.Д.

(подпись)

Каршук В.Б.

(подпись)

Фомичева А.В.

(подпись)

Фомичева Е.А.

(подпись)

Шубич М.Г.



предприятие, организация,
учреждение

Акт об использовании предложения

« 15 » 09. 2015г.

Регистрационный номер (рационализаторского предложения или авторского свидетельства): **Патент РФ на изобретение № 2320285 от 10.05.2006**

Название предложения: **«Способ восстановления кости альвеолярного гребня челюсти и тканей пародонта с редуцированным регенераторным потенциалом»**

использовано с « 15 » 01 2010г.

в стоматологической поликлинике ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России

в соответствии с описанием рационализаторского предложения или с формулой изобретения.

Руководитель предприятия, организации,
учреждения (начальник цеха):

(подпись)

Члены комиссии:

Начальник отдела по изобретательству
и рационализации (начальник патентного
отдела или уполномоченный
по рационализации и изобретательству)

(подпись)

С началом использования предложения ознакомлен(ы)

Автор (соавторы): Перова М.Д.

Карлюк В.Б.

Фомичева А.В.

Фомичева Е.А.

Шубич М.Г.

20. 01. 2010г.

УТВЕРЖДАЮ

Главный врач
ГБУЗ «НИИ-ККБ №1»
академик РАН, д.м.н., профессор
В.А. Торханов

26 сентября 2019г.

Справка о внедрении

Предложенная в диссертационной работе Карпюка В.Б. «Применение стромально-васкулярной фракции жировой ткани в восстановительно-реконструктивной хирургии полости рта (экспериментальное и клиническое исследование)» методика обработки жировой ткани для выделения стромально-васкулярной фракции применяется в работе лаборатории разработки и изучения новых технологий лечения заболеваний НИИ-ККБ №1 с 2018 года по настоящее время.

Методика позволяет с низкими временными и ресурсными затратами получать минимально манипулированный клеточный материал для разработки новых регенеративных и тканеинженерных лечебных подходов.

Методика заслуживает положительной оценки и может быть внедрена в работу научно-исследовательских и медицинских учреждений, занимающихся разработкой или использующих клеточные технологии в различных отраслях медицины.

Заведующий лабораторией
разработки и изучения новых технологий
лечения заболеваний ГБУЗ «НИИ-ККБ №1»
к.м.н.



И.В. Гилевич

Биолог лаборатории
разработки и изучения новых технологий
лечения заболеваний ГБУЗ «НИИ-ККБ №1»



Е.А. Коломийцева

26 сентября 2019 г.

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по учебной и воспитательной работе
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный
медицинский университет» Минздрава России

д.м.н. профессор

Т.В. Гайворонская

«03» сентября 2019 г.АКТ ВНЕДРЕНИЯ
в учебный процесс

1. Наименование научно-исследовательской работы: «Применение стромально-васкулярной фракции жировой ткани в восстановительно-реконструктивной хирургии полости рта (экспериментальное и клиническое исследование)».
2. Научный консультант: д.м.н., Перова М. Д. Исполнитель: к. м. н. Карпюк В. Б.
3. Источники информации: Клинико-гистологическая оценка результатов лечения одонтогенных кист челюстей / М.Д. Перова, Е.А. Мельник, В.Б. Карпюк // Общероссийская научно-практическая конференция стоматологических кафедр КГМУ «Современные вопросы стоматологии». Мат. конф. – Россия, Краснодар, 20-22 мая 2010 г. – С.153-157.; Некоторые аспекты клеточного поведения после аутотрансплантации васкулярно-стромальной фракции процессированного липоаспирата у больных пародонтитом средней и тяжелой степени / М.Д. Перова, Т.В. Гайворонская, В.Б. Карпюк, А.В. Тропина // Актуальные вопросы в теории и практике стоматологии (юбилейный сб. науч. трудов) / ГБОУ ВПО КубГМУ. – Москва-Краснодар, 2013. – С. 266-271.; Материалы научно-практической конференции «Актуальные вопросы челюстно-лицевой хирургии и имплантологии» (Россия, Краснодар, 26–27 октября 2017 г.), Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы стоматологии» (Россия, Краснодар, 11–12 октября 2018 г.).
4. Результаты внедрены в лекционный курс и практические занятия на кафедре хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии КубГМУ в 2016 г.
5. Представлены теоретические и практические аспекты совершенствования методов хирургического восстановления костной ткани в условиях приобретенной «остеогенной недостаточности» при воспалительно-деструктивных и дегенеративных процессах челюстей.
6. Изучение новых клеточно-потенцированных технологий хирургического лечения пародонтита со значительной утратой опорного аппарата, восстановления кости после эрадикации одонтогенных кист большого размера, реконструкции регрессионно трансформированного альвеолярного гребня перед дентальной имплантацией является актуальным дополнением учебной программы при подготовке стоматологов и челюстно-лицевых хирургов.

Заведующая кафедрой хирургической
стоматологии и ЧЛХ, д.м.н., профессор

Т.В. Гайворонская

Профессор кафедры хирургической
стоматологии и ЧЛХ, д.м.н.

М.Д. Перова

Ассистент кафедры хирургической
стоматологии и ЧЛХ, к.м.н.

В.Н. Ловлин

«03» 09 2019 г.

«Утверждаю»

Проректор по учебной
деятельности ФГОУ ВО«Ставропольский государственный
медицинский университет»

Минздрава России

д.м.н. профессор

А.Б. Ходжаян

«04» декабря 20 19 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ в учебный процесс

1. Наименование научно-исследовательской работы: «Применение стромально-васкулярной фракции жировой ткани в восстановительно-реконструктивной хирургии полости рта (экспериментальное и клиническое исследование)».
2. Научный консультант: д.м.н., Перова М. Д. Исполнитель: к. м. н. Карпюк В. Б.
3. Источники информации: Карпюк, В.Б. К изучению свежевыделенных аутологичных стромальных клеток подкожной жировой клетчатки для регенерации биологических тканей / В.Б. Карпюк, М.Д. Перова, М.Г. Шубич // Институт стоматологии. – 2009. – № 3. – С. 74-76.; Перова, М.Д. Результаты хирургического лечения больших радикулярных кист с использованием аутологичных стромальных клеток жировой ткани / М.Д. Перова, Е.А. Мельник, В.Б. Карпюк // Новое в теории и практике стоматологии: материалы IX научно-практической конференции сб. науч. работ /под ред. д.м.н., профессора К.Г. Каракова, д.м.н., профессора Е.А. Брагина. – Ставрополь: Изд-во. СтГМА, 2010. – С. 131-134.; Карпюк, В.Б. Клеточные технологии в восстановительной хирургии опорных и мягких тканей челюстно-лицевой области / В.Б. Карпюк, П.М. Лаврешин, М.Д. Перова // Анналы пласт., реконструктив. и эстет. хирургии. – 2015. – № 3. – С. 87-96.
4. Результаты исследования внедрены в процесс обучения на кафедре хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии СтГМУ в 2016 г.
5. На основании результатов проведенных исследований доказана превосходящая эффективность регенеративных хирургических технологий восстановления костной ткани челюстей с применением доступного источника стволовых/стромальных клеток – аутогенной стромально-васкулярной фракции жировой ткани.
6. Результаты исследования заслуживают положительной оценки и могут быть использованы в учебном процессе при рассмотрении вопросов современных методов восстановления и реконструкции опорных тканей полости рта и всей челюстно-лицевой области.

Заведующая кафедрой
хирургической стоматологии и ЧЛХ
д.м.н., профессор

К.С. Гандылян

Доцент кафедры
хирургической стоматологии и ЧЛХ
к.м.н., доцент

Н.Н. Письменова

Доцент кафедры
хирургической стоматологии и ЧЛХ
к.м.н.

Е.В. Елисеева

«04» 09 20 19 г.

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по учебной и воспитательной работе
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный
медицинский университет» Минздрава России

д.м.н. профессор

Т.В. Гайворонская

«03» сентября 2019 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ
в учебный процесс

1. Наименование научно-исследовательской работы: «Применение стромально-васкулярной фракции жировой ткани в восстановительно-реконструктивной хирургии полости рта (экспериментальное и клиническое исследование)».
2. Научный консультант: д.м.н., Перова М. Д. Исполнитель: к. м. н. Карпюк В. Б.
3. Источники информации: Клинико-гистологическая оценка результатов лечения одонтогенных кист челюстей / М.Д. Перова, Е.А. Мельник, В.Б. Карпюк // Общероссийская научно-практическая конференция стоматологических кафедр КГМУ «Современные вопросы стоматологии». Мат. конф. – Россия, Краснодар, 20-22 мая 2010 г. – С.153-157.; Некоторые аспекты клеточного поведения после аутотрансплантации васкулярно-стромальной фракции процессированного липоасpirата у больных пародонтитом средней и тяжелой степени / М.Д. Перова, Т.В. Гайворонская, В.Б. Карпюк, А.В. Тропина // Актуальные вопросы в теории и практике стоматологии (юбилейный сб. науч. трудов) / ГБОУ ВПО КубГМУ. – Москва-Краснодар, 2013. – С. 266-271.; Материалы научно-практической конференции «Актуальные вопросы челюстно-лицевой хирургии и имплантологии» (Россия, Краснодар, 26–27 октября 2017 г.), Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы стоматологии» (Россия, Краснодар, 11–12 октября 2018 г.).
4. Результаты внедрены в лекционный курс и практические занятия на кафедре хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии КубГМУ в 2016 г.
5. Представлены теоретические и практические аспекты совершенствования методов хирургического восстановления костной ткани в условиях приобретенной «остеогенной недостаточности» при воспалительно-деструктивных и дегенеративных процессах челюстей.
6. Изучение новых клеточно-потенцированных технологий хирургического лечения пародонтита со значительной утратой опорного аппарата, восстановления кости после эрадикации одонтогенных кист большого размера, реконструкции регрессионно трансформированного альвеолярного гребня перед дентальной имплантацией является актуальным дополнением учебной программы при подготовке стоматологов и челюстно-лицевых хирургов.

Заведующая кафедрой хирургической
стоматологии и ЧЛХ, д.м.н., профессор

Т.В. Гайворонская

Профессор кафедры хирургической
стоматологии и ЧЛХ, д.м.н.

М.Д. Перова

Ассистент кафедры хирургической
стоматологии и ЧЛХ, к.м.н.

В.Н. Ловлин

«03» 09 2019 г.



МИНЗДРАВ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования «Южно-Уральский
государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
(ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России)

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной,
 инновационной и международной
 работе



Д.Ф. Телешева

« 20 19 г.

АКТ

О внедрении в учебный процесс
 результатов диссертационной работы

Карпюка Владимира Борисовича по теме «Применение стромально-васкулярной фракции жировой ткани в восстановительно-реконструктивной хирургии полости рта (экспериментальное и клиническое исследование)» в практику кафедры Хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России.

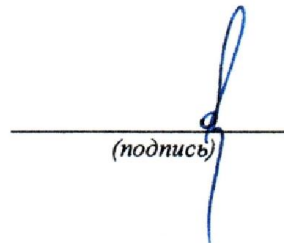
Мы, нижеподписавшиеся, комиссия в составе председателя, проректора по учебной, внеучебной и воспитательной работе, доктора медицинских наук, доцента Рассохиной Л.М., заведующего кафедрой Хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, доктора медицинских наук, доцента Латюшиной Л.С., профессора кафедры Хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, доктора медицинских наук, доцента Васильева Ю.С., удостоверяем, что результаты диссертационной работы Карпюка Владимира Борисовича внедрены в учебный процесс кафедры Хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России: в содержание лекций (Тема: «Реконструктивная хирургия полости рта, реконструктивная хирургия челюстно-лицевой области») и практических занятий (Тема: «Реконструктивная хирургия полости рта, реконструктивная хирургия челюстно-лицевой области») дисциплины «Челюстно-лицевая и гнатическая хирургия» для обучающихся по основной профессиональной образовательной программе высшего образования – программе специалитета (31.05.03 Стоматология), в содержание лекций (Тема: «Общие принципы реконструктивной пластической хирургии: основные понятия, классификация пластического материала) и практических занятий (Тема: «Использование

дистанционных лоскутов, трансплантатов и имплантатов в челюстно-лицевой хирургии») для обучающихся по основной образовательной программе высшего образования – программе ординатуры (31.05.03 Челюстно-лицевая хирургия) с 02.09.2019 (Протокол № 1 от 29.08.2019).

В процессе выполнения диссертации «Применение стромально-васкулярной фракции жировой ткани в восстановительно-реконструктивной хирургии полости рта (экспериментальное и клиническое исследование)» представлено научное обоснование и предложены пути реализации нового регенеративного направления в восстановительно-реконструктивной хирургии опорных тканей полости рта, заключающегося в целенаправленном улучшении регенераторных способностей хирургически модифицируемых тканей или имплантируемых биоматериалов с помощью аутологичного источника мультипотентных клеток и трофических факторов – стромально-васкулярной фракции жировой ткани.

Основные положения научно-исследовательской работы отвечают критериям новизны и могут быть использованы в учебном процессе при рассмотрении современных методов лечения и реабилитации пациентов с воспалительно-деструктивными и дегенеративными процессами костной ткани челюстей.

Проректор по учебной, внеучебной
и воспитательной работе,
доктор медицинских наук, доцент



(подпись)

Л.М. Рассохина

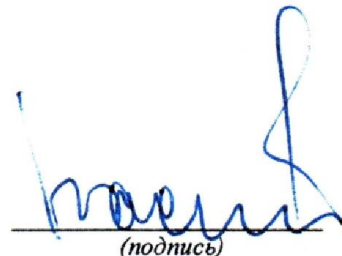
Заведующий кафедрой
Хирургической стоматологии
и челюстно-лицевой хирургии,
доктор медицинских наук, доцент



(подпись)

Л.С. Латюшина

Профессор кафедры
Хирургической стоматологии
и челюстно-лицевой хирургии,
доктор медицинских наук, доцент



(подпись)

Ю.С. Васильев

«Утверждаю»

Проректор по учебной работе
ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И.
Мечникова Минздрава России
д.м.н. профессор
С.А. Артюшкин



«10» сентября 2019 г

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

в учебный процесс

1. Наименование научно-исследовательской работы: «Применение стромально-васкулярной фракции жировой ткани в восстановительно-реконструктивной хирургии полости рта (экспериментальное и клиническое исследование)».
2. Научный консультат: д.м.н., Перова М.Д. Исполнитель: к.м.н. Карпюк В.Б.
3. Источники информации: Замещение больших дефектов нижней челюсти путем остеогенной трансформации аутотрансплантированных стромальных клеток жировой ткани (экспериментальное исследование) / В.Б. Карпюк, М.Д. Перова, В.А. Козлов, А.В. Фомичева, Е.А.Мельник // XII Международная конференция челюстно-лицевых хирургов и стоматологов: «Новые технологии в стоматологии». Мат. конф.— Санкт-Петербург, 22-24 мая 2007г.- С. 103-104.; Возможности аутогенной васкулярно-стромальноклеточной фракции для восстановления кости при лечении корневых кист челюстей /М.Д. Перова, Е.А. Мельник, В.Б. Карпюк, В.А. Козлов // XV Международная конференция челюстно-лицевых хирургов и стоматологов: «Новые технологии в стоматологии». Мат. конф.- Санкт-Петербург, 17-19 мая 2010г.- С. 140-142.; Клинико-морфологическая оценка состояния альвеолярного гребня челюстей после клеточно-потенцированной реконструкции / М.Д.Перова, В.Б. Карпюк, В.А. Козлов // XXIV Международная конференция челюстно-лицевых хирургов и стоматологов «Новые технологии в стоматологии». Мат.конф.- Санкт-Петербург, 14-16 мая 2019г.- С. 103-105.
4. Результаты исследования внедрены в учебный процесс на кафедре челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии им. А.А.Лимберга СЗГМУ им. И.И. Мечникова в 2019г.
5. На экспериментальном и клиническом материале представлены теоретические и прикладные аспекты оптимизации репаративного остеогистогенеза и хирургического восстановления кости с помощью использования стромально-васкулярной фракции жировой ткани.
6. Результаты настоящего исследования заслуживают положительной оценки и могут использоваться в учебном процессе при освещении современных биотехнологических персонализированных подходов к лечению и реабилитации больных с остеодеструктивными и остеодегенеративными заболеваниями зубочелюстной системы.

Заведующий кафедрой челюстно-лицевой хирургии
и хирургической стоматологии им. А.А. Лимберга,
д.м.н. профессор

М.Г. Семенов

Профессор кафедры челюстно-лицевой хирургии
и хирургической стоматологии им. А.А. Лимберга,
д.м.н. профессор, з.д.н. Р.Ф., член-корр. РАН

В.А. Козлов

Доцент кафедры челюстно-лицевой хирургии
и хирургической стоматологии им. А.А. Лимберга, к.м.н.

О.В. Шалак

«10» сентября 2019г

«... подтверждаю»
 Проректор по учебной работе
 ФГБОУ ВО
 «Ростовский государственный медицинский
 университет» Минздрава России
 д.м.н., профессор
 Н.В. Дробота
 «30» 2019 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ в учебный процесс

1. Наименование научно-исследовательской работы: «Применение стромально-васкулярной фракции жировой ткани в восстановительно-реконструктивной хирургии полости рта (экспериментальное и клиническое исследование)».
2. Научный консультант: д.м.н., Перова М. Д. Исполнитель: к. м. н. Карпюк В. Б.
3. Источники информации:
 Карпюк, В.Б. К изучению свежевыделенных аутологичных стромальных клеток подкожной жировой клетчатки для регенерации биологических тканей / В.Б. Карпюк, М.Д. Перова, М.Г. Шубич // Институт стоматологии. – 2009. – № 3. – С. 74-76.;
 Характеристика степени замещения пародонтальных дефектов разной топографии после аутотрансплантации васкулярно-стромальноклеточной фракции липоаспирата / М.Д. Перова, Т.В. Гайворонская, В.Б. Карпюк, А.В. Тропина // Кубанский научный медицинский вестник. – 2013. – № 6. – С.142-148.;
 Оценка аутотрансплантации соединительнотканного нёбного лоскута в сочетании с васкулярно-стромальноклеточной фракцией липоаспирата при тканевой рецессии (10 лет наблюдений) / М.Д. Перова, Н.В. Лапина, Е.А. Фомичева, В.Б. Карпюк, А.В. Тропина, А.А. Взятыхшев // Российский стоматологический журнал. – 2016. – Том 20, № 5. – С. 260-266.
4. Результаты внедрены в учебный процесс на кафедре стоматологии №1 РостГМУ в 2016 г.
5. В исследовании подробно освещены патогенетические основы деструкции тканей пародонта и представлено новое биотехнологическое направление в восстановительной пародонтологии, где в качестве источника регенеративных клеток и стимулов используется стромально-васкулярная фракция жировой ткани пациента.
6. Материалы исследования органично вошли в учебную программу кафедры, предоставив пример современного мультидисциплинарного персонифицированного подхода к лечению воспалительно-деструктивных стоматологических заболеваний.

Заведующий кафедрой стоматологии №1
 к.м.н., доцент

П.В. Мороз

Профессор кафедры стоматологии №1
 д.м.н., доцент

В.А. Проходная

Ассистент кафедры стоматологии №1
 к.м.н.

А.С. Ломова

«30» августа 2019 г.

«Утверждаю»
 Проректор по учебной работе ФГОУ ВО
 «Московский государственный
 медико-стоматологический университет
 имени А.И. Евдокимова» Минздрава России
 академик РАН, д.м.н., профессор
 И.В. Маев
 «07» октября 2019 г.

**АКТ ВНЕДРЕНИЯ
 в учебный процесс**

1. Наименование научно-исследовательской работы: «Применение стромально-васкулярной фракции жировой ткани в восстановительно-реконструктивной хирургии полости рта (экспериментальное и клиническое исследование)».
2. Научный консультант: д.м.н., Перова М. Д. Исполнитель: к. м. н. Карпюк В. Б.
3. Источники информации: К изучению свежевыделенных аутологичных стромальных клеток подкожной жировой клетчатки для регенерации биологических тканей / В.Б. Карпюк, М.Д. Перова, М.Г. Шубич // Институт стоматологии. – 2009. – № 3. – С. 74–76.; Оценка аутотрансплантации соединительнотканного нёбного лоскута в сочетании с васкулярно-стромальноклеточной фракцией липоаспирата при тканевой рецессии (10 лет наблюдений) / М.Д. Перова, Н.В. Лапина, Е.А. Фомичева, В.Б. Карпюк, А.В. Тропина, А.А. Взятых // Российский стоматологический журнал. – 2016. – Том 20, № 5. – С. 260–266; Влияние хирургического лечения пародонтита с дополнительным источником регенерации на состояние околоимплантатных тканей / М.Д. Перова, В.Б. Карпюк, В.А. Козлов, И.А. Севостьянов, А.Ю. Ананич // Институт стоматологии. – 2018. – № 4 (81). – С. 37–39;
4. Результаты исследования внедрены в учебный процесс на кафедре пародонтологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова в 2019 г.
5. Научно-исследовательская работа посвящена актуальной теме – разработке регенеративных и тканеинженерных технологий восстановления кости альвеолярного гребня челюстей и тканей пародонта. В качестве источника мультипотентных клеток и трофических факторов предложено использовать минимально манипулированный клеточный материал – аутогенную стромально-васкулярную фракцию жировой ткани.
6. Представленные результаты исследования рекомендованы к изучению обучающимися на кафедрах стоматологического факультета при рассмотрении современных методов лечения заболеваний пародонта.

Заведующий кафедрой пародонтологии
 член корр. РАН, д.м.н., профессор

О.О. Янушевич

Профессор кафедры пародонтологии
 д.м.н., профессор

С.Н. Ермольев

Доцент, кафедры пародонтологии
 к.м.н.

Г.С. Рунова

«07» 10 2019 г.