

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

На правах рукописи

АНДРЕЕВ

Антон Александрович

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ
В ПЕРИИМПЛАНТАТНЫХ ДЕФЕКТАХ ЧЕЛЮСТЕЙ
(клинико-экспериментальное исследование)**

3.1.7. Стоматология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,

профессор С.В.Сирак

Ставрополь – 2023

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ В ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ (обзор литературы)	14
1.1. Технологии и опыт практического применения костезамещающих материалов на основе сульфата кальция в челюстно-лицевой хирургии и дентальной имплантологии	15
1.2. Оценка потенциала костной ткани к репаративной регенерации на моделях стандартных костных дефектов	23
1.3. Проблема распространенности и этиологии периимплантита, использование биоматериалов для замещения периимплантатных костных дефектов	26
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	31
2.1. Общая характеристика проведенных исследований	31
2.2. Краткая характеристика объектов и субъектов исследования	34
2.3. Материалы и методы экспериментальной части исследования	36
2.4. Материалы и методы лабораторной части исследования	40
2.5. Материалы и методы клинической части исследования	42
2.6. Материалы и методы рентгенологического исследования	47
2.7. Материалы и методы биохимических исследований	53
2.8. Материалы и методы статической обработки данных	57
ГЛАВА 3. ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА ПРИ ПЛАСТИКЕ СИНТЕТИЧЕСКИМ БИОМАТЕРИАЛОМ ПО БЕЗМЕМБРАННОЙ ТЕХНОЛОГИИ СТАНДАРТНО ВОСПРОИЗВЕДЕННОГО КОСТНОГО ДЕФЕКТАХ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ	58
ГЛАВА 4. ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПЕРИИМПЛАНТАТНЫХ КОСТНЫХ ДЕФЕКТАХ ЧЕЛЮСТЕЙ, ЗАМЕЩАЕМЫХ СИНТЕТИЧЕСКИМ БИОМАТЕРИАЛОМ ПО БЕЗМЕМБРАННОЙ ТЕХНОЛОГИИ	69
4.1. Результаты опытно-конструкторских работ по созданию экспериментальной модели периимплантита	69
4.2. Результаты исследования гистологических и иммуногистохимических особенностей регенерации костной ткани верхней челюсти в экспериментальных периимплантатных дефектах, замещаемых синтетическим биоматериалом по безмембранной	79

технологии	
4.2.1. Результаты исследования в контрольной группе (верхняя челюсть)	79
4.2.2. Результаты исследования в основной группе (верхняя челюсть)	84
4.3. Результаты исследования гистологических и иммуногистохимических особенностей регенерации костной ткани нижней челюсти в экспериментальных периимплантатных дефектах, замещаемых синтетическим биоматериалом по безмембранной технологии	102
4.3.1. Результаты исследования в контрольной группе (нижняя челюсть)	103
4.3.2. Результаты исследования в основной группе (нижняя челюсть)	109
ГЛАВА 5. КЛИНИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКОГО БИОМАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ РЕЗОРБИРУЕМОЙ ДВУХФАЗНОЙ СМЕСИ ГИДРОКСИАПАТИТА КАЛЬЦИЯ, ТРИКАЛЬЦИЙФОСФАТА С АКТИВАТОРОМ СКЛЕЙКИ ГРАНУЛ И ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ	129
5.1. Результаты рентгенологических исследований	131
5.2. Результаты ультразвуковых исследований	138
5.3. Результаты биохимических исследований	143
5.4. Ближайшие и отдаленные результаты клинических исследований	147
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	153
ВЫВОДЫ	158
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	160
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	161
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	162
Приложение	188

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Основной задачей хирургического замещения костных дефектов челюстей является профилактика послеоперационных осложнений, оптимизация и стимуляция процессов репаративного остеогенеза (Г.А.Гребнев, 2019; С.Ю.Иванов, 2016, 2020; Н.-W.Yang, 2018; F.R.Kloss, 2019). Воспроизведение и замещение искусственно воспроизведенных дефектов челюстных костей различными биоматериалами в эксперименте на животных давно стало золотым стандартом при оценке репаративных свойств биodeградируемых средств, ввиду их выраженной способности обеспечивать полноценное восстановление объема утраченных костных структур (К.А.Егизарян, 2017; О.А.Азарова, 2019; С.В.Аверьянов, 2020; X.Struillou, 2018). В связи с бурным развитием дентальной имплантологии возникла проблема устранения периимплантных костных дефектов, неизбежно образующихся в ходе длительной эксплуатации внутрикостных дентальных имплантатов (Е.С.Головина, 2014; А.С.Панкратов, 2018; Н.Г.Плехова, 2019; О.А.Гуляева, 2021; M.Madi, 2016; L.J.A.Heitz-Mayfield, 2018; B.Klinge, 2019; F.Fahimipour, 2020).

По данным литературы, некоторые аналоги минеральной составляющей костной ткани, такие, как гидроксиапатит кальция (ГАП) и трикальцийфосфат (ТКФ), прочно прижились в практике специалистов-стоматологов, травматологов, челюстно-лицевых хирургов, особенно в тех случаях, когда врачам требуются материалы, способные служить матрицей, основой для роста новообразованной костной ткани в больших по объему и протяженности костных дефектах (А.С.Панкратов, 2018; Ю.А.Сергеев, 2018; S.Hosseinpour, 2019). Исследованию влияния ГАП и ТКФ на заживление костной раны в пластической и реконструктивной челюстно-лицевой хирургии представлено большим количеством работ (И.Ю.Петров, 2018). Вместе с тем, чистые ГАП и ТКФ не лишены некоторых недостатков: у них отсутствуют индуктивность и явное сродство к кости, а высокая рентгеноконтрастность материала не

позволяет последовательно оценить процесс преобразований в заполненном им костном дефекте (А.В.Лукин, 2019; L.P.Datta, 2020). По мнению многих авторов, в настоящее время проблема восстановления костной ткани челюстей еще далека от окончательного решения, а универсального остеопластического материала, который бы отвечал всем необходимым требованиям в стоматологии не существует. В связи с тем, поиск новых средств, способных стимулировать процессы репаративного остеогенеза, остается актуальным.

Степень разработанности темы исследования. Вышеперечисленные обстоятельства обусловили поиск композитных синтетических и комбинированных материалов на основе бифазных керамик с использованием различных биоматериалов, связующих компонентов и биоактивных веществ, а также фармакологических препаратов, усиливающих репарацию кости (В.Huang, 2018; С.Chen, 2020). В последнее время синтезирована смесь ГАП с ТКФ (Н.Jaber, 2019), на основе которой готовятся блоки, порошки с разной скоростью резорбции, а также композиты с другими веществами и биоматериалами в зависимости от цели их использования (А.К.Иорданишвили, 2016; А.А.Кулаков, 2019; Т.Tanaka, 2017), которые дополняют ГАП терапевтическими, бактерицидными и другими свойствами (S.Otto, 2017; G.La Monaca, 2018).

Однако сама техника применения синтетических биоматериалов в полости рта сопряжена с большими трудностями, которые обусловлены необходимостью обязательного разделения между собой двух источников регенерации – тканей десны и собственно костной ткани замещаемого дефекта из-за длительного периода резорбирования гранул биоматериалов (S.Murakami, 2017; U.D.Ramos, 2018). Особенно это неудобно, когда пластике подлежат обширные полости и дефекты (Ю.А.Сергеев, 2018; Y.Jinno, 2019). Одной из актуальных задач стоматологии и медицинской техники является разработка такого биоматериала, который мог являться прочной основой для роста новообразованной костью, легко заполнять любой костный дефект, плотно прилегая к его стенкам, а при их отсутствии – обеспечивать прочный каркас для

прикрепления сосудов, нервов и формирующихся костных трабекул (С.А.Асеведо, 2019).

Одним из таких синтетических биоматериалов является остеопластическая композиция с различной степенью резорбции, которая представляет собой резорбируемую двухфазную смесь из 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата, с активатором склейки гранул, превращающем их в пластичную, легко поддающуюся формовке, удобную для работы хирурга массу (А.В.Соломных, 2019). Такие материалы достаточно пластичны до контакта с кровью или межтканевой жидкостью, после чего твердеют с образованием прочной монолитной массы, вокруг которой формируются условия для полноценного ангио-, нео- и остеогенеза (Е.В.Щетинин, 2019). Если в состав подобной композиции ввести вещества-пластификаторы, повышающие биостимулирующую активность еще на этапе ее приготовления, это придаст ей свойства, ранее не доступные для каждого из компонентов композиции в отдельности (S.Corbella, 2017). Сегодня все чаще в качестве такого пластификатора применяют гиалуроновую кислоту, способную, по данным исследователей, стимулировать нео- и ангиогенез.

В этой связи дальнейшее изучение свойств комбинаций биологических материалов, стимулирующих репаративный остеогенез, является одним из перспективных направлений в решении проблемы оптимизации восстановления полноценной костной ткани и сокращения сроков реабилитации больных с периимплантитом.

Цель исследования:

Повышение эффективности регенерации в периимплантатных дефектах челюстных костей, замещаемых синтетическим биоматериалом по безмембранной технологии.

Задачи исследования:

1. Изучить в эксперименте динамику процессов остеоинтеграции в стандартном костном дефекте нижней челюсти кролика при ведении раны под кровяным сгустком и замещении резорбируемой двухфазной смесью

гидроксиапатита кальция, β -трикальцийфосфата с активатором склейки гранул и гиалуроновой кислотой.

2. Разработать модель периимплантита для исследования процессов скорости резорбции биоматериалов и репаративного остеогенеза костной ткани челюсти в эксперименте на крупных животных (овцы).

3. Исследовать гистологические и иммуногистохимические особенности регенерации костной ткани верхней и нижней челюстей в экспериментальных периимплантатных дефектах, замещаемых синтетическим биоматериалом по безмембранной технологии.

4. Изучить динамику репаративных процессов в области периимплантатных дефектов костной ткани по данным клинико-рентгенологических и эхоостеометрических исследований.

5. С помощью биохимических исследований крови и мочи больных с периимплантитом изучить влияние резорбируемой двухфазной смеси гидроксиапатита кальция, β -трикальцийфосфата с активатором склейки гранул и гиалуроновой кислотой на метаболизм коллагена и ферментационную активность аминотрансфераз сыворотки крови.

Научная новизна. Впервые на модели стандартного костного дефекта, замещаемого резорбируемой двухфазной смесью 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата с активатором склейки гранул Bio Linker и гиалуроновой кислотой, установлены условия, необходимые для формирования костного репарата, а также сроки его перестройки в зрелую кость.

Впервые разработан способ создания экспериментальной модели периимплантита (патент РФ на изобретение №2730970 по заявке №2019137611 (074291) от 21.11.2019).

Впервые разработана остеопластическая композиция для ремоделирования периимплантной зоны челюстной кости (патент РФ на изобретение №2765850 по заявке №2019139895 (078438) от 05.12.2019).

Впервые разработана остеопластическая композиция для субантральной аугментации (патент РФ на изобретение №2729651 по заявке №2019139733 (078679) от 04.12.2019).

Впервые исследованы особенности регенерации костной ткани верхней и нижней челюстей в экспериментальных периимплантатных дефектах, замещаемых синтетическим биоматериалом по безмембранной технологии: при иммуногистохимическом исследовании выявлена экспрессия антигенов – Ki67⁺ (пролиферирующих клеток на стадии интерфазы), CD34⁺ (эндотелиальных клеток сосудов) и NSE⁺ (нейрон специфической энолазы).

Установлено, что введение вместе с остеопластическим биоматериалом гиалуроновой кислоты приводит к увеличению в регенерате числа гемопоэтических стволовых клеток-предшественников, эндотелиальных клеток сосудов (CD34⁺) и стимуляции аутогенного неоваскулогенеза (Ki67⁺).

Определено, что отличительной чертой репаративного процесса в периимплантатных дефектах, замещаемых исследуемым биоматериалом к 30-60-м суткам является нейроэндокринная дифференцировка клеток нейроэктодермального происхождения (NSE⁺), что свидетельствует об активации процессов нео- и ангиогенеза.

Впервые в клинических условиях исследованы рентгенологические, эхоостеометрические и биохимические показатели остеointegrации биоматериала на основе резорбируемой двухфазной смеси 60% ГАП и 40% ТКФ с активатором склейки гранул и гиалуроновой кислотой, установлены сроки формирования регенерата в зависимости от размера периимплантатного дефекта.

Установлено, что интенсивность репаративной регенерации в области замещаемых биоматериалом периимплантатных дефектов, оцениваемая по показателям скорости распространения ультразвука в челюстных костях как перед хирургическим вмешательством, так и в отдаленные сроки после операции, коррелируют с клинико-рентгенологической характеристикой процессов остеорегенерации, а ультразвуковая эхоостеометрия объективно

подтверждает и дополняет клинико-рентгенологическую картину перестройки новообразованного регенерата в полноценную кость.

Теоретическая и практическая значимость работы. На основании исследования особенностей формирования костного регенерата и новообразования кости в периимплантатном дефекте, замещаемом резорбируемой двухфазной смесью ГАП и ТКФ с активатором склейки гранул и гиалуроновой кислотой, практическому здравоохранению предложен новый метод лечения, создающий благоприятные условия для активизации восстановительных процессов в ранние сроки после операции.

Разработанный метод лечения позволяет ускорить процессы остеорегенерации и быстрого восстановления структуры костной ткани, предотвращает возникновение атрофии и вторичной деформации альвеолярного отростка челюстей, улучшает условия для дальнейшего протезирования или дентальной имплантации.

Установлено, что предлагаемая к использованию в клинике резорбируемая двухфазная смесь 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата с активатором склейки гранул Bio Linker и гиалуроновой кислотой, является биологически активным остеопластическим материалом, не вызывает негативных изменений в биохимическом балансе и не нарушает гомеостаз организма.

Применение резорбируемой двухфазной смеси из 60% ГАП и 40% ТКФ с активатором склейки гранул и в комбинации с гиалуроновой кислотой для устранения периимплантатных дефектов челюсти стимулирует репарационный остеогенез и обеспечивает полное восстановление структуры костной ткани в области периимплантатного дефекта в течение 3-6 месяцев после операции.

Предложенный способ остеопластики позволяет получить качественно новые результаты лечения, добиться активизации и оптимизации остеогенеза при лечении периимплантита с полноценным восстановлением поврежденной костной ткани.

Методология и методы исследования. Диссертационное исследование выполнено по заранее определенному плану, в соответствии с принципами доказательной медицины, с использованием экспериментальные, инструментальных, опытно-конструкторских, лабораторных, морфологических, гистологических, иммуногистохимических, биохимических, рентгенологических, клинических и статистических методов исследования.

Объект исследования: в экспериментальной части - животные (кролики) с искусственно созданными стандартными костными дефектами нижней челюсти, животные (овцы) с искусственно воспроизведенной моделью периимплантита; в клинической части - больные с периимплантатными дефектами челюстных костей.

Предмет исследования – гистологические, иммуногистохимические, морфологические особенности процесса остеорегенерации в периимплантатных дефектах после их замещения резорбируемой двухфазной смесью из 60% ГАП и 40% ТКФ с активатором склейки гранул и гиалуроновой кислотой; роль рентгенологических, эхоостеометрических и биохимических показателей при оценке интенсивности остеорепаративной регенерации костной ткани вокруг дентального имплантата.

Отрасль науки – медицинские науки.

Основные научные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Использование резорбируемой двухфазной смеси из 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата с активатором склейки гранул Bio Linker и гиалуроновой кислотой при замещении как стандартного, так и периимплантатного дефекта челюстной кости способствует оптимизации репаративного остеогенеза и формированию полноценного регенерата в более короткие сроки, чем при заживлении под кровяным сгустком.
2. Разработанная модель периимплантита существенно расширяет границы практической применимости модели по сравнению аналогами, позволяя исключить летальность подопытных субъектов, получив при этом большой объем окружающих тканей, доступных для исследования.

3. Накопление в клетках регенерата стрессорного белка виментина является приспособительной реакцией организма по повышению устойчивости тканей к патофизиологическим изменениям, происходящим вокруг биоматериала, имплантированного в периимплантатный дефект.
4. Увеличение показателей ультразвуковой эхоостеометрии в основной группе больных в сроки 3-6 месяцев после операции подтверждает быструю биодеградацию имплантированного биоматериала, последовательное формирование высокодифференцированной костной ткани и высокую скорость минерализации регенерата.
5. Биохимические показатели метаболизма коллагена (свободный 4-гидроксипролин и белково-связанный 4-гидроксипролин), свидетельствуют о переходе от стадии резорбции в стадии биосинтеза коллагена, начиная с 3-х суток после замещения периимплантатного дефекта резорбируемой двухфазной смесью 60% ГАП и 40% ТКФ с активатором склейки гранул и гиалуроновой кислотой.

Степень достоверности и апробация результатов исследования.

Достоверность проведенного исследования определяется формированием достаточного количества клинических (n=108) и экспериментальных наблюдений (n=42), наличием групп сравнения, использованием современных методов диагностики, иммуногистохимического, морфологического и биохимического исследований, методов экспериментального моделирования с обработкой полученных результатов современными методами статистического анализа.

Материалы диссертационного исследования представлены и обсуждены на научно-практических конференциях, симпозиумах и форумах различного уровня: местных, региональных, всероссийских и международных, включая научно-практическую конференцию с международным участием «Неделя вузовской науки. Взгляд в будущее» (Москва, 20-22.09.2018), VI открытую международную научно-практическую конференцию «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Москва, 22-25.11.2019),

конференции молодых ученых «Фундаментальная медицина» (Ставрополь, 16-18.09.2019), IV Международный конгресс по дентальной имплантологии (Санкт-Петербург, 5-6.03.2020), международной научно-практической конференции «День высокой стоматологии в Республике Беларусь – 2020» в формате видеоконференции (Минск, 03.04-04.04.2020), конференции с международным участием «Актуальные проблемы фундаментальной медицины и клинической стоматологии» (Ставрополь, 02.03-03.03.2022).

Апробация диссертации проведена на расширенном заседании сотрудников кафедры стоматологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава РФ.

Внедрение результатов исследований. Результаты диссертационного исследования внедрены и используются в практической работе, как частных, так и государственных лечебных учреждений г. Ставрополя. Полученные в ходе диссертационного исследования результаты легли в основу материалов, внедренных в учебный процесс на кафедрах стоматологии и патологической физиологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, внедрены в практику и учебный процесс в ООО НПО «Институт экспериментальной медицины и новых образовательных технологий».

Публикации. По теме диссертации опубликовано 14 печатных работ, из них 12 – в изданиях, 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, включая 3 патента на изобретение. Общий объем публикаций составил 14 печатных листов, личный вклад 90%.

Личный вклад автора в исследование. Соискателем лично проведен глубокий патентно-информационный поиск по теме диссертации, написан обзор литературы, разработаны модель периимплантита и остеопластическая

композиция для ремоделирования периимплантной зоны челюстной кости. Систематизация и статистическая обработка полученных результатов проведена диссертантом лично, самостоятельно осуществлены все клинические разделы исследования, в практическое здравоохранение внедрены разработанные методы терапии. Совместно с научным руководителем и научным консультантом проведен анализ и обобщение результатов экспериментальных исследований, сделаны выводы и практические рекомендации. Научные публикации, текст диссертации и автореферат написаны автором лично.

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 198 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы, который включает 187 источников, из них 94 отечественных и 93 иностранных авторов. Диссертация иллюстрирована 84 рисунками и микрофотографиями, содержит 4 таблицы.

ГЛАВА 1.
СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ
МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ
В ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ
(обзор литературы)

По данным современной науки, наиболее эффективным материалом для замещения дефектов челюстных костей является собственно аутогенная костная ткань, которая обладает одновременно остеоиндуктивными и остеокондуктивными свойствами [2,3,7,10,16,24,40,88,91,109,115,139,182]. При очевидных преимуществах такого подхода для хирурга, пациенту не всегда достаточно мотивация для такого лечения, поскольку методика использования аутогенной кости зачастую несет в себе необходимость дополнительного хирургического вмешательства и риск нанесения операционной травмы.

В этой связи на протяжении ряда лет разрабатывались и разрабатываются различные виды биологически активных материалов для замещения костных полостей. К числу последних относят аллогенную кость (аллогенная деминерализированная, лиофилизированная кость), ксенопластические биоматериалы (на основе синтетических биоматериалов искусственного или природного происхождения) [2,13,44,67,98,110,145,160]. Следует отметить, что ни один из перечисленных остеопластических заменителей костной ткани не получил истинно широкого клинического применения, поскольку не отвечал всем тем требованиям, которые диктуются конкретными условиями клинической практики [11,23,54,71,99,114,119,155,174]. Этот факт объясняется дороговизной и сложностью их получения, высокой антигенной активностью, сложностью моделирования во время операции, возникновением послеоперационных осложнений, а также скоростью резорбции, недостаточной прочностью, длительностью процессов вторичной перестройки костных структур [6,21,29,99,119,128,145,164,171].

В настоящее время тенденция к вытеснению аллотрансплантатов биоматериалами на основе гидроксиапатита кальция (ГАП) и β -трикальцийфосфата (ТКФ) приобрела повсеместный характер. Вместе с этим, такие биоматериалы являются даже не остеокондуктивными, а скорее остеонейтральными, обладают высокой, а иногда и выраженной биологической инертностью и слабо подвергаются резорбции. Проблема заключается в том, что недостаточно лишь заполнить костную полость или периимплантатный дефект биологически активным материалом, поскольку необходимо стимулировать и оптимизировать процесс репаративного остеогенеза для восстановления полноценной костной ткани, важной составной частью которого является активизация нео- и ангиогенеза [30,42,56,61,77,84,119,135,145,167,183].

В этой связи поиск новых материалов и их сочетаний, которые бы потенцировали ход репаративного остеогенеза, остается актуальной задачей регенеративной медицины.

1.1. Технологии и опыт практического применения костезамещающих материалов на основе сульфата кальция в челюстно-лицевой хирургии и дентальной имплантологии

Разработка технологии изготовления препаратов на основе ГАП и ТКФ, экспериментальные исследования и их применение в медицине, начали проводиться практически одновременно в Европе и Японии с середины XX века [7,9,18,22,30,55,90,116]. Приоритет в использовании сульфата кальция и его производных для замещения дефектов кости с целью ускорения репаративного остеогенеза базируется на новых научных знаниях о химическом составе костной ткани, в которой гидроксиапатит и трикальцийфосфат являются составными минеральными частями, но в отличие от инертных природных минералов, искусственно синтезированные ГАП и ТКФ отличаются

рядом свойств, программа реализации которых заложена в них разработчиками изначально [24,32,43,61,70,141,180].

Гранулы синтетического ГАП и ТКФ, помещенные в костную рану (как было установлено ходе экспериментальных и клинических исследований), подвержены метаболическим преобразованиям, за счет которых быстро распадаются до ионов фосфора и кальция.

Данные химические элементы в последующем и составляют основу новообразованной костной ткани. Экспериментальные исследования подтвердили биоинертность, биосовместимость ГАП и ТКФ, отсутствие у них токсичности и канцерогенности, высокую способность интегрироваться с нативной костью за счет связующего, а не контактного остеогенеза, способность в процессе биодеградации преобразовываться в собственную костную ткань [6,34,77,99].

В ряде исследований доказано, что материалы на основе ГАП и ТКФ ускоряют процессы остеогенеза. Так, в научной работе коллектива авторов под руководством N.Baheiraei (2018) доказана эффективность разработанного биоактивного пористого коллагенового / β -трикальцийфосфатного костного трансплантата, способствующего быстрой васкуляризации для применения в инженерии костной ткани [100].

ГАП и ТКФ быстро стали доступной альтернативой биологически активным трансплантатам на основе ауто- и аллогенной кости, их широкое внедрение произошло прежде всего при лечении патологии челюстно-лицевой системы. К числу таких патологических состояний следует отнести те заболевания, которые протекают на фоне деструктивных изменений окружающей (или близлежащей) костной ткани: к ним относят костные дефекты после операции по удалению оболочки одонтогенной кисты челюсти, при травмах челюстных костей, при лечении деструктивных форм пародонтита, при реконструкции атрофированного гребня альвеолярного отростка челюсти [11,20,50,62,101,154].

В исследовании У.Р.Мирзакуловой (2019) приводится убедительное клинико-рентгенологическое обоснование использования нового композитного материала на основе ГАП и ТКФ в хирургическом лечении экспериментального пародонтита [54], а в исследовании М.А.Курманалиной (2019) – высоко оценивается клинико-рентгенологическая эффективность лечения хронического периодонтита двухфазным кальций-фосфатным биоматериалом [43].

Клинические испытания ГАП подтвердили его эффективность в повышении остеоинтеграции в стоматологии при замещении дефектов костей лицевого скелета: при эндооссальной имплантации, некоторых видах лоскутных операций, переломах челюстей, субантральной аугментации, коррекции альвеолярного отростка, для заполнения лунок после удаления зубов [16,93,117,165,174].

Так, в исследовании Г.А.Гребнева (2015) проведена полноценное обоснование использование остеопластических материалов в качестве костезамещающего средства для пластики костного дефекта после цистэктомии [17]. Кроме этого, авторским коллективом под руководством профессора Г.А.Гребнева дана положительная оценка эффективности профилактики инфекционно-воспалительных осложнений после операции удаления зуба у военнослужащих с применением антисептического гидрогеля на основе смеси ГАП и ТКФ [18].

Наряду с биосовместимостью, скорость резорбции является одной из важных составляющих эффективности при использовании ГАП и ТКФ [77,129].

По мнению А.С.Панкратова (2018) решение проблемы биоинтеграции микро-и нанокристаллического гидроксиапатита в процессе биодеградации ГАП зависит от его физико-химических характеристик, которые в значительной степени определяются условиями его синтеза [66].

Как считает S.Ishack (2017), принципиально важным фактором, определяющим биохимический потенциал ГАП, является размер и форма его частиц, а регенерация костной ткани при критических костных дефектах

наиболее эффективно происходит с использованием трехмерно напечатанных β -трикальцийфосфатных/гидроксиапатитовых каркасов и усиливается за счет покрытия каркасов дипиридамолом [132].

По данным S.Murakami (2017), при уменьшении величины гранул ГАП увеличивается площадь его удельной поверхности, регенеративная способность материала растет прямо пропорционально этому показателю, а воздействие наночастиц бета-трикальцийфосфата наиболее выражено при биосовместимости костной составляющей структуры ложа-реципиента и костной проводящей способности трехмерных коллагеновых каркасов материала-донора [149].

Как показал в своем фундаментальном исследовании по клиническому применению бета-трикальцийфосфата Т.Tanaka (2017), на процесс биодegradации биоматериалов также влияет структура пористости, топография и площадь поверхности, факторы микроокружения - pH среды, клеточный состав и структура матрикса окружающей керамику костной ткани [176].

По данным А.К.Иорданишвили (2016) макропористый ГАП (величиной пор до 120 мкм) с разноразмерными открытыми порами полностью резорбируется в течение 1,5-2 лет, а микропористый ТКФ с открытыми сквозными порами может заменяться аутокостью значительно быстрее - в течение 2 месяцев [32].

По мнению А.В.Соломных (2019) при рассасывании ГАП активизируются остеобласты, направляя весь свой потенциал на стимулирование минерализации новообразованной костной ткани [81].

Вместе с этим, материалы на основе ГАП и ТКФ могут быть причиной воспалительных осложнений и вызвать нагноение.

А.Э.Изосимова (2016) на основе оценки морфологических изменений костной ткани в условиях репаративной регенерации при применении интрамедуллярных фиксаторов с покрытием нитридами титана и гафния предложила вводить в состав биоматериала ионы серебра [31]. В свою очередь, Р.М.Нуритдинов (2017), учитывая широкий спектр антимикробного действия

ионов серебра [62], предложил легировать ГАП, имплантированный в инфицированные костные дефекты ионами серебра, по его данным, в отличие от стандартного ГАП, модифицированный биоматериал подавляет рост некоторых микроорганизмов.

Как показал В.И.Лузин (2018), дополнительное введение в состав композиции с синтетическим ГАП и ТКФ линкомицина и/или метронидазола обеспечивает пролонгированный выход антибактериального препарата, такой подход, по мнению автора, является одновременно перспективным средством оптимизации репаративного остеогенеза [47].

М.В.Гилев (2019) сообщает об успехах лабораторного мониторинга ремоделирования костной ткани при аугментировании импрессионного внутрисуставного перелома с использованием разных типов остеозамещающих материалов на основе гидроксиапатита, как средства стимуляции регенерации костной структуры после хирургического вмешательства [14]. Контрольное обследование больных через 6 месяцев показало стойкую ремиссию и восстановления структуры кортикальной кости.

По данным К.А.Егиазаряна (2017) искусственно синтезированный ГАП близок по химическому составу к минеральному веществу костной ткани, но обладает в основном лишь остеонейтральными и в исключительных случаях - остеокондуктивными свойствами [24].

Невзирая на значительное число позитивных результатов, о которых сообщается в различных экспериментальных исследованиях и клиническом применении ГАП для замещения послеоперационных костных полостей челюстей, имеется большое количество сообщений о неудовлетворительных результатах или послеоперационных осложнениях после применения биоматериалов на основе фосфата кальция [39,64,77,94,114,139].

По мнению F.R.Kloss (2019) по сравнению с аллогенными и аутогенными костными трансплантатами для увеличения дефектов альвеолярного отростка, биоматериалом на основе ГАП и ТКФ присуща замедленная резорбция,

некротические изменения в ране, воспалительные процессы и расхождение швов, болевой синдром [141].

В последнее время активно исследуются возможности более рационального использования кальций-фосфатных керамик и разнообразных их модификаций с целью оптимизации репаративного остеогенеза.

Поиски наиболее эффективного остеопластического материала для челюстно-лицевой хирургии обратили внимание исследователей на коллаген, который является основным фибриллярным белком соединительной ткани. Остеопластические биоматериалы на его основе сочетают в себе положительные качества синтетических полимеров, однако отличаются от них отсутствием токсичности, канцерогенности, способностью всасываться и утилизироваться в организме, лучше депонировать лекарственные препараты [26,67,148,153]. Подобные биоматериалы характеризуются низкими антигенными свойствами и отсутствием иммунной агрессивности [131].

Еще одной интересной особенностью коллагена является способность образовывать комплексы с биологически активными веществами, что дало возможность создать коллагеновые материалы направленного действия. Как установил F.Fahimipour (2020), регенерация костных дефектов критического размера наиболее эффективно происходит при использовании 3D-бислойной коллагеновой мембраны в сочетании с богатой лейкоцитами и тромбоцитами фибриновой мембраной [121].

Есть данные о том, что для замещения костных дефектов после хирургических вмешательств используют остеогенные клетки, импрегнированные в коллагеновую губку, комбинированные трансплантаты, такие, как например композиционные гидрогели на основе желатина, хитозана и поливинилового спирта для биомедицинских применений, описанные в исследовании R.Rodríguez-Rodríguez (2020)[160].

Важным направлением в изучении биоактивных материалов для костной пластики стало изобретение бифазных керамических композитов.

С точки зрения оптимизации репаративного остеогенеза в костной ране скорость биодеградации имплантируемого материала играет ключевую роль.

Так, слишком быстрое резорбирование имплантационного материала может опередить процессы репарации, и в таком случае, вместо остеоинтеграции в ране появятся очаги фиброзной ткани, заместившей собой «пустоту».

В свою очередь, слишком медленное резорбирование имплантационного материала не позволит реализоваться процессам ангио- нео- и остеогенеза в полной мере, что приведет к остеонейтральным репаративным процессам и выразится лишь в механическом заполнении костной раны «остеонейтральным» материалом. По сведениям Т.А.Силантьевой (2015, 2019) биокерамика на основе ГАП биодеградирует медленнее, чем ТКФ [79,80].

Комбинация этих материалов между собой в виде бифазных смесей в различном процентном содержании является весьма перспективным с точки зрения потенцирования имеющихся положительных свойств каждого из материалов. Например, неоспоримым преимуществом ГАП является прочность (возможность создания опоры для прикрепления сосудов и нервов), а преимуществом ТКФ является возможность формирования депо кальция (за счет постепенной биодеградации в ране) [124,176].

Благодаря изменению процентного соотношения в составе смеси ГАП и ТКФ в бифазной керамике в зависимости от цели и задач, которые ставит перед собой врач или ученый, возможно регулирование скорости биодеградации имплантируемого в рану материала.

Известно, что одной из важных составных частей современной регенеративной медицины является разработка, апробирование в эксперименте и клинике биоконпозиционных средств, включая синтетические и натуральные препараты, основу которых составляют пористая гидроксиапатитная керамика и трикальцийфосат. Особый интерес представляют комбинации указанных биологически активных костеобразующих веществ с другими активными веществами, препаратами и их производными [15,23,29,47,115].

Как показали исследования И.В.Майбородина (2019) применение вышеназванных биологически инертных имплантатов способствует прототипированию структуре и свойствам костной ткани. В этой связи в свойства и состав любого биоматериала, который планируется к созданию, необходимо включать параметры, способные поддерживать требуемую прочность и скорость резорбции [50].

Проведенные А.В.Шудриком (2019) экспериментальные исследования на животных с применением композиционного материала с гидрогелем из жировой ткани для заполнения искусственно созданных костных дефектов показали, что происходит лучшая интеграция композиции, которая сопровождается активным развитием репарационных процессов и замещением костным репаратом [91].

В исследовании S.Corbella (2017), посвященном гистоморфометрическому анализу результатов замещения послеоперационных костных дефектов челюстей различными композиционными биоматериалами указано, что разработанный способ репарации обеспечивает ускоренной образование матрикса для наиболее эффективной минерализации костных тканей [109].

Следовательно, как показывает анализ литературных данных по изучению результатов некоторых клинических и экспериментальных изысканий, современные остеопластические биоматериалы на основе гидроксиапатита кальция и трикальцийфосфата по своим свойствам и характеристикам значительно превосходят ало - и ксено- материалы. Кроме этого, биоматериалы на основе ГАП и ТКФ способствуют скорейшему достижению положительных результатов при замещении послеоперационных костных полостей в челюстно-лицевой области.

Вместе с тем, существующие и широко применяемые современные препараты на основе гидроксиапатита кальция и трикальцийфосфата все еще несовершенны, поэтому не в полной мере соответствуют высоким стандартам и

требованиям клиницистов, в первую очередь, из-за отсутствия выраженных остеоиндуктивных свойств.

Именно поэтому для синтеза новых остеогенных клеток и роста микрокапилляров сосудистого русла в нужном количестве и направлении необходимо соблюдать обязательное условие по включению в базовый состав биоматериала биологически активных веществ при планировании осуществления мероприятий по направленной регенерации костной ткани.

Такие компоненты обеспечат остеокондукцию, остеоиндукцию и рост новообразованной костной матрицы за счет усиления минерализации и остеогенизации трабекулярной структуры костной ткани [1,2,9,15,20,22,24,26,37,39,48,51,61,64,75,77,81,94,112,149,175,185].

Наиболее эффективным способом исследования вышеназванных процессов является эксперименты на живых организмах, среди которых признанным «золотым стандартом» является воспроизведение искусственного костного дефекта, заполняемого изучаемым остеопластическим материалом.

1.2. Оценка потенциала костной ткани к репаративной регенерации на моделях стандартных костных дефектов

Экспериментальные исследования на животных, посвященные изучению эффективности направленной регенерации костной ткани путем воспроизведения искусственного костного дефекта, заполняемого изучаемым остеопластическим материалом, проводятся по определенным правилам, требующим, по мнению А.К.Иорданишвили (2017) определенной подготовки самих исследователей [33]. Вместе с тем, в литературе достаточно подробно описаны механизмы способы создания экспериментальных моделей стандартного костного дефекта челюсти [6,24,49,52,67,83,86,94,173,186].

Так, в исследовании X.Struillou с соавторами (2018) предпринята попытка оценить регенерацию костной ткани на модели стандартных дефектов пародонта собак, заполненных стратифицированным биоматериалом,

состоящим из двухфазного фосфата кальция (BCP), со сшивающим гидрогелем. Билатеральные, критического размера стандартные дефекты созданы авторами хирургическим путем на нижней челюсти премолярных зубов шести взрослых собак породы «Бигль». Дефекты заполнялись двухфазной смесью фосфата кальция, коллагеновой мембраной и гидрогелевой мембраной Si-HPMC. Через 12 недель эксперимента установлено значительное усиление регенерации костной ткани в тестовой группе BCP/Si-HPMC. В рамках данного исследования авторы сделали предположение, что гидрогель Si-HPMC может выступать в качестве окклюзионного барьера для защиты кости от инвазии мягкой соединительной ткани и эффективно способствовать усилению регенерации кости [173].

В последние десятилетия для лечения различных дефектов пародонта, таких как внутрикостные дефекты, дефекты фуркации и локализованные дефекты рецессии десны, применяется метод направленной регенерации тканей. Так, в исследовании О.И.Годована (2018) сообщается об успехе применения остеопластических материалов на основе ГАП и ТКФ в сочетании с мембранной техникой в пародонтальной хирургии [15].

По данным G.Sam и B.R.Madhavan (2014), эволюция барьерных мембран третьего поколения заключается в использовании мембран не только как барьеров, но и как средств доставки для высвобождения специфических агентов, причем клинические испытания сосредоточены на использовании мембран в качестве устройств для доставки антибиотиков и факторов роста [164].

Впечатляющих результатов добился научный коллектив под руководством F.Fahimipour (2020), разработавший 3D-бислойную коллагеновую мембрану (COL), армированную наночастицами бета-трикальцийфосфата (β -ТКФ). Авторы оценили ее костную регенерацию в сочетании с лейкоцитарно-тромбоцитарным фибрином (L-PRF) *in vivo*. В ходе эксперимента научной группой испытаны механические и физико-химические характеристики мембраны COL/ β -ТКФ. Авторы исследовали пролиферацию и

остеогенную дифференцировку клеток на бислойной коллагеновой/ β -ТКФ мембране.

Стандартные костные дефекты свода черепа белых новозеландских кроликов заполняли β -ТКФ в сочетании с коллагеновой мембраной. Новое костеобразование измеряли гистоморфометрически через 4 и 8 недель после операции. Результаты исследования показали, что пористость регенерата уменьшается при более высоких концентрациях β -ТКФ. Бифазный материал из коллагена/ β -ТКФ продемонстрировал перспективные физико-химические результаты, поскольку $\frac{3}{4}$ дефекта заполнилось пластинчатой костью [121].

В работе R.A.Delgado-Ruiz (2018) получены схожие результаты при использовании материалов на основе ГАП и ТКФ при костной пластике стандартных дефектов голени кроликов [113]. Как указывает в своем исследовании P.R.Prezas с соавторами (2017), результаты импедансной спектроскопии подтверждают высокую биосовместимость и регенераторный потенциал двухфазной биокерамики на основе гидроксиапатита и β -трикальцийфосфата [156].

Аналогичного мнения придерживается авторский коллектив, возглавляемый J.Gong (2018), который провел сравнительный анализ биологической совместимости и антибактериальной активности костного заменителя, состоящего из гидроксиапатита и трикальцийфосфата, легированного серебром [124]. Как подчеркивает Ю.А.Барабаш (2015), при разных методах стимуляции репаративного остеогенеза в костной ране, существенным изменениям подвержена динамика цитокинового профиля, что диктует необходимость поиска новых методов и средств оптимизации репаративного остеогенеза [6].

Как утверждает P.Nikrou (2018), гидрогели на основе декстрана, инкорпорированные в биоактивную стеклокерамику на основе ГАП и ТКФ – самые перспективные нанокомпозитные каркасы для инженерии костной ткани [151].

Таким образом, изучение литературных источников, экспериментальных и клинических исследований различных авторов указывает на целесообразность использования ГАП и ТКФ и их различных сочетаний во многих медицинских отраслях, в том числе в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии [12,30,35,44,80,101,118,120,121,130,149,155,162,178,183].

1.3. Проблема распространенности и этиологии периимплантита, использование биоматериалов для замещения периимплантатных костных дефектов

Важной проблемой современной дентальной имплантологии, требующей подробного исследования, является высокая распространенность возникновения дефектов периимплантатных тканей, в частности, костной ткани, вызванных лизированием костных структур продуктами жизнедеятельности микроорганизмов, а также в результате нарушения саморегуляции биохимических и аутоимунных процессов организма [8,35,40,44,56,127].

По мнению Д.В.Михальченко (2016), также немаловажным фактором развития периимплантита является проблема воспаления в периимплантитных тканях и факторы, влияющие на его течение [56].

Н.Dreyer с соавторами (2018) для выбранных потенциальных факторов риска периимплантита провел статистический анализ гетерогенности и случайных эффектов. В результате поиска авторами получено 8357 потенциально значимых исследований [117]. По данным авторов, распространенность периимплантита на уровне имплантатов колебалась от 1,1% до 85,0%, а заболеваемость - от 0,4% в течение 3 лет до 43,9% в течение 5 лет соответственно. Медиана распространенности периимплантита составила 9% для постоянных участников профилактической программы, 18,8% для пациентов без регулярного профилактического обслуживания, 11% для некурящих, 7% среди пациентов, представляющих общую популяцию, 9,6% для

пациентов, обеспеченных фиксированными частичными зубными протезами, 14,3% - для пациентов с пародонтитом в анамнезе, 26% для пациентов со временем функционирования имплантата ≥ 5 лет и 21,2% в течение ≥ 10 лет. На среднем и высоком уровне доказательств, курение (суммарный эффект 95%), сахарный диабет, отсутствие профилактики и анамнез или наличие пародонтита определены как факторы риска развития периимплантита. Также приводятся данные о том, что возраст пациента, пол и имплантация верхней челюсти не связаны с периимплантитом [117].

По мнению C.Stacchi (2016), в настоящее время не существует убедительных и достоверных доказательств того, что остеопороз, отсутствие кератинизированной слизистой оболочки, характеристики поверхности имплантата или адентулизм являются факторами риска развития периимплантита [171].

Как считает L.J.A.Heitz-Mayfield (2018), необходимы дальнейшие исследования проспективного, рандомизированного и контролируемого типа, включая достаточные размеры выборки по определению эффективности поддерживающей периимплантационной терапии после противомикробного хирургического лечения периимплантита [128].

По данным C.Carral (2018) особенно важно применение последовательных диагностических критериев (например, согласно последнему определению Европейского семинара по пародонтологии) [104].

Как считает Н.Г.Плехова (2019), очень немногие исследования оценивали частоту возникновения периимплантита, однако учет структурных особенностей ремоделирования тканей, прилежащих к области остеорепаляции в дизайне исследования, может способствовать дальнейшему изучению потенциальных факторов риска [68].

По мнению K.Zhang с соавторами (2019), восстановление и регенерация мягких тканей при периимплантате имеет важное значение для долгосрочного клинического успеха функционирования дентальных имплантатов. Модификация поверхности имплантатов с использованием покрытий на основе

сульфата кальция и его модификаций является эффективным подходом к повышению их биосовместимости и антибактериальных свойств. Авторами установлено, что покрытия из ГАП и ТКФ улучшают биосовместимость и антибактериальные свойства, поскольку обладают высоким потенциалом для улучшения репарации, регенерации и интеграции мягких тканей на поверхности имплантатов [187].

Как показали исследования, проведенные В.Нuang с соавтрами (2018), на результат дентальной имплантации определенное влияние оказывает не только глубина установки имплантата, но и непосредственно сама конфигурация периимплантного дефекта. В частности, автору удалось сформировать такую модель экспериментального лигатурного периимплантата у собак, которая позволила оценить эффективность заместительной терапии периимплантатных дефектов кости препаратами на основе сульфата кальция [127].

N.Eliaz (2017) также сообщает о высокой эффективности использования биокерамики на основе фосфата кальция при хирургическом устранении костных дефектов вокруг дентальных имплантатов при периимплантите [119]. В свою очередь, как утверждает Т.Berglundh (2018), своевременная ранняя диагностика периимплантатных воспалительных осложнений позволяет добиться хороших результатов по оптимизации репаративного остеогенеза вокруг «проблемного» дентального имплантата [102].

Как считает I.Polyzois (2019), при ранней диагностике периимплантный мукозит - это проблема, с которой можно легко справиться, если пациент мотивирован и поддерживает хороший уровень гигиены полости рта. Периимплантит труднее поддается лечению, и его результаты могут быть непредсказуемыми. По мнению автора, клинически предсказуемые хирургические результаты, зависят главным образом от конфигурации костного дефекта, положения «проблемного» имплантата и способности пациента выполнять хорошую гигиену полости рта [154].

По мнению С.Ю.Иванова (2015) хорошим подспорьем для клинициста при хирургическом устранении последствий периимплантита может послужить

использование нового остеопластического биоматериала, основу которого составляют природные или искусственные минеральные компоненты, гиалуроновая кислота и сульфатированные гликозаминогликаны [29]. В 2016 году автором на большом клиническом материале удалось доказать положительное влияние остеорепаративного биоматериала нового поколения на основе недеминерализованного костного коллагена гиалуроновой кислоты на репарацию периимплантатных дефектов вокруг дентальных имплантатов [30].

В морфогистохимическом исследовании И.Ю.Петрова (2018) также установлена эффективность использования нового костезамещающего препарата, компонентами которого являются недеминерализованный костный коллаген, гиалуроновая кислота и хондроитинсульфат. Данный биоактивный материал предназначен для восстановления костных дефектов, прошел апробацию в условиях эксперимента на живых организмах [67]. Не менее впечатляющими оказались результаты экспериментальной оценки механизмов минерализации костной ткани в различные стадии репаративного остеогенеза в условиях использования гиалуроновой кислоты и препаратов на основе ГАП и ТКФ, полученных научным коллективом во главе с Е.В.Щетининым (2019). Авторами доказан высокий остеогенный потенциал композиции из гиалуроновой кислоты и препаратов на основе сульфата кальция [94].

Вместе с этим, исследователями не до конца изучен потенциал и возможные эффекты совместного практического применения гиалуроновой кислоты, гидроксиапатита кальция и β -трикальцийфосфата, что диктует необходимость более детального исследования данных позиций в эксперименте на животных и в клинических условиях.

Резюме

Таким образом, проведенный обзор литературных источников по исследуемой теме показал, что, несмотря на достижения науки последних лет в

сфере изучения проблемы оптимизации репаративной регенерации в области периимплантатных костных дефектов челюстей, нерешенными остаются вопросы повышения эффективности заместительной терапии при периимплантите для увеличения сроков функционирования дентальных имплантатов, что важно не только для дентальной имплантологии и стоматологии, но и для медицины в целом.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика проведенных исследований

Планирование основных этапов исследования, включая составление плана эксперимента, определение групп больных, объектов и предмета исследовательской работы, а также практическая реализация поставленных задач произведены в соответствии с планом НИР кафедры стоматологии ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава Российской Федерации (заведующий кафедрой – профессор С.В.Сирак).

При выполнении экспериментального исследования использованы принципы моделирования патологических состояний организма, в частности, ограниченного воспаления и убыли костной ткани альвеолярной части нижней челюсти после установки дентального имплантата (периимплантит) у овец, а также создание экспериментальной модели стандартного дефекта нижней челюсти кролика. Все экспериментальные исследования выполнялись на клинической и лабораторной базе научно-диагностического и лечебного ветеринарного Центра при ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет». Клинические исследования проведены у 108 пациентов. Краткий перечень и наименование проведенных этапов экспериментальных и клинико-лабораторных исследований представлен в таблице 2.1.

Таблица 2.1 – Краткий перечень выполненных экспериментальных и клинико-лабораторных исследований

Субъекты и объекты исследования	Перечень проведенных исследований	Кол-во
1	2	3
Экспериментальные исследования		
Кролики, нижняя челюсть	Моделирование стандартного дефекта нижней челюсти, заполнение дефекта двухфазной	30

	смесью из 60% гидроксиапатита кальция (ГАП) и 40% β -трикальцийфосфата (ТКФ) с активатором склейки гранул Bio Linker и гиалуроновой кислотой (1-я и 2-я группы, по 10 животных в каждой), ведение раны под кровяным сгустком (3-я группа, 10 животных)	
Овцы, нижняя челюсть (контрольная группа)	Моделирование периимплантата в области 8 дентальных имплантатов на правой стороне нижней челюсти (попарно), с ведением раны под кровяным сгустком, левая сторона челюсти – интактная для сравнения.	4
Овцы, нижняя челюсть (основная группа)	Моделирование периимплантата, заполнение периимплантатного дефекта двухфазной смесью из 60% ГАП и 40% ТКФ, с активатором склейки гранул Bio Linker (первая группа), тот же состав, но с добавлением гиалуроновой кислоты (вторая группа). Всего установлено 16 дентальных имплантатов.	8
Овцы, верхняя челюсть, (контрольная группа)	Моделирование периимплантата в области 8 дентальных имплантатов на правой стороне верхней челюсти с ведением раны под кровяным сгустком, левая сторона челюсти – интактная для сравнения.	4
Овцы, верхняя челюсть, (основная группа)	Моделирование периимплантата в области 16 дентальных имплантатов на правой стороне верхней челюсти. Заполнение костного дефекта двухфазной смесью из 60% ГАП и 40% ТКФ, с активатором склейки гранул Bio Linker (первая группа), тот же состав, но с добавлением гиалуроновой кислоты (вторая группа). Всего установлено 16 дентальных имплантатов.	8
Всего:		54
Клинические исследования		
Больные с периимплантитом (контрольная группа)	Лечение больных с периимплантитом без использования остеопластических материалов, периимплантатные дефекты устранены в области 40 дентальных имплантатов	28
Больные с периимплантитом (основная группа)	Лечение больных с использованием для замещения периимплантатного дефекта двухфазной смеси из 60% гидроксиапатита кальция (ГАП) и 40% β -трикальцийфосфата (ТКФ), с активатором склейки гранул Bio Linker	80

	(первая группа), и с добавлением гиалуроновой кислоты (вторая группа). Периимплантатные дефекты устранены в области 114 дентальных имплантатов	
Всего:		108
Гистологические, гистохимические и биохимические исследования		
Препараты костной ткани, полученные в клинических условиях	Гистологические, морфологические и иммуногистохимические исследования	374
Препараты костной ткани, полученные в ходе эксперимента	Гистологические, морфологические и иммуногистохимические исследования	258
Моча, сыворотка крови	Биохимическое исследование с определением активности маркеров метаболизма костной ткани: показатели белково-связанного и свободного 4-гидроксипролина в моче, активность аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы в сыворотке крови	122
Всего:		754
Рентгенологические исследования		
Экспериментальные животные	Рентгенологический контроль на этапах экспериментального исследования, включая радиовизиографию и компьютерную томографию	116
Больные с диагнозом «периимплантит»	Рентгенологическое исследование, включая обзорную рентгенографию и радиовизиографию	334
Всего:		450
Статистические исследования		
Результаты, полученные при обработке фактических данных по видам исследований и группам больных	Определение морфометрических показателей в эксперименте проводилось с помощью программы Видео Тест-Мастер Морфология 4.0 для Windows (Россия). Цифровые результаты клинических, биохимических, эхоостеометрических и рентгенологических исследований обрабатывали методом вариационной статистики с использованием прикладного пакета компьютерной программы для медико-статистических вычислений IBM	1098

	SPSS Statistics 4.0 и MS Excel 2018 для Windows 16.0 с определением вероятных диапазонов достоверности. Используются критерии Шапиро-Уилка (Shapiro-Wilk test), Манна-Уитни (Mann-Whitney U-test), Фридмана (Friedman test), Ньюмена-Кейлса (Newman-Keuls test).	
Всего:		1098

2.2. Краткая характеристика объектов и субъектов исследования

При определении дизайна исследования, исходя из плана реализации научной гипотезы о возможных исходах репаративной регенерации в периимплантатных дефектах челюстных костей, замещаемых синтетическим биоматериалом по безмембранной технологии, сначала проведен эксперимент на лабораторных животных (кроликах), затем – на крупных животных (баранах Северо-Кавказской породы), по результатам которого исследуемые биоматериалы и их композиционные смеси рекомендованы к применению в клинике.

При выборе кроликов в качестве экспериментальной модели в первой части исследования при создании стандартного дефекта челюстной кости руководствовались простотой содержания и низким уровнем агрессии животных, большим объемом биологических тканей в области исследования.

Для экспериментального моделирования периимплантата во второй части исследования выбор остановился на парнокопытных, при этом руководствовались низким уровнем агрессии животных, достаточным объемом требуемых для исследования тканей и простотой их содержания, благодаря чему при заборе материала животное не выводилось из эксперимента в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики (изложенными в национальном стандарте «Принципы надлежащей лабораторной практики» ГОСТ Р 53434-2009), Международными принципами Европейской конвенции о «Защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей» (Страсбург, 1986), международными

рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985), «Общими этическими принципами экспериментов на животных» (Россия, 2011).

При выборе в качестве биоактивного материала остеопластической композиции Easy Graft[®] Crystal с различной степенью резорбции, представляющей собой резорбируемую двухфазную смесь из 60% гидроксиапатита кальция (ГАП) и 40% β -трикальцийфосфата (ТКФ), с активатором склейки гранул Bio Linker, руководствовались частым использованием препаратов на основе сульфата кальция в хирургической стоматологической практике и в дентальной имплантологии (рисунок 2.1 – а).



Рисунок 2.1 – Используемые в исследовании материалы (пояснения в тексте)

Кроме этого, среди преимуществ данного биоактивного костезамещающего материала – возможность использования остеоплатической композиции по безмембранной технологии, реализуемой за счет быстрого затвердевания гранул после контакта с кровью с образованием стабильного пористого тела в виде монолитной массы медленно резорбируемого заменителя кости и удобства работы хирурга вследствие наличия активатора склейки гранул, превращающего их в пластичную, легко поддающуюся формовке при заполнении костных полостей различной формы. Для повышения биостимулирующей активности вышеназванной композиции и обеспечения нео- и ангиогенеза использовали гиалуроновую кислоту, производитель BioScience, Германия (рис. 2.1 – б), которую добавляли в резорбируемую двухфазную смесь из 60% гидроксиапатита кальция (ГАП) и 40% β -трикальцийфосфата (ТКФ) с активатором склейки гранул Bio Linker на этапе внесения в костную рану.

2.3. Материалы и методы экспериментальной части исследования

В эксперименте задействованы взрослые кролики-самцы (n=30) породы Серый Великан и овцы Северокавказской мясошерстной породы (n=12). Характер питания и содержания определяли в соответствии с правилами, принятыми для экспериментальных исследований подобного рода, по режиму 12-и часового дня, без ограничения воды.

Моделирование стандартного дефекта в нижней челюсти кролика. Операцию проводили в условиях операционной под внутривенным рометаровым наркозом с дополнительной местной инфильтрационной анестезией 4% раствором Артикаина гидрохлорида с адреналином 1:100000. Перед разрезом каждому животному выстригали шерсть в области угла нижней челюсти и обрабатывали операционное поле йодом (рисунок 2.2 – а). Затем скальпелем рассекали кожу до надкостницы (рисунок 2.2 – б), для воспроизведения стандартного костного дефекта нижней челюсти в

кортикальной кости фиссурной фрезой формировали сквозное отверстие диаметром 0,5 мм и глубиной 0,5 мм (рисунок 2.2 – в), которое затем под давлением из шприца заполняли исследуемой остеопластической композицией (рисунок 2.2 – г). Всего использовали 30 животных, которые в зависимости от условий эксперимента разделили на 3 группы по 10 кроликов в каждой: 1-я и 2-я группы опытные, 3-я группа - контрольная. В 1-й группе использовали резорбируемую двухфазную смесь из 60% гидроксиапатита кальция (ГАП) и 40% β -трикальцийфосфата (ТКФ), с активатором склейки гранул Bio Linker, во 2-й – тот же состав, но с добавлением гиалуроновой кислоты, в 3-й группе дефект вели под кровяным сгустком.

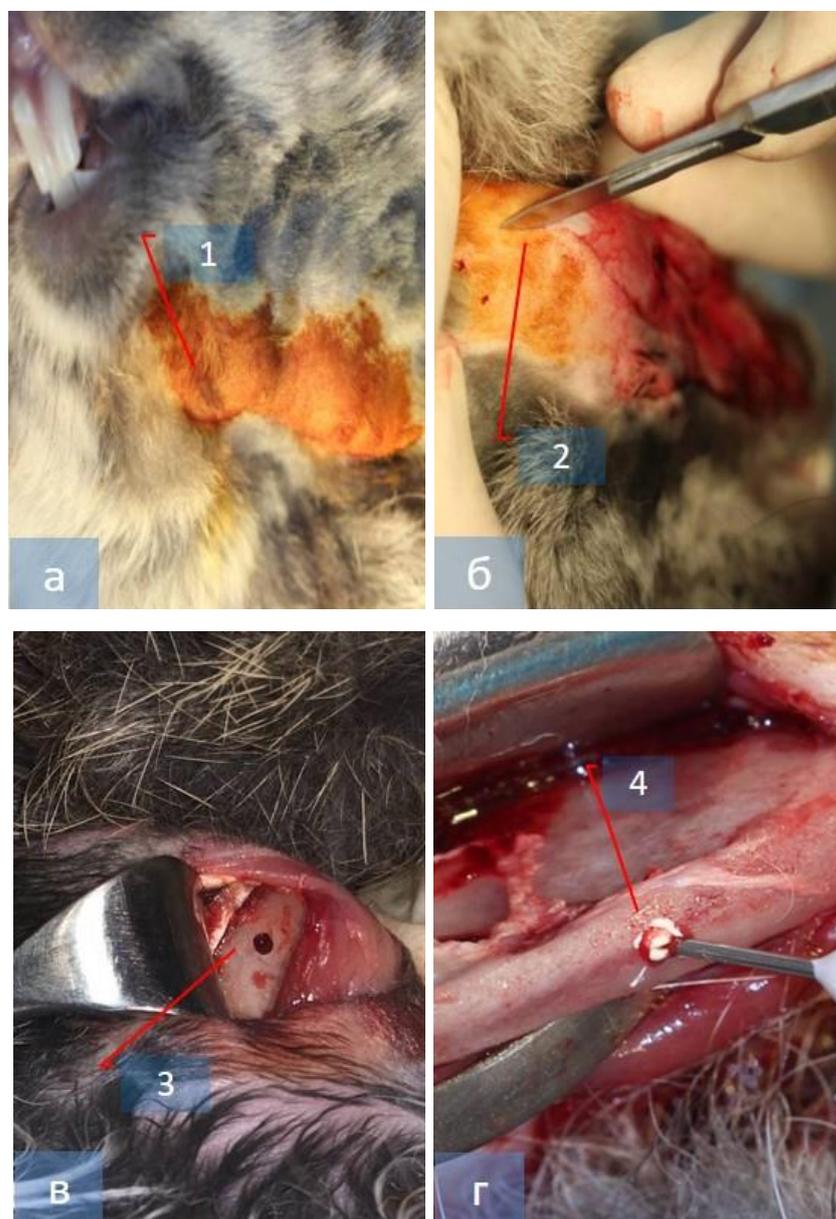


Рисунок 2.2 – моделирование стандартного костного дефекта нижней челюсти кролика породы «Серый Великан» (подробное описание в тексте)

Выведение из эксперимента осуществляли введением в ушную вену животного воздуха через 1, 3, 7, 10, 15, 20 и 30 суток и 2, 3 и 6 месяцев после операции. У животных, выведенных из опыта, выпиливали исследуемые участки кости и фиксировали их в 10% растворе нейтрального формалина. Декальцинацию проводили в трилоне Б. После заливки костных блоков в парафин готовили срезы, которые окрашивали гематоксилин-эозином, по Акимченко и Маллори.

Моделирование перимплантита. Операцию проводили под внутривенным рометаровым наркозом. Устанавливали винтовые дентальные имплантаты ENDURE (США) на нижней челюсти (в боковом, беззубом отделе) и на верхней челюсти (во фронтальном, беззубом отделе). Разрез слизистой оболочки производили только после местной анестезии (инфильтрационной) 4% раствором артикаина гидрохлорида с адреналином 1:100000 (рис. 2.3 – а).

После формирования полного слизисто-надкостничного лоскута (рис. 2.3 – б), препарировали кортикальную пластинку челюстной кости по вершине альвеолярного гребня беззубого участка челюсти (рисунок 2.3 – в) хирургической фрезой диаметром 2 мм со скоростью вращения 1200 об/мин на глубину 1 см без охлаждения, формировали ложе (рисунок 2.3 – г) для винтового дентального имплантата диаметром 2,5 мм, длиной 13 мм, с крутящим моментом 15 Нсм, на внутрикостную часть которого предварительно накручивали лигатуру из хлопковой нити. В процессе припасовки дентального имплантата оставляли недокрученной 4-5 оборотов резьбы (рисунок 2.3 – д), а затем хирургической фрезой удаляли кортикальную кость вокруг шейки каждого имплантата.

После окончания формирования модели периимплантита для заполнения периимплантатного дефекта кортикальной кости в 1-й группе использовали резорбируемую двухфазную смесь из 60% гидроксиапатита кальция (ГАП) и

40% β -трикальцийфосфата (ТКФ), с активатором склейки гранул Bio Linker, во 2-й – тот же состав, но с добавлением гиалуроновой кислоты, в 3-й, контрольной группе дефект вели под кровяным сгустком.

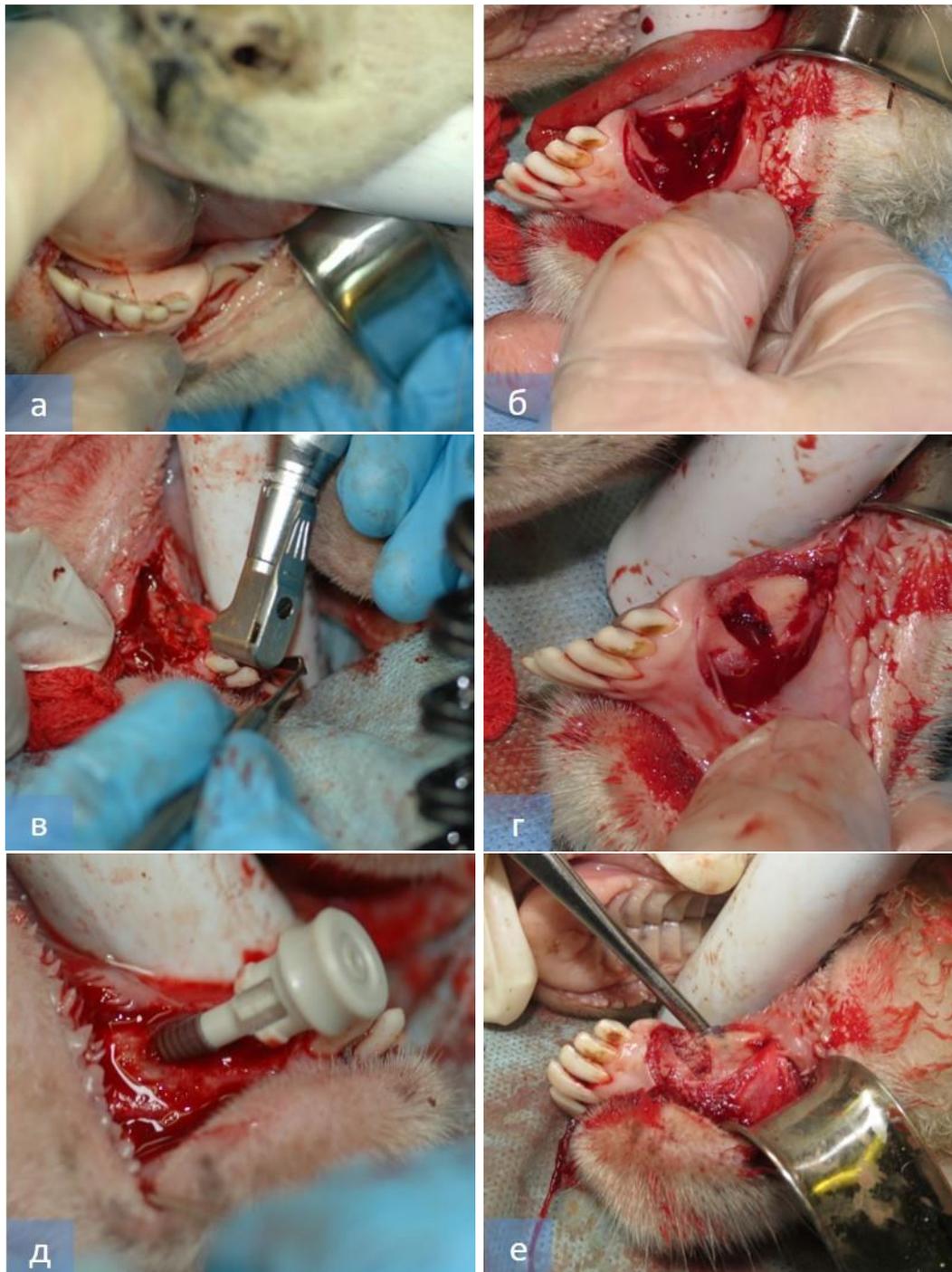


Рисунок 2.3 – На этапе экспериментального моделирования периимплантита (пояснения в тексте)

Через 14 суток, 1, 2 и 6 месяцев под общим обезболиванием дентальные имплантаты отделяли от окружающих тканей (рисунок 2.4 - а) и удаляли вместе

с близлежащими тканями и зубами (рисунок 2.4 - б), рану ушивали (рисунок 2.4 - в). Всего прооперировано 12 овец, которым установлено 48 дентальных имплантатов, по 24 на нижней и верхней челюстях соответственно.



Рисунок 2.4 – На этапе экспериментального моделирования периимплантита (пояснения в тексте)

Костные блоки отмывали от крови под холодной проточной водой, помещали в раствор нейтрального 10% формалина и направляли на исследование в лабораторию.

2.4. Материалы и методы лабораторной части исследования

Перед гистологическим исследованием полученные в ходе эксперимента костные блоки декальцинировали. Декальцинацию производили в растворе Трилона-Б со сменой раствора каждые сутки, после чего гистологический материал проводили через банки спиртов восходящей плотности, заливали в парафин, с помощью ротационного микротомы Accu-Cut@SRMtm (рисунок 2.5 – 1) готовили тонкие срезы на процессоре Tissue-Tek (рисунок 2.5 – 2) и станции парафиновой заливки Tissue-Tek5 (Sakura, Япония).

Заключительной гистологической обработке подвергались срезы толщиной 3-5 мкм – закреплению на покровных стеклах и окраске гематоксилином и эозином и по Маллори (на коллагеновые волокна) (рисунок 2.5 – 3). Световую микроскопию полученных препаратов проводили на прямом

микроскопе Olympus BX45 (Япония) со встроенным фотоаппаратом C500 (США) с окулярами $\times 10$, $\times 20$ и объективами $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, $\times 100$ (рисунок 2.5 – 4).



Рисунок 2.5 – Лабораторное оборудование для гистологического исследования (пояснения в тексте)

Морфометрические значения регенерата кости устанавливались с использованием программы Морфология 5.0 Видео-Тест (Россия).

При иммуногистохимическом исследовании для выявления антигенов в клетках регенерата кости проводили серию иммуногистохимических реакций с использованием антител: к виментину (V9), CD34, NSE, Ki-67 синаптофизину (MRO-40). Негативным контролем служили реакции с заменой первых антител раствором для разведения (SpringBioScience, США).

Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) проведено на парафиновых срезах с использованием высокочувствительной системы визуализации Reveal biotin-free polyvalent DAB (SpringBioScience, США), позволяющей контролировать ход реакции под микроскопом в режиме on line.

Интенсивность экспрессии в клетках костей оценивали полуколичественным методом по интенсивности окрашивания: 0 – реакция отсутствует; 1 – слабая экспрессия; 2 – реакция умеренная; 3 – реакция интенсивная.

При биохимическом исследовании определялась активность ферментов – маркеров костного метаболизма в надосадочной жидкости (эластазы, кислой и щелочной фосфатаз, общей протеолитической активности и катепсин). Содержание кальция (Ca) и фосфора (P) определяли в биохимическом анализаторе оптической плотности Stat Fax 3300 (Awareness Technology, США), рассчитывающем показатели по калибровочным кривым, которые строятся с использованием архивных баз данных с выражением числовых показателей в процентах.

2.5. Материалы и методы клинической части исследования

Всего обследовано 108 лиц, из них 46% - мужчины и 54% - женщины, возрастом до 60 лет, клинические исследования проводились у пациентов, которые обратились за стоматологической помощью на клинических базах

кафедры стоматологии ФГБОУ ВО Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава РФ.

Поставленный при первичном обследовании диагноз: периимплантный мукозит (воспаление мягких тканей вокруг дентального имплантата) и периимплантит (деструкция и убыль костной ткани вокруг дентального имплантата, воспаление). Чаще всего эти два заболевания дополняли друг друга: при обнаружении периимплантатного мукозита обязательно выполняли рентгенологическое исследование для исключения периимплантита.

При лечении периимплантного мукозита использовали доступные и общепринятые в стоматологии терапевтические методики, такие, как профессиональная гигиена полости рта (включая снятие над- и поддесневых зубных отложений, скейлинг и рутпленинг), обработку поверхности дентальных имплантатов антисептическими средствами, рекомендации по использованию противовоспалительных и иммуностимулирующих средств.

Основной метод восстановления костной ткани вокруг дентального имплантата при лечении периимплантита в исследовании – хирургический, включающий ремоделирование периимплантной зоны челюстной кости с использованием резорбируемой двухфазной смеси из 60% гидроксиапатита кальция (ГАП) и 40% β -трикальцийфосфата (ТКФ), с активатором склейки гранул Bio Linker, с добавлением гиалуроновой кислоты, по безмембранной технологии (рисунок 2.6 – а, б, в, г).

Хирургическое вмешательство проводили только при условии стабильности дентального имплантата в кости (при определении подвижности его удаляли) и также после полного купирования воспаления в периимплантатной зоне. До начала хирургического лечения определяли наличие у пациента повышенной жевательной нагрузки на дентальный имплантат, в периимплантатной области которого требовалось проведение хирургического вмешательства, при ее наличии, выводили имплантат из прикуса.

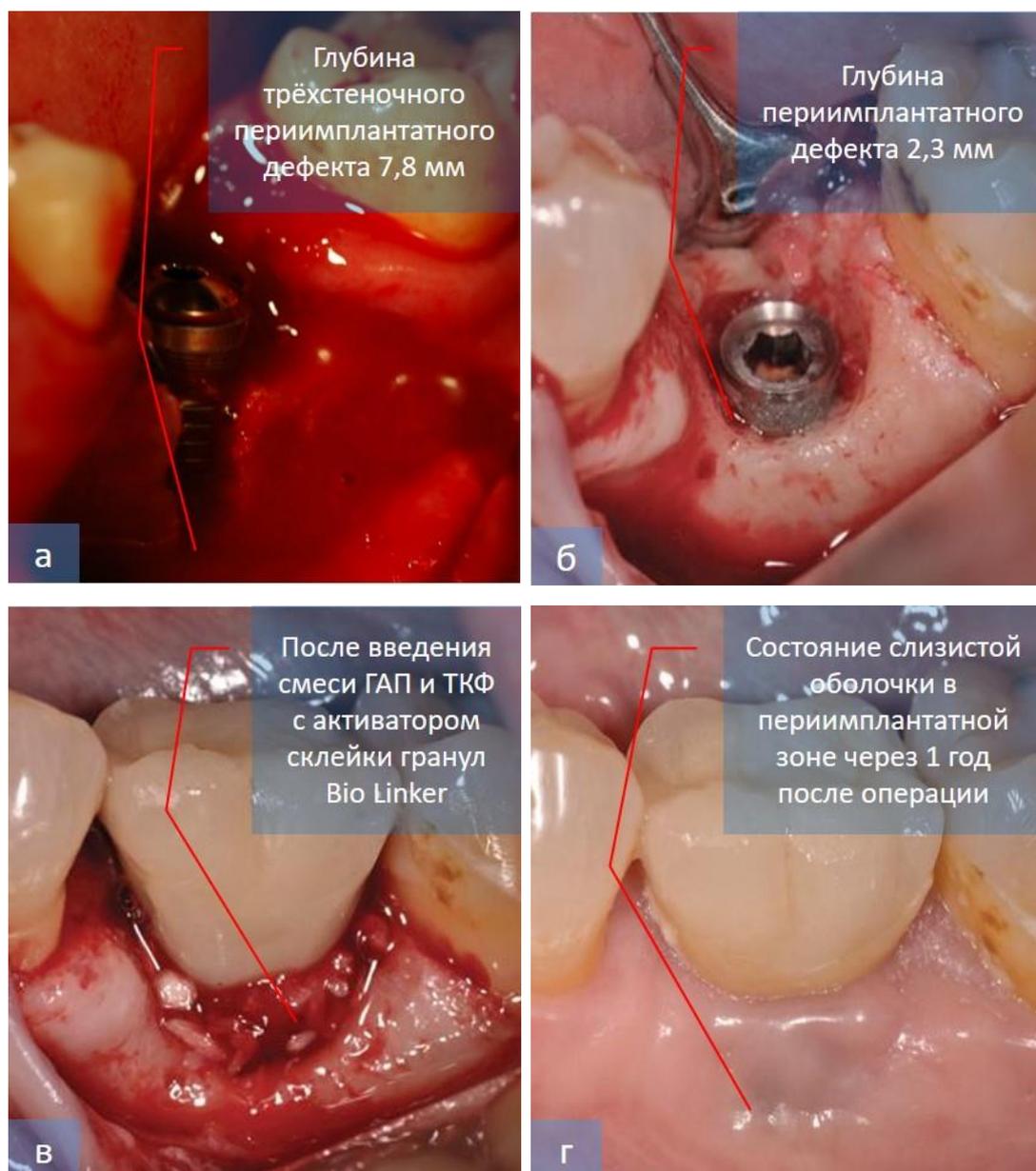


Рисунок 2.6 – На этапах ремоделирования периимплантатной зоны (пояснения в тесте)

Во время хирургического вмешательства (рисунок 2.7), которое производили под местным обезболиванием 4% Sol.Ultracaini, после разреза и отслаивания полного мукопериостального лоскута, рану тщательно промывали растворами антисептиков, затем удаляли некротизированную костную ткань и грануляции, проводили скейлинг и с помощью эрбиевого лазера SSOLaserPRO-2000 (США) с длиной волны 2940 нм и мощностью 4 Вт производили

механическую обработку поверхности дентального имплантата и альвеолярной кости. В контрольной группе рану вели под кровяным сгустком.

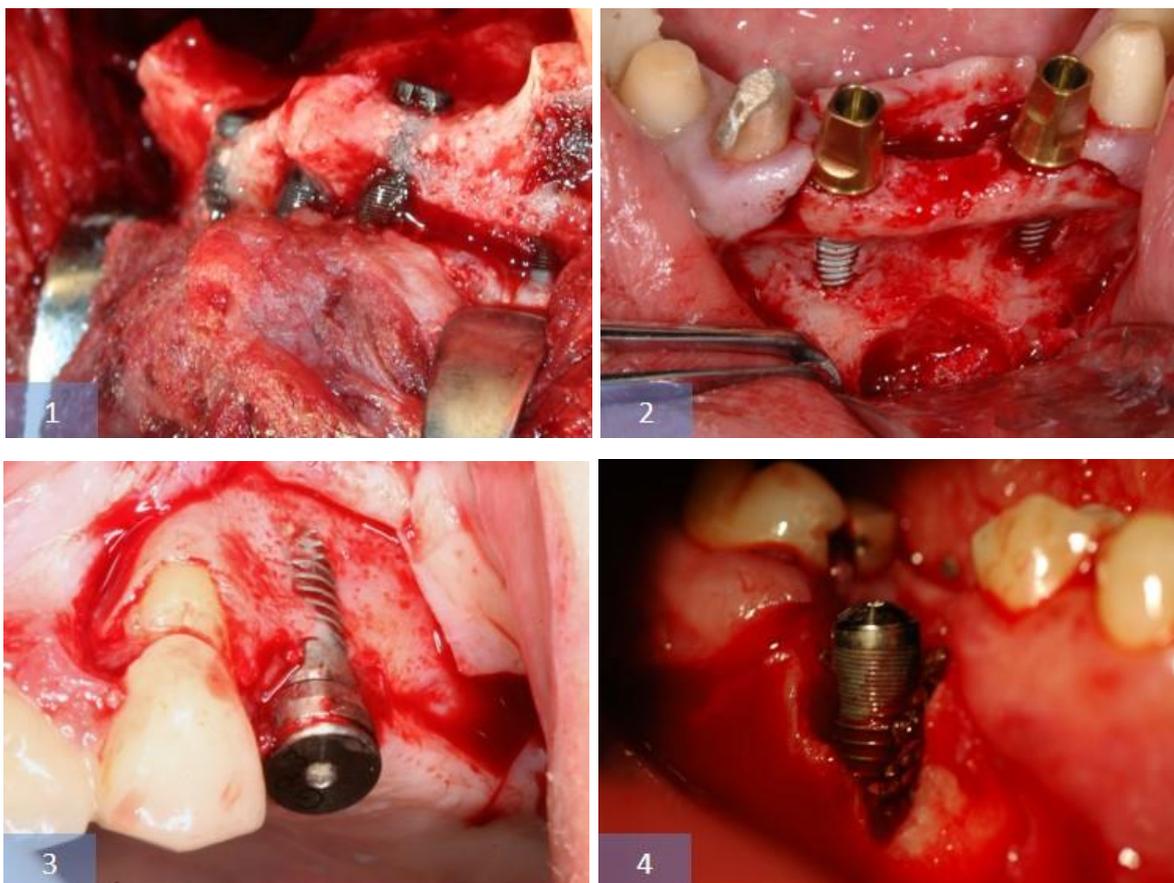


Рисунок 2.7 – На этапах клинического исследования (пояснения в тексте)

В контрольной группе наблюдали 28 больных, в основной группе – 80 больных, по 40 человек в первой и второй подгруппах основной группы соответственно.

Деление на 2 равные части больных основной группы обусловлено тем обстоятельством, что при использовании биоактивного костезамещающего материала в виде резорбируемой двухфазной смеси из 60% гидроксиапатита кальция (ГАП) и 40% β -трикальцийфосфата (ТКФ) с активатором склейки гранул Bio Linker по безмембранной технологии (1 группа) для повышения биостимулирующей активности вышеназванной композиции и обеспечения нео- и ангиогенеза добавляли гиалуроновую кислоту, производитель BioScience, Германия (2 группа).

Кроме основных задач исследования, в эксперименте и клинике стояла дополнительная задача проверить, как влияет на остеогенные потенции основного биоматериала гиалуроновая кислота, нарушается ли с ее добавлением процесс быстрого затвердевания гранул после контакта с кровью и образования стабильного пористого тела в виде монолитной массы медленно резорбируемого заменителя кости (рисунок 2.8 – а, б).

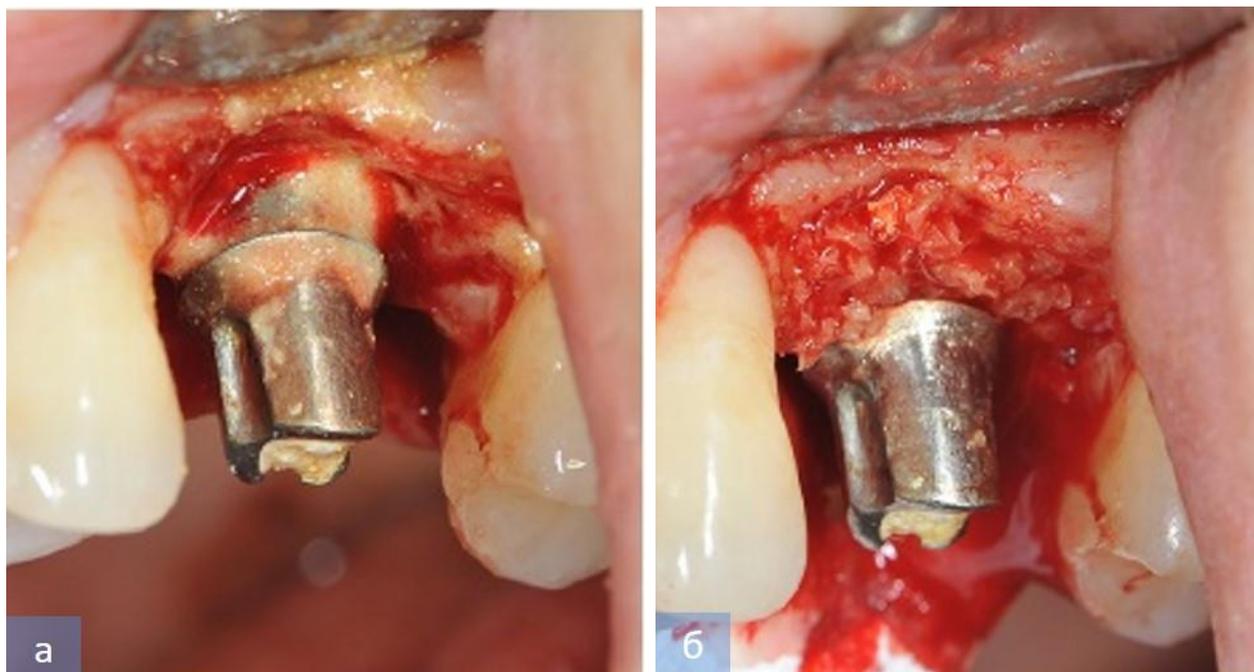


Рисунок 2.8 – Процесс затвердевания гранул после контакта с кровью с образованием стабильного пористого тела в виде монолитной массы

При сборе анамнеза учитывали общесоматические заболевания, вредные привычки, зубочелюстные аномалии, особенности профессионального статуса (например, работу на вредном производстве), отягощенный аллергический анамнез.

2.6. Материалы и методы рентгенологического исследования

При выполнении *экспериментальной части* настоящей научной работы рентгенологическое исследование (рисунок 2.9) выполняли с использованием высокочастотного рентгенологического аппарата Evolution с моноблоком

OX/70-3 PRELIMINARY (Италия) и мобильного радиовизиографа Mercury DIGISENS (Италия) в различных режимах.

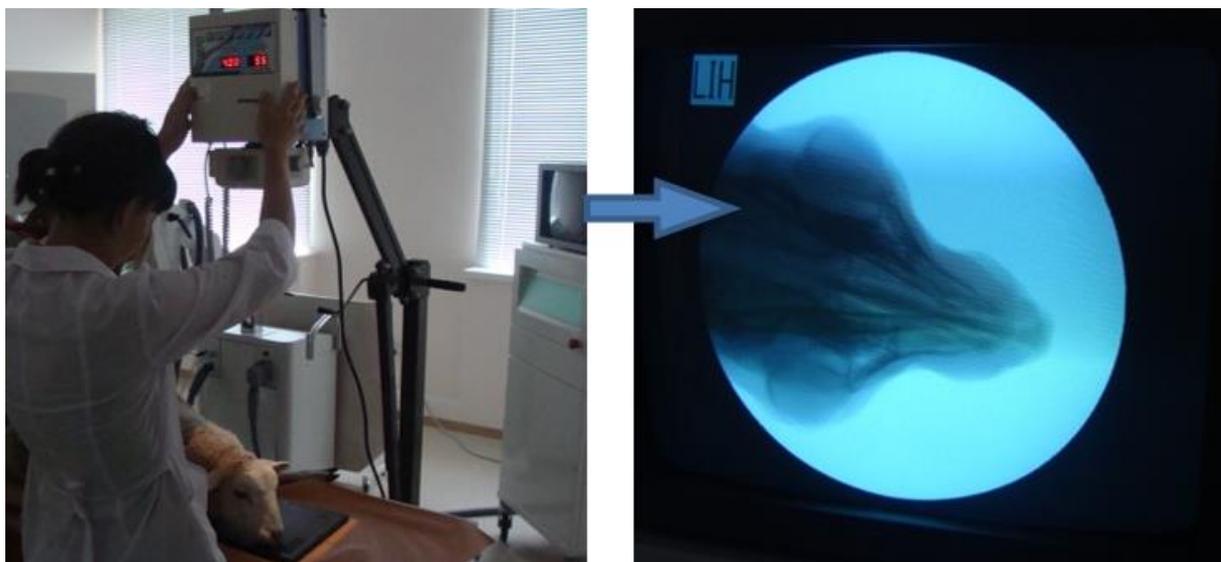


Рисунок 2.9 – Рентгенологическое исследование при выполнении экспериментальной части научной работы

В задачи рентгенографического исследования, выполняемого интраоперационно, входило определение правильности установки дентальных имплантатов (рисунок 2.10 – 1), их соотношения с другими анатомическими структурами челюстей экспериментальных животных (рисунок 2.10 – 2). Кроме этого, определенный интерес представляли значения толщины кортикальной кости в вестибулярном и язычном отделах челюстей, а также значения расстояний между установленными имплантатами (рисунок 2.10 – 3). Для определения степени остеоинтеграции дентальных имплантатов в кости, а также оценки деструктивных изменений костной ткани, рентгенологическое исследование проводилось и после операции (рисунок 2.10 – 4, 5, 6, 7).

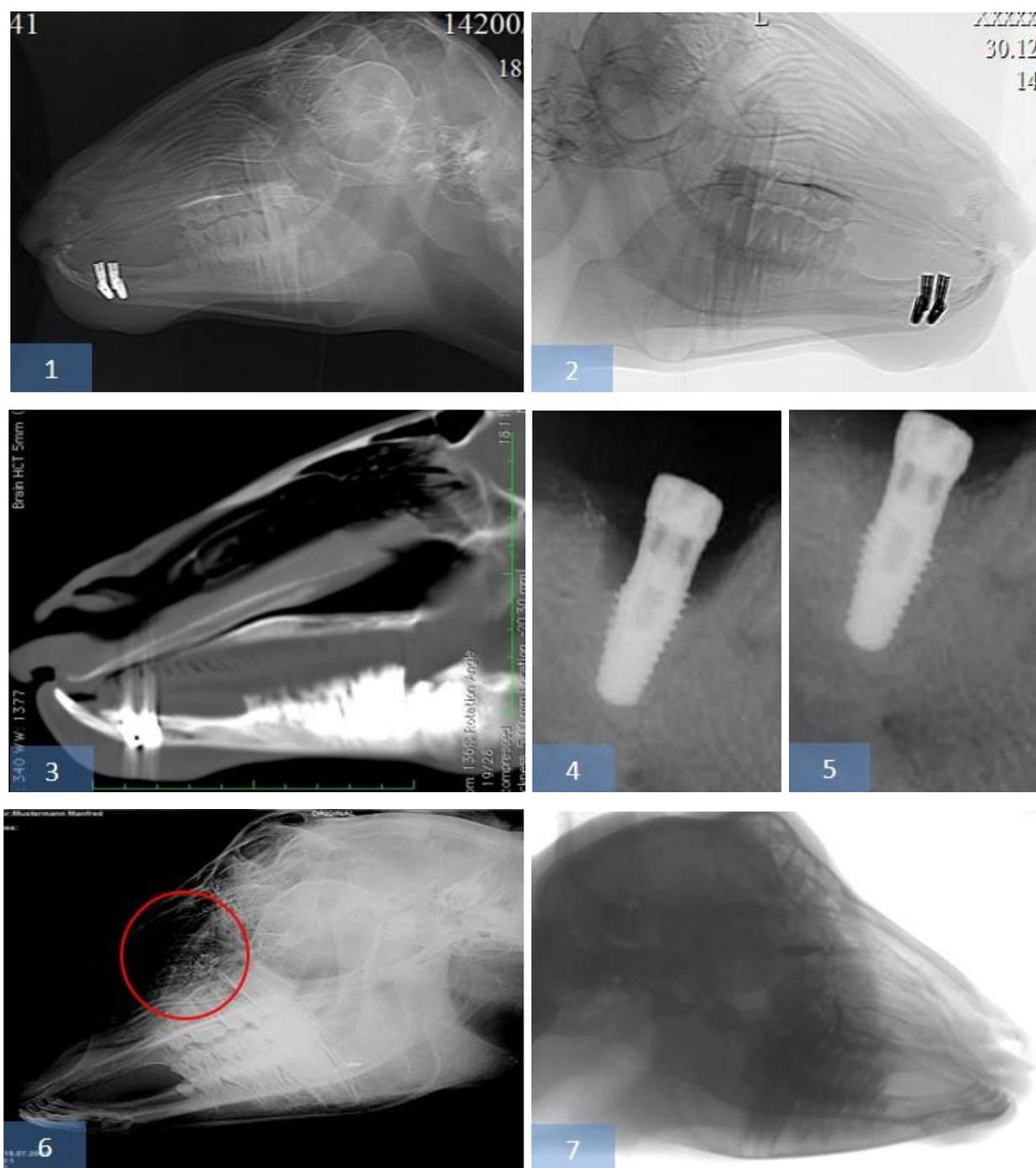


Рисунок 2.10 – На этапах рентгенологического исследования
(пояснения в тексте)

При выполнении *клинической части* настоящей научной работы рентгенологическое исследование (рисунок 2.11) производили с использованием высокочастотного рентгенологического аппарата Evolution с моноблоком OX/70-3 PRELIMINARY (Италия), мобильного радиовизиографа Mercury DIGISENS (Италия) в различных режимах (рисунок 2.11 – а, б), кроме

этого, дополнительно использовали аппараты Planmeca PROMAX 3D ф. Planmeca (Финляндия) и «ORTHOPHOS XG 3D» производства ф. Sirona (Германия) для выполнения мультиспиральной компьютерной томографии (рисунок 2.11 – в) и цифровой ортопантомографии соответственно (рисунок 2.11 – г).

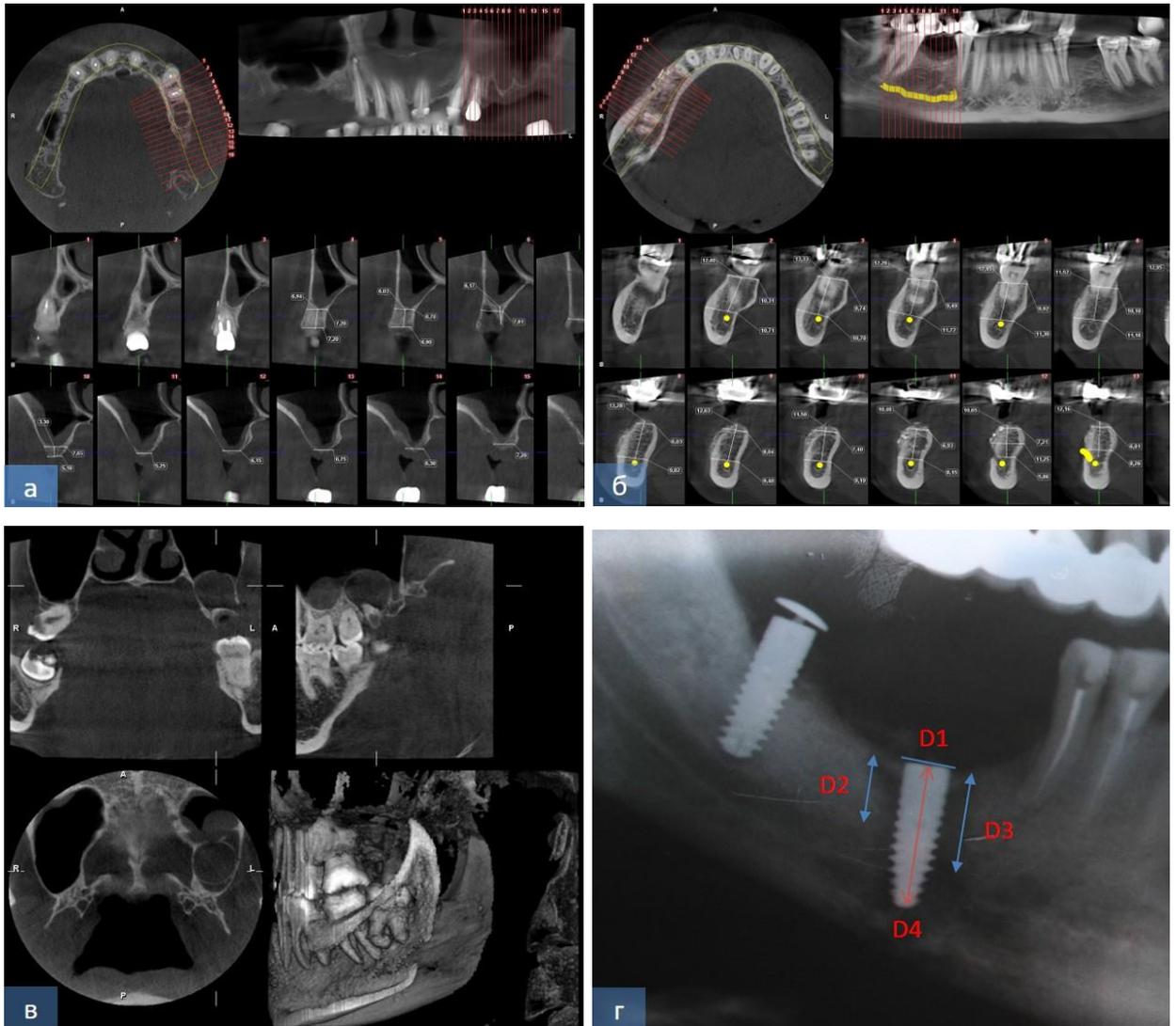


Рисунок 2.11 – Рентгенологическая часть клинического исследования
(пояснения в тексте)

Оценка уровня остеоинтеграции и новообразования костной ткани вокруг имплантата осуществлялась следующим образом. В качестве нулевой отметки использовался край платформы имплантата (D1).

Уровень костной ткани вокруг имплантата относительно его платформы определялся как среднее арифметическое между значениями расстояния между платформой имплантата и пиками костной ткани в апроксимальных участках с медиального (D3) и дистального сторон имплантата (D2). Все расчеты проводились на обзорных цифровых ортопантомограммах (рисунок 2.12).

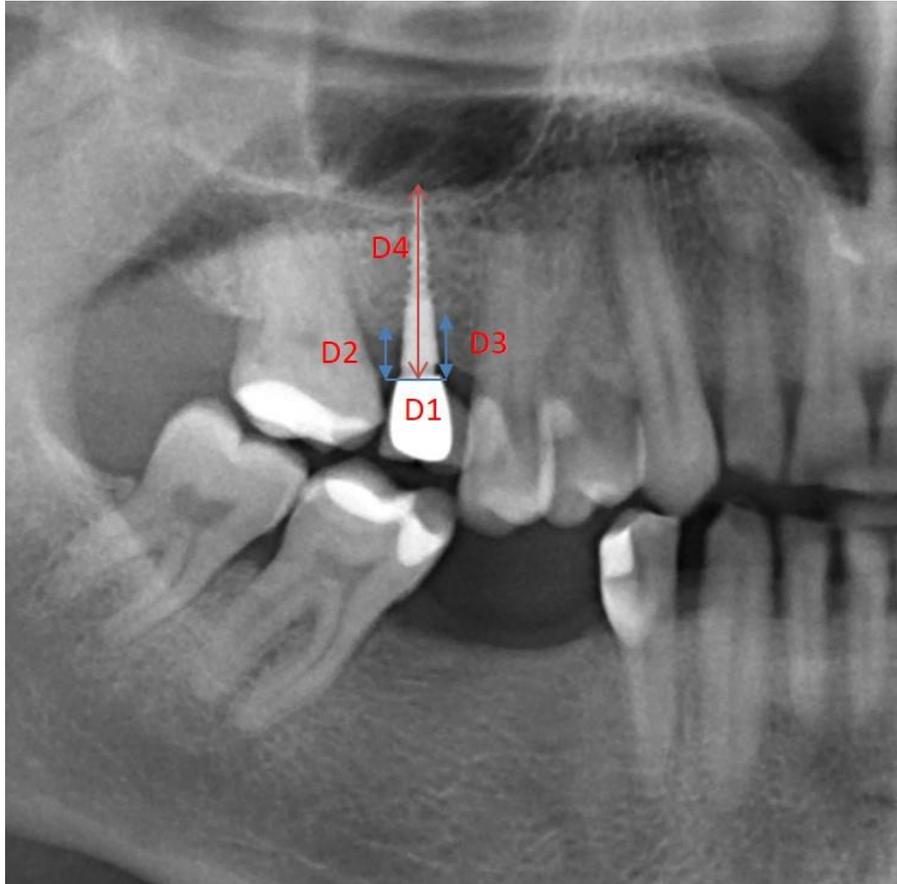


Рисунок 2.12 – Расчет степени деструкции костной ткани в области внутрикостной части установленного дентального имплантата

Клиническую оценку стабильности имплантатов в оперированной области проводили с использованием субъективных (метод перкуссии и пальпации) и объективных методов (метод неинвазивного измерения стабильности дентальных имплантатов). Количественная оценка плотности кости проводилась в единицах Хаунсфилда (HU).

Субъективно подвижность дентального имплантата определяли по 4-х балльной системе: 0 баллов – неподвижный имплантат; 1 балл – тактильно

определяемая подвижность; 2 балла – визуально определяемая незначительная подвижность; 3 балла – значительная подвижность.

Подвижность дентального имплантата определяли по методике частотно-резонансного анализа с помощью устройства «Osstell ISQ» (рисунок 2.13).

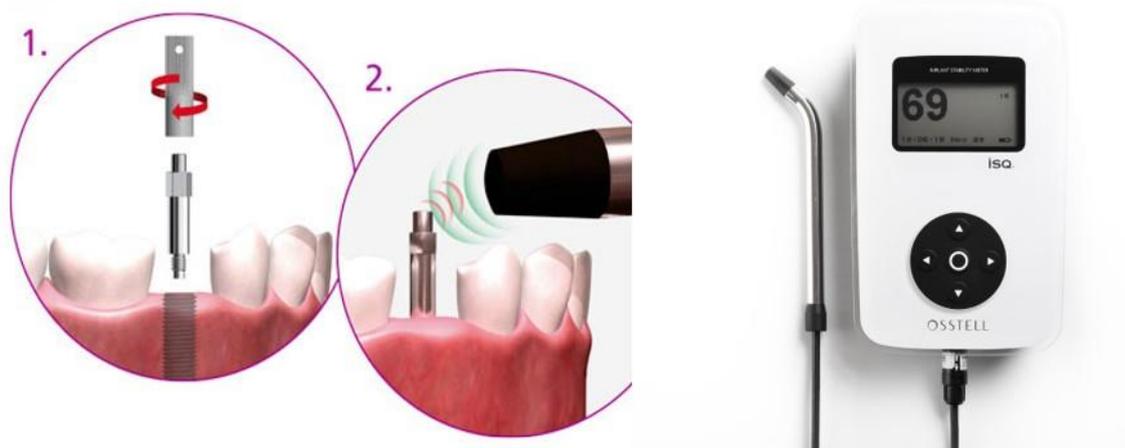


Рисунок 2.13 – Этапы определения степени подвижности дентального имплантата частотно-резонансным устройством «Osstell ISQ»

Для получения объективной информации и изучения состояния регенерации костной ткани в периимплантатных дефектах челюстей в динамике использовали метод ультразвуковой эхоостеометрии, который позволяет определить плотность костных структур за счет измерения времени прохождения ультразвуковой волны в кости: причем, чем больше плотность костной ткани, тем меньше время, за которое проходит по ней ультразвуковая волна [25].

Для исследования использовали ультразвуковой аппарат Phasor XS (производитель GE Sensing & Inspection Technologies), модернизированный для использования в стоматологии со специализированным программным обеспечением - «ABIS» (Adhesive Bone Inspection System - система контроля костных соединений) путем измерения временных интервалов абсолютным методом (рисунок 2.14).

S – длина исследуемого участка (расстояние между серединами головок передаточного и приемного датчиков), см;

T – среднеарифметическое время прохождения ультразвуковой волны по исследуемому участку челюсти, мкс.

За норму принимали показатель скорости прохождения ультразвуковых волн по костной ткани противоположной половине нижней или верхней челюстей пациентов.

2.7. Материалы и методы биохимических исследований

Определение содержания 4-гидроксипролина в моче дает информацию о состоянии обмена основного белка кости – коллагена. Концентрация свободной фракции оксипролина является показателем катаболизма коллагена, а уровень белково-связанного 4-гидроксипролина отражает состояние его синтетической фазы.

Для сопоставления уровня метаболизма костной ткани до и после проведенного оперативного вмешательства в области перимплантатного дефекта определяли показатели белково-связанного и свободного 4-гидроксипролина в моче: содержание 4-гидроксипролина в каждой пробе оценивали на спектрофотометрическом детекторе Shimadzu SPD-M20 (Shimadzu, Japan), (рисунок 2.15). С целью оценки влияния резорбируемой двухфазной смеси из 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата, с активатором склейки гранул Bio Linker, а также в комбинации с гиалуроновой кислотой на состояние организма пациентов в сыворотке крови определили активность аминотрансфераз, которые являются интегральными ферментами обмена веществ, широко распространенными в органах и тканях человека и являются маркерами их токсического повреждения. Активность аспаратаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ) в сыворотке крови определяли

колориметрическим динитрофенилгидразиновым методом по S.Reitman-S.Frankel [27].



Рисунок 2.15 – Спектрофотометрический детектор Shimadzu SPD-M20 (Shimadzu, Japan)

Принцип метода по S.Reitman-S.Frankel заключается в том, что под действием аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы в результате переаминирования проходит образование щавелевоуксусной и пировиноградной кислот. Энзиматический процесс после примешивания 2,4-динитрофенилгидразина приостанавливается, а интенсивность окраски пропорциональна количеству пировиноградной кислоты в щелочной среде.

Для определения активности АсАТ использовали набор реагентов (рисунок 2.16) для определения активности аспаратаминотрансферазы в сыворотке крови колориметрическим методом (метод Райтмана-Френкеля).

В мерной колбе перемешивали 29,2 мг альфа-кетоглутаровой и 2,66 г DL - аспарагиновой кислот с 1 н раствором едкого натрия, доводя рН до 7,4 и

дополняя объем до 100 мл фосфатным буфером pH 7,4, для консервации добавляли 1 каплю хлороформа.



Рисунок 2.16 – Набор реагентов для определения активности аспаратаминотрансферазы в сыворотке крови колориметрическим методом (метод Райтмана-Френкеля)

В заранее приготовленную колбу с 0,5 мл субстратного раствора, прогретого до 37°C добавляли 0,1 мл искомой сыворотки, колбу размещали в термостате с той же температурой на 1 час. Затем последовательно примешивали 0,5 мл 2,4–динитрофенилгидразинового раствора, добавляли 5 мл 0,4 н раствора едкого натрия (16 г NaOH на 1 л дистиллированной воды), все тщательно перемешивали и измеряли оптическую плотность с помощью спектрофотометрического детектора Shimadzu SPD-M20 (Shimadzu, Japan).

Для определения активности АЛАТ также использовали набор реагентов (рисунок 2.17) для определения активности аланинаминотрансферазы в сыворотке крови колориметрическим методом (метод Райтмана-Френкеля).



Рисунок 2.17 – Набор реагентов для определения активности аланинаминотрансферазы в сыворотке крови колориметрическим методом (метод Райтмана-Френкеля)

Для определения активности АЛАТ в пробирку вносили 0,5 мл субстратного раствора (29,2 мг альфа-кетоглутаровой и 17,8 г DL-аланина, как при приготовлении первого субстрата), добавляли 0,1 мл исследуемой сыворотки и ставили в термостат для инкубации при температуре 37°C на 60 мин. В дальнейшем ход анализа не отличается от определения активности АсАТ.

Биохимические исследования у пациентов проводили перед операцией, в раннем послеоперационном периоде (через 1, 3, 7, 14 суток после операции) и в отдаленные сроки (через 1, 2 и 3 месяца после операции).

2.8. Материалы и методы статической обработки данных

Полученные цифровые результаты исследований обрабатывали методом вариационной статистики с использованием прикладного пакета компьютерной программы для медико-статистических вычислений IBM SPSS Statistics 4.0 и

MS Excel 2018 для Windows 16.0 (Stat Soft, USA) с определением вероятных диапазонов достоверности. Определение морфометрических показателей в эксперименте проводилось с помощью программы Видео Тест-Мастер Морфология 4.0 для Windows (Россия).

Все базы данных формировались на основе полученных цифровых результатов экспериментальных и клинических данных исследований (где n - количество наблюдений). В случаях, когда проверка распределения «на нормальность» с помощью критерия Шапиро-Уилка (Shapiro-Wilk test) показывала линейную комбинацию разностей порядковых значений распределения, параметрические данные описывали как медиану (Me), минимум-максимум (min-max) и нижний-верхний квартили. Сравнение двух выборок выполняли с использованием критерия Манна-Уитни (Mann-Whitney U-test). В случае более, чем двух выборок, для оценки достоверности сдвига в значениях исследуемого признака использовали критерий Фридмана (Friedman test). Для проверки различий между двумя выборками парных измерений использовали непараметрический критерий Вилкоксона.

Параметры биохимических исследований при «нормальном» распределении в выборках описывали как среднее арифметическое $(M) \pm$ стандартная ошибка среднего значения (m) и сравнивали с помощью непарного t -критерия (при сравнении двух групп) и критерия Ньюмена-Кейлса (Newman-Keuls test) в случаях множественных повторных измерений.

ГЛАВА 3.

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА ПРИ ПЛАСТИКЕ СИНТЕТИЧЕСКИМ БИОМАТЕРИАЛОМ ПО БЕЗМЕМБРАННОЙ ТЕХНОЛОГИИ СТАНДАРТНО ВОСПРОИЗВЕДЕННОГО КОСТНОГО ДЕФЕКТАХ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ

Проблема восстановления постоперационных и травматических костных дефектов челюстных костей является одной из основных в хирургической стоматологии. Результаты использования различных видов костных ауто-, алло- и ксеногенных остеопластических средств свидетельствуют о высокой их эффективности [12,33,80,151]. В то же время они не лишены ряда недостатков. К таковым следует отнести возможность возникновения реакций отторжения вследствие их иммунной несовместимости с организмом реципиента, медленное резорбирование остеогенных материалов, а соответственно, торможение процесса их замещения костными структурами реципиента [14,58].

Нередки случаи воспалительных осложнений пластических операций на костях при использовании ауто- и аллогенного костного материала. Как известно, использование синтетических минеральных биоматериалов для пластики костных дефектов, сводит на нет опасность возникновения иммунного конфликта материала с организмом реципиента, что связано с отсутствием составляющих человеческого или животного происхождения [6,67].

Однако сама техника применения синтетических биоматериалов в полости рта сопряжена с большими трудностями, которые обусловлены необходимостью обязательного разделения между собой двух источников регенерации – тканей десны и собственно костной ткани замещаемого дефекта из-за длительного периода резорбирования гранул биоматериалов [18,49]. Особенно это неудобно, когда пластике подлежат обширные полости и дефекты.

Как сегодня в современных условиях развития новых технологий и исходя из имеющегося в свободном доступе уровня техники решить данную задачу? Обзор имеющихся в свободном обращении литературных источников показал, что в современной стоматологии, челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии имеется ряд альтернативных хирургических пособий, способных стать полноценной заменой аутокости, а также ксенобиотическим костезаменяющим препаратам, биологическому стеклу, бифазной полиорганической керамике.

Одним из перспективных синтетических биоматериалов является остеопластическая композиция Easy Graft[®] Crystal с различной степенью резорбции, которая представляет собой резорбируемую двухфазную смесь из 60% гидроксиапатита кальция (ГАП) и 40% β -трикальцийфосфата (ТКФ), с активатором склейки гранул Bio Linker, превращающем их в пластичную, легко поддающуюся формовке, удобную для работы хирурга массу [43].

В подобный состав возможно вводить различные дополняющие состав вещества, которые могут в корне изменить конечные свойства всей композиции, например, повысить биодеградацию, стимулировать прогениторные клетки-предшественники, плюрипотентные клетки, факторы роста и другие вещества, в последнее время имеются сообщения о высокой эффективности препаратов на основе сульфатированных гиалуроновых кислот, гиалуроновой кислоты, поскольку согласно имеющимся данным, они обладают способностью потенцировать нео- и ангиогенез в биологических тканях [5, 23,55,141,156].

Задачей данного раздела исследования стала экспериментальная оценка эффективности остеопластической композиции гидроксиапатита кальция, β -трикальцийфосфата, активатора склейки гранул и гиалуроновой кислоты при замещении стандартных дефектов челюстных костей.

Экспериментальные исследования проведены на кроликах породы Серый Великан, которым фиссурной фрезой воспроизводили стандартный сквозной дефект нижней челюсти в области ее угла диаметром 1 см. Всего использовали

30 животных, которые в зависимости от условий эксперимента разделили на 3 группы по 10 кроликов в каждой: 1-я и 2-я группы опытные, 3-я группа - контрольная. В 1-й группе в качестве имплантата использовали резорбируемую двухфазную смесь из 60% гидроксиапатита кальция (ГАП) и 40% β -трикальцийфосфата (ТКФ), с активатором склейки гранул Bio Linker, во 2-й – тот же состав, но с добавлением гиалуроновой кислоты, в 3-й группе дефект вели под кровяным сгустком.

При гистологическом изучении полученных результатов через сутки наблюдений в опытах как в 1-ой опытной группе, где использовали резорбируемую двухфазную смесь из ГАП и ТКФ с активатором склейки гранул Bio Linker, так во 2-ой опытной группе, с добавлением в вышеназванную остеопластическую композицию гиалуроновой кислоты, обнаруживаются костные дефекты с имплантированным синтетическим биоматериалом, представленные оксифильными нежноволокнистыми тяжами, микрофрагментами костных и хрящевых структур, погруженных на периферии дефекта в эритроцитные массы, образующиеся в результате кровоизлияния (рисунок 3.1 – а). Среди костных и мягкотканых микрофрагментов имплантата и в краевых зонах дефекта определяются ярко-оксифильные тонковолокнистые сетки массы фибрина (рисунок 3.1 – б).

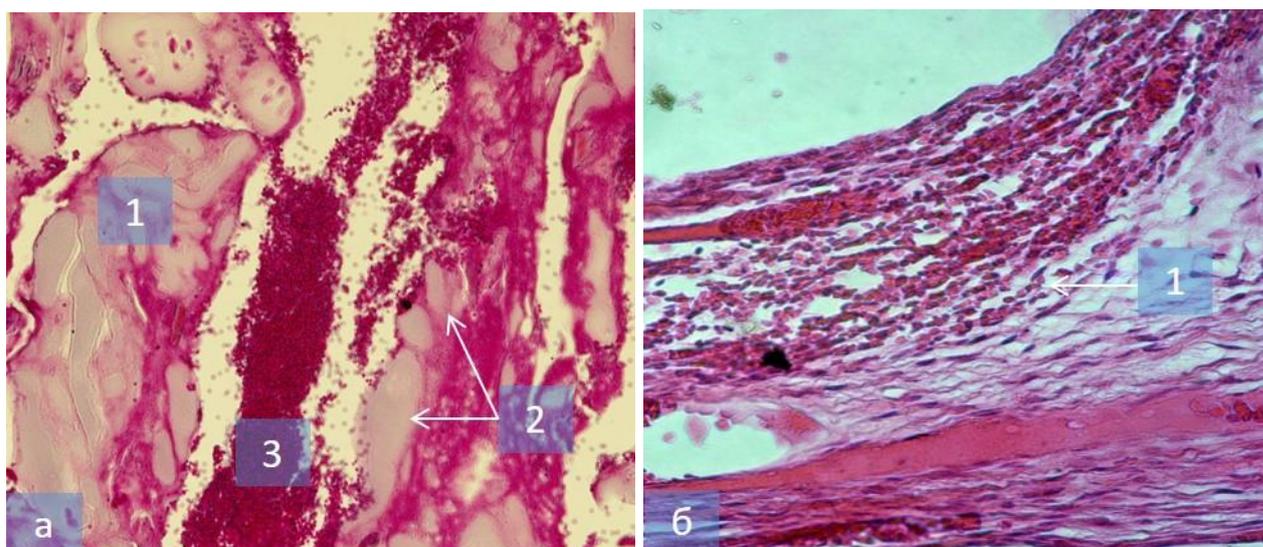


Рисунок 3.1 - Микропрепараты нижней челюсти кролика через 1 сутки после начала эксперимента в 1-ой (а) и 2-ой (б) основных группах. а –

имплантированный биоматериал (1), микрофрагменты костных и хрящевых структур (2), погруженных на периферии дефекта в эритроцитные массы (3); б – ярко-оксифильные тонковолокнистые сетки массы фибрина (1) в краевых зонах дефекта. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20 (а, б)

К 3-м суткам формирование кровяного сгустка в дефекте завершается, эритроциты в нем почти полностью гемолизируются, их рисунок оказывается стертым. Со стороны краев дефекта в массы фибрина энергично мигрируют полибластические элементы, лейкоциты, гистиоциты и фибробласты. В рыхлой соединительной ткани и жировой клетчатке межбалочных пространств костной ткани, окружающей дефект, помимо обширных геморрагий, отмечаются признаки экссудативно-гиперемической реакции с высеиванием за пределы сосудистых стенок полинуклеарных элементов. Лейкоцитарный инфильтрат, располагающийся вблизи дефекта, может достигать значительной плотности, в отдалении от дефекта его плотность уменьшается.

Остеоциты в костных краях дефекта подвергаются дистрофическим изменениям, структура костных клеток стирается, отдельные из них набухают, наблюдается ослабление окраски ядер вплоть до их лизиса, местами встречается пикнотичные костные клетки. При травматической фрагментации костных структур описанные некробиотические изменения в костных клетках могут быть более выраженными, между коллагеновыми волокнами визуализируются крупные фрагменты остеопластического материала (рисунок 3.2 – а).

В стенке костного дефекта появляются признаки резорбтивных изменений. Его костный край, ровный в 1-е сутки, в последующем начинает подвергаться узурированию. В отдельных участках по костному краю к 3-м суткам отмечается кровоизлияния с выпадением пигмента гемосидерина и фокусы очагов некроза трабекул, проникновение в содержимое искусственного дефекта кости клеточных элементов, среди которых, помимо полинуклеаров,

лимфоцитов и макрофагов, определяются веретенообразные юные фибробласты (рисунок 3.2 – б).

Иммуногистохимическая экспрессия маркеров Ki67⁺ и NSE⁺ к данному сроку наблюдения – слабовыраженная, тип экспрессии – ядерный (рисунок 3.2 – в, г).

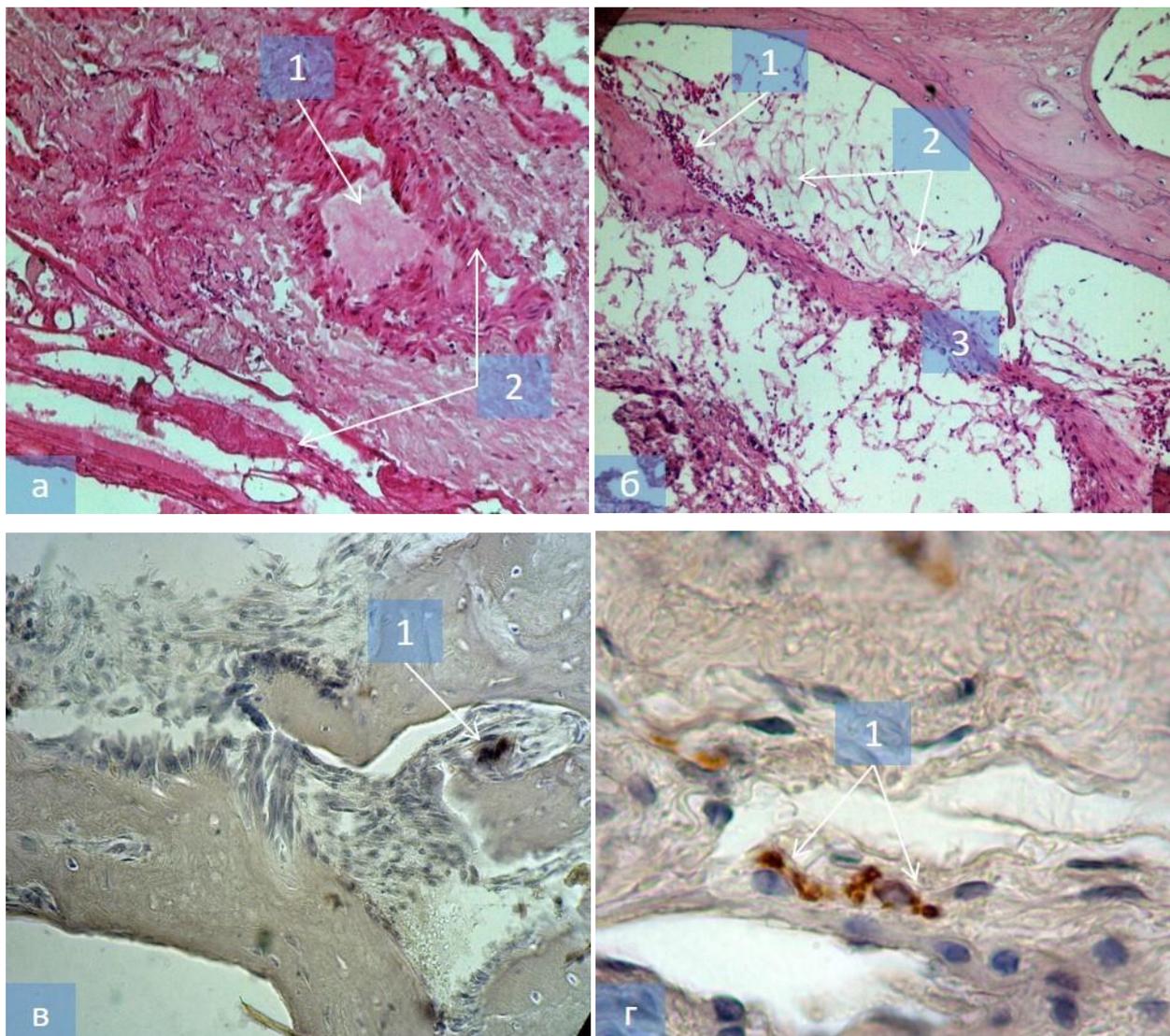


Рисунок 3.2 – Микропрепараты нижней челюсти кролика через 3 суток после начала эксперимента в 1-ой (а, в) и 2-ой (б, г) основных группах. а – крупные фрагменты остеопластического материала (1) между коллагеновыми волокнами (2); б – кровоизлияния с выпадением пигмента гемосидерина (1), выпот фибрина (2) и фокусы очагов некроза трабекул (3). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20 (а, б); в – Ki67⁺ клетки (1). ИГХ реакция на Ki67. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 20; г – – NSE⁺ клетки около

кровеносного сосуда (1). ИГХ реакция на NSE. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 40

В 1-ой и 2-ой основных группах через 7 суток после операции в костном дефекте хорошо выражен монолитный блок имплантированного синтетического биоматериала, а также остатки кровяного сгустка, представленного массами фибрина, однако новообразование остеогенной клеточно-волокнистой ткани, местами содержащей мелкие кровеносные сосуды идет полным ходом. Непосредственно у стенок дефекта наблюдается формирование нежной сеточки из юных костных балок. Новообразованные костные трабекулярные структуры напластовываются на зрелую кость, в результате чего на 7-е сутки наблюдается построение на периферии дефекта ободка из рыхлой костной мозоли (рисунок 3.3 – а). Помимо указанных юных костных структур, в репарате обнаруживаются также и островки хондроиды. Особенно выражено образование хондроидного компонента в месте смыкания регенераторных остеоидных почек, надвигающихся навстречу друг другу со стороны надкостницы. Описанные картины в сроки до 7 сут характерны для 1-й и 2-й групп.

На 10-20-е сутки в костном дефекте по-прежнему обнаруживается ткань трансплантата, представленная микрофрагментами костных структур и хряща, а также рыхлыми волокнистыми массами, окрашивающимися оксифильно. Клеточные элементы в структурах имплантата частично лизированы (рисунок 3.3 – б). Между плотными фрагментами массы биоматериала видны грубопучковые структуры фибробластических элементов, довольно часто встречаются гигантские многоядерные клетки. Как костные, так и хрящевые микрофрагменты постоянно резорбируются, что выражается в снижении интенсивности их окраски, изъеденности краев, а также в появлении в центральных их участках остеонов-полостей неправильной формы, заполненных отдельными крупными клетками и фибробластоподобными макрофагами. В самом дефекте обнаруживаются обширные участки

разрастаний грубой клеточно-волокнистой остеогенной ткани, которая по направлению к периферии переходит в структуры костной мозоли.

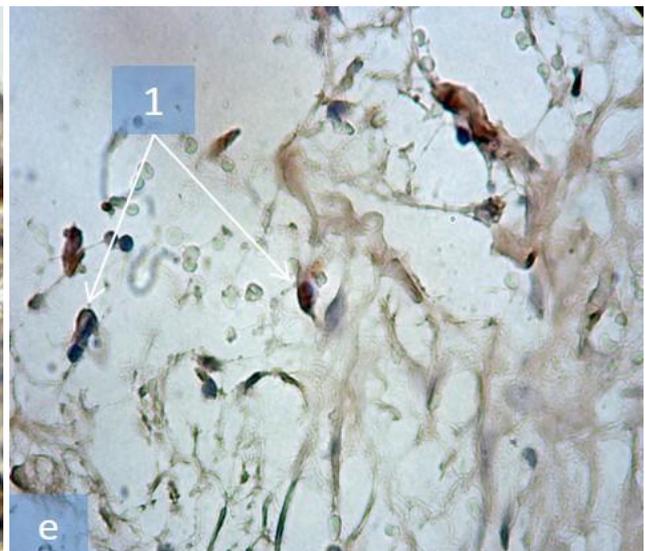
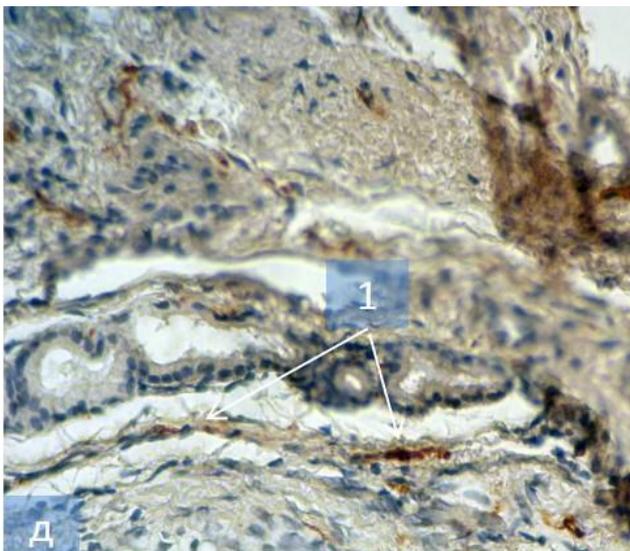
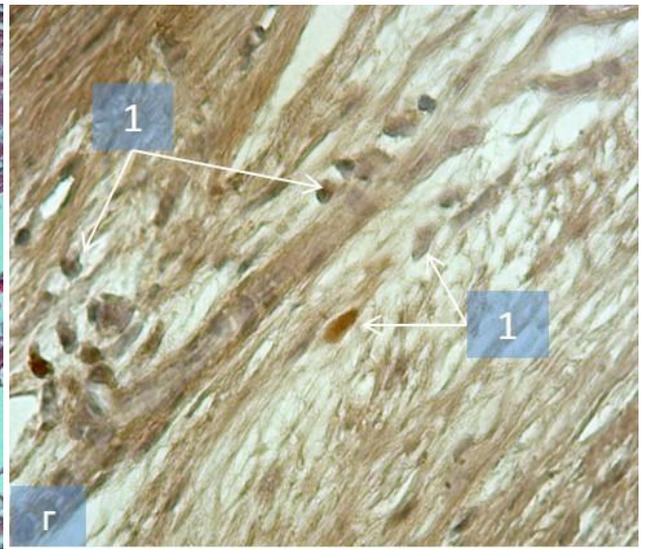
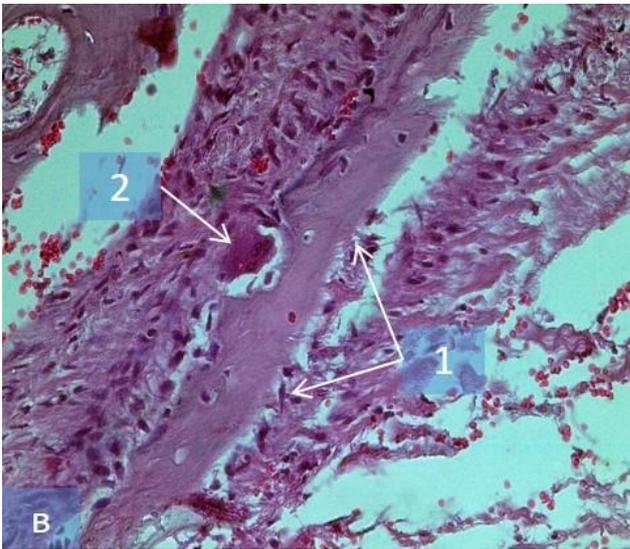
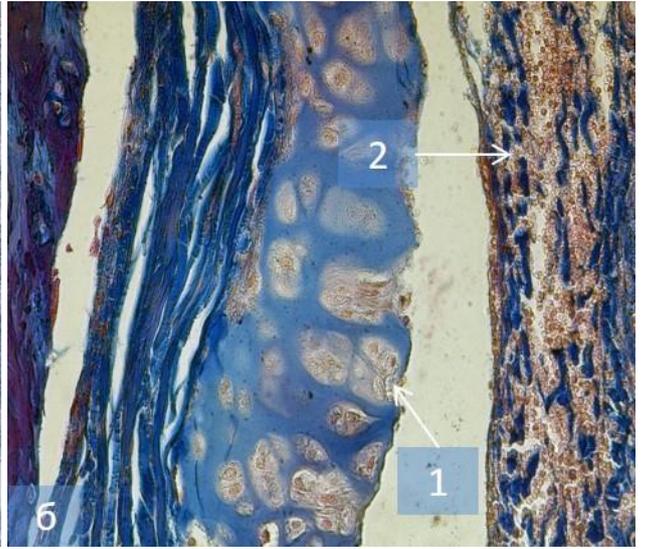
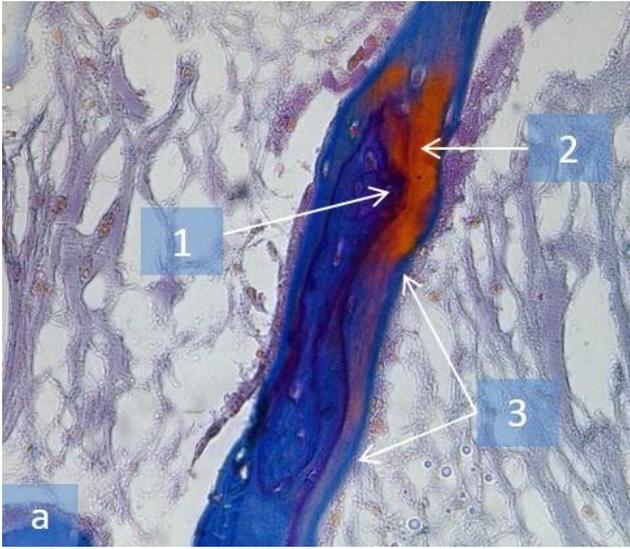


Рисунок 3.3 – Микропрепараты нижней челюсти кролика через 7 (а), 10 (б), 20 (в) суток, 1 (г, д, е) месяц после начала эксперимента в 1-ой (а, в, д) и 2-ой (б, г, д) основных группах. а – напластовывание новообразованных костных трабекулярных структур (1) на зрелую кость (2) с построением ободка из рыхлой костной мозоли (3). Окраска по Маллори. Ок. 10. Об. 20; б – распад хряща на островки (1), хаотичное формирование костных структур, с заменой хондробластов на остециты (2). Окраска по Маллори. Ок. 10. Об. 40; в – мелкопетлистая трабекулярная сеть костной мозоли (1), остеокласты в эрозивных лакунах (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20; г – $Ki67^+$ клетки различного размера между волокнами зрелой соединительной ткани периоста (1). ИГХ реакция на $Ki67$. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 40; д – NSE^+ клетки около кровеносного сосуда (1). ИГХ реакция на NSE . Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 40; е – крупные EMA^+ клетки около формирующихся кровеносных сосудов (1). ИГХ реакция на эпителиальный мембранный антиген. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 40

У края костного дефекта мозоль представлена мелкопетливой трабекулярной сетью, по направлению к центру дефекта эта сеть становится более редкой, а сами костные структуры становятся более тонкими и мелкими, менее дифференцированными, чем в периферическом отделе. В костной ткани, непосредственно примыкающей к дефекту, отмечаются умеренно выраженные резорбтивные изменения с появлением в эрозивных лакунах остеокластов (рисунок 3.3 – в).

При сравнительном сопоставлении препаратов 1-й и 2-й основных групп отмечается более интенсивное формирование костной мозоли в препаратах с гиалуроновой кислотой, причем процессы созревания и вторичной перестройки костной мозоли во 2-ой группе также протекают значительно интенсивнее, чем в 1-ой группе.

Костные дефекты в 1-ой и 2-ой группах через 30 суток после начала эксперимента практически полностью замещены регенератом. В центральных отделах костной мозоли иногда встречаются островки хондронидной ткани. Костные структуры репарата на значительных по протяженности территориях претерпели вторичную перестройку, на периферии костной мозоли они построены из тонковолокнистого костного вещества, отмечается формирование остеогенных систем, в центральных зонах они менее зрелые, все еще построены из грубоволокнистого костного вещества.

При иммуногистохимическом исследовании к данному сроку наблюдения между коллагеновыми волокнами сформированной ткани периоста отмечались многочисленные клетки с экспрессией Ki67⁺ (рисунок 3.3 – г), нейроэндокринные клетки локализовались воль кровеносных сосудов, что подтверждалось умеренной (2 балла) ядерной экспрессией иммунореактивного материала NSE⁺ (рисунок 3.3 – д). Особо следует отметить интенсивную (3 балла) экспрессию иммунореактивного материала EMA⁺ (эпителиального мембранного антигена) в препаратах 2-ой группы, тип экспрессии - мелко-гранулярный, преимущественно цитоплазматический (рисунок 3.3 – е).

Через 3 месяца визуализируются все структуры костной мозоли из тонковолокнистого вещества, процессы вторичной постройки завершаются. К исходу 6 месяцев реактивные изменения нативной костной ткани полностью купируются, отмечается восстановление трабекулярного строения, периостальные костные напластования репарата, заполнившего дефект, редуцируются.

Изучение гистопрепаратов в контрольной группе (дефект под кровяным сгустком) свидетельствует об отсутствии динамики в формировании в дефекте костного репарата. Вслед за воспалительно-реактивными изменениями в области операционной травмы, которые стихают к 20-м суткам наблюдения, дефект заполняется груборубцовой соединительной тканью, которая определяется во все сроки (рисунок 3.4 – а, б). Анализ иммуногистохимического статуса (рисунок 3.4 – в, г) препаратов контрольной

группы свидетельствует о крайне низкой реактивности как клеток гемопоэтического (EMA^+), так и нейроэктодермального (NSE^+) происхождения, а также пролиферирующих клеток стадии интерфазы (Ki67^+), интенсивность экспрессии которых оказалась значительно ниже показателей, установленных в 1 и 2-ой группах наблюдения.

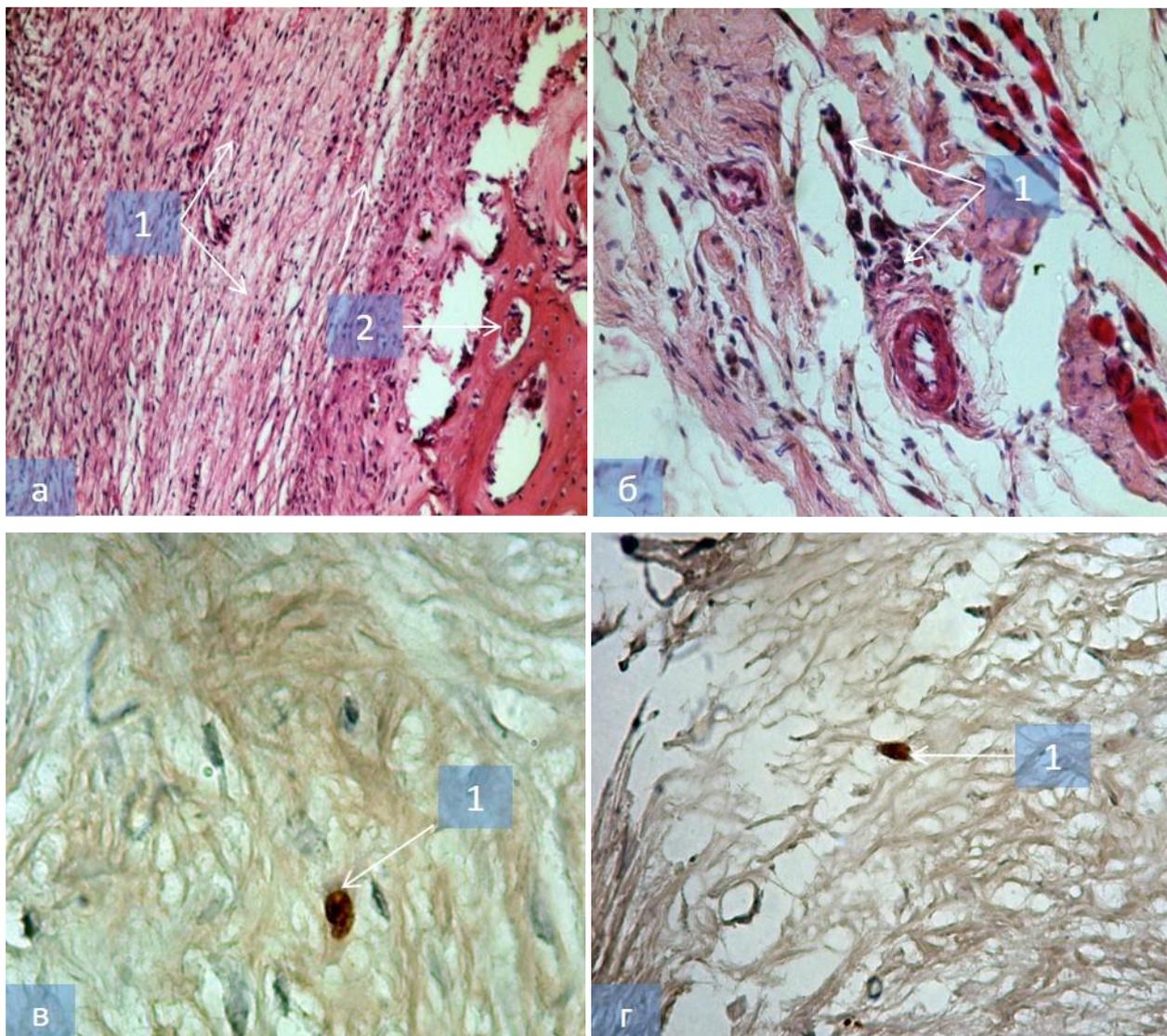


Рисунок 3.4 – Микропрепараты нижней челюсти кролика через 7 (а), 10 (б), 20 (в) суток и 1 (г) месяц после начала эксперимента в контрольной группе. а – мелковолокнистая соединительная ткань с зонами обширных геморрагий (1), неплотно примыкающих к стенкам костного дефекта (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20; б – мелкие кровоизлияния вокруг сосудов капиллярной сети (1). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10.Об. 20; в – единичная Ki67^+ клетка (1). ИГХ реакция на Ki67 . Продукт реакции

коричневого цвета. Ок. 10. Об. 100; г – единичная ЕМА⁺ клетка между волокнами незрелой соединительной ткани периоста. ИГХ реакция на эпителиальный мембранный антиген. Продукт реакции коричневого цвета.

Ок.10.Об.20

Таким образом, в контрольной группе проявление репаративного остеогенеза заключалось только в слабой периостальной реакцией - новообразования коротких и слабоветвящихся костных балочек в пределах 10-20 суток опыта. В последующие сроки, как отмечалось выше, процессы новообразования кости затормаживались.

Резюме

Таким образом, результаты экспериментальной апробации остеопластических материалов на основе ГАП и ТКФ как с добавлением гиалуроновой кислоты, так и без нее, свидетельствуют об их высокой остеогенной потенции, а значительная пористость создает оптимальные условия для прорастания клеточной костной ткани в промежутки между гранулами. Биоматериалы не вызывают патологических реакций в окружающей костной ткани, рассасываются синхронно с построением костного репарата, быстро замещаются формирующимися костными структурами, чем обуславливается полное замещение костного дефекта мозолью, которая перестраивается в зрелую кость. Добавление в резорбируемую двухфазную смесь 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата с активатором склейки гранул Bio Linker гиалуроновой кислоты потенцирует остеостимулирующий эффект всей композиции и ускоряет репаративный остеогенез.

ГЛАВА 4.

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПЕРИИМПЛАНТАТНЫХ КОСТНЫХ ДЕФЕКТАХ ЧЕЛЮСТЕЙ, ЗАМЕЩАЕМЫХ СИНТЕТИЧЕСКИМ БИОМАТЕРИАЛОМ ПО БЕЗМЕМБРАННОЙ ТЕХНОЛОГИИ

4.1. Результаты опытно-конструкторских работ по созданию экспериментальной модели периимплантита (патент РФ на изобретение №2730970 по заявке №2019137611)

Изобретение относится к области медицины, в частности, к экспериментальной медицине.

Отторжение имплантатов вследствие воспаления периимплантных тканей встречается у 5-10% оперированных пациентов. Патологический процесс может начаться как сразу, так и через несколько лет активной эксплуатации установленных дентальных имплантатов. Основной причиной считается скопление патогенной микрофлоры в периимплантных тканях неудовлетворительного состояния гигиены в ротовой полости, что приводит к воспалению тканей вокруг установленных имплантатов.

Периимплантит – это воспалительный процесс, который затрагивает периимплантные ткани по всей длине установленного имплантата и приводит к рассасыванию челюстной кости. При такой патологии чаще всего приходится удалять титановые конструкции, чтобы полностью остановить развитие воспаления.

Создание модели периимплантита в эксперименте на животных продиктовано необходимостью прогнозирования возможных исходов после установки дентальных имплантатов в челюстных костях.

Из литературы известны модели экспериментального периимплантита у животных. Как правило, для этих целей используют крыс, кроликов, морских свинок, собак и приматов [56].

Из уровня техники известно, что для создания модели периимплантита некоторые авторы использовали приемы, аналогичные методу формирования пародонтита. Так, T.Berglundh, T. Lindhe (1996) разработали экспериментальную модель периимплантита на собаках [8], которая при ее последовательном воспроизведении приводит к воспалению тканей десны (периимплантный мукозит) и формированию воспалительного поражения кости (периимплантит).

Преимущества метода: короткие сроки формирования модели (6 недель).

Однако в настоящее время отсутствуют научные доказательства того, что при отсутствии соответствующей противовоспалительной терапии периимплантный мукозит приводит к периимплантиту [16].

Кроме этого, использование собак в качестве объектов для экспериментального исследования крайне затруднено вследствие высокого уровня агрессии при длительном содержании, невозможности использования одних и тех же животных повторно.

В качестве подопытных животных в экспериментальной медицине достаточно часто используются лабораторные кролики. Не смотря на явные преимущества использования кролей в качестве экспериментальных моделей (из-за простоты воспроизведения популяции, низкого уровня агрессии), имеется ряд сложностей, связанных с их высокой смертностью из-за худшей, по сравнению с крупными животными, переносимостью хирургических вмешательств и медикаментозных воздействий.

Из уровня техники известна модель периимплантита, выполненная на 33 самцах кроликов породы Шиншилла, сходных по возрасту и массе тела [71].

Собственно, авторами направленного моделирования воспаления вокруг имплантата специально не проводилось, операция выполнялась в асептических условиях с обеспечением первичной стабильности имплантата.

Недостатки метода: неопределенные сроки окончания формирования модели периимплантита, отсутствие доступных беззубых участков челюстной кости, пригодных для установки дентальных имплантатов, необходимость удаления зубов у животного, что существенно влияет на качество результатов эксперимента и ставит под сомнение чистоту опыта.

Известна модель периимплантита, формируемая у половозрелых приматов [184].

Принцип моделирования периимплантита сходен с методом T.Berglundh, T. Lindhe (1996), приведенным выше. Чтобы обеспечить обильное накопление бактериальных бляшек, вокруг имплантатов на входе в периимплантатную борозду авторы накладывали ватные лигатуры.

Недостатками данной экспериментальной модели является высокая стоимость приобретения и содержания животных (обезьян), длительность сроков ее формирования, необходимость регулярного введения новых ватных лигатур ввиду их постоянной утраты (проглатывание с пищей, выплевывание).

Самым близким по сути и вследствие этого, выбранным в качестве прототипа, является «Экспериментальная модель периимплантита» [69].

Авторы моделировали периимплантит на белых крысах в 2 этапа. На первом этапе 50 крысам экстрагировали (удаляли) первый моляр верхней челюсти слева. На втором этапе осуществляли установку имплантатов, изготовленных из титана. Периимплантит моделировали путем создания нестабильности положения имплантата и наложения лигатуры из хлопковой нити на область его шейки.

Преимущества модели: создание условий, максимально соответствующих получению достоверных результатов (нестабильность имплантата, воспаление) по формированию модели периимплантита.

Технический результат прототипа (создание модели периимплантита у крыс в эксперименте) достигается путем сочетанного воздействия 2 факторов: нестабильности имплантата и воспаления. Авторы добились создания

экспериментальной модели периимплантита у 19 из 22 животных (эффективность составила 86,4%).

Недостатки метода прототипа: условия эксперимента предполагают создание нестабильности дентального имплантата, однако из описания модели неясно, каким образом определяется эта нестабильность, поскольку отсутствуют четкие указания на степень крутящего момента (момент силы, вращающий момент, торк) при установке имплантата. Данный параметр крайне важен, поскольку влияет на первичную стабильность имплантата (механическую стабильность), которая, в свою очередь, позволяет добиться/не добиться необходимой остеоинтеграции/деинтеграции.

В этой связи неясно, как обеспечить согласно описанию прототипа, с одной стороны, нестабильность имплантата (являющуюся важной составляющей формирования периимплантита) и при этом не потерять имплантат, а с другой стороны – не затянуть имплантат так, чтобы он интегрировался в кости и не позволил получить адекватную модель периимплантита.

Из описания непонятно, какой именно тип дентального имплантата использован для создания модели периимплантита: одноэтапный (неразборный) или двухэтапный (составной), в описании сказано лишь, что он «не фабричный».

Помимо всего вышесказанного, фиксация лигатуры из хлопковой нити осуществлялась на область шейки имплантата, что способствовало развитию воспаления только в пришеечной части имплантата, окруженной десной, и в конечном итоге, приводило к развитию периимплантного мукозита, а не периимплантита (воспаление костной ткани).

Кроме этого, модель предполагает двухэтапную методику формирования периимплантита с необходимостью удаления зуба у животного, сопровождающимся кровотечением и частыми летальными исходами, что существенно влияет на качество результатов эксперимента и ставит под сомнение чистоту опыта. Выбор в качестве экспериментальной модели крысы

не позволяет полноценно экстраполировать результаты моделирования, полученные у животных, на организм человека, необходимо проведение исследования на сопоставимых по объему тканей организме, таком, как например, организме овцы.

Поставленная задача по разработке модели периимплантита достигается путем препарирования кортикальной пластинки челюстной кости по вершине альвеолярного гребня беззубого участка челюсти взрослой овцы хирургической фрезой диаметром 2 мм со скоростью вращения 1200 об/мин на глубину 5 мм без охлаждения, установки винтового дентального имплантата, диаметром 2,5 мм, длиной 10 мм, с крутящим моментом 15 Нсм, на внутрикостную часть которого предварительно накручена лигатура из хлопковой нити.

Эксперимент осуществлен на 12-и овцах Северо-Кавказской породы, которые были поделены на 2 группы, основную (включала 8 животных) и контрольную (включала 4 животных). Всего установлено 48 дентальных имплантатов, по 2 с каждой стороны челюсти.

Обоснование выбора животного для формирования модели периимплантита.

Северо-Кавказская мясошерстная порода овец выведена в 1958 году в Ставропольском крае учеными Всероссийского НИИ овцеводства и козоводства в результате селекционной работы по выведению породы овец, адаптированной к неблагоприятным условиям проживания (сухой климат, резкие перепады температуры). Северо-Кавказские овцы – животные с крепкой конституцией, крупные (бараны до 100 кг, матки – до 70 кг), высота в холке достигает 75 см. Хорошо выражены мускулы на конечностях и окороках. Ноги средние, крепкие, правильно поставленные. Животные комолые (безрогие). Овцы Северо-Кавказской породы отличаются хорошими нагульными качествами. Среднесуточный прирост на выгуле с подкормкой - 200 грамм. Животное считается взрослым с полностью сформированными органами и тканями, начиная с трехлетнего возраста.

Причины выбора овец в качестве экспериментальной модели именно Северо-Кавказской породы обусловлен причинами, подробно изложенными в главе 2. Для создания модели периимплантита у овец важным является наличие беззубых участков на нижней и верхней челюстях у взрослых животных, протяженностью, в среднем, от 30 до 50 мм, пригодных для установки винтовых дентальных имплантатов (рисунок 4.1).

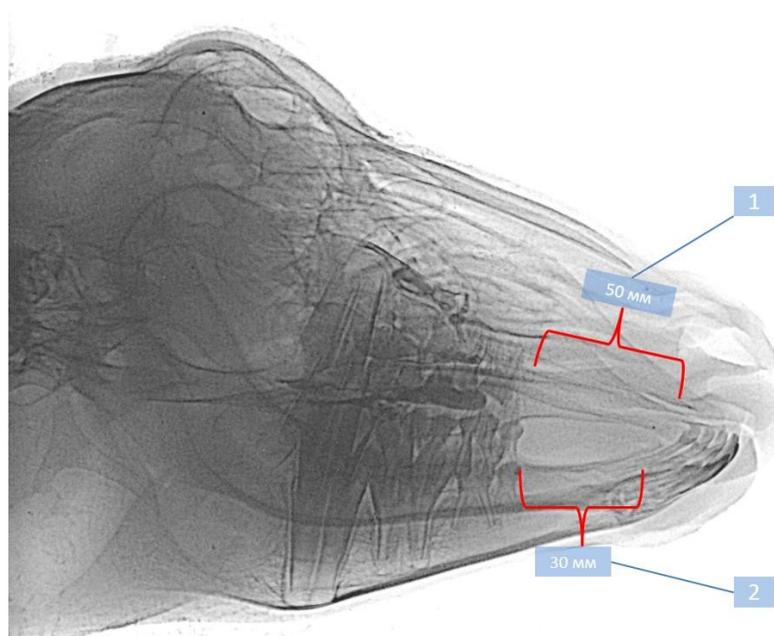


Рисунок 4.1 – Результаты рентгеновской денситометрии челюстных костей овцы до начала эксперимента (основная группа). Беззубые участки на верхней (1) и нижней (2) челюстях у взрослых животных, пригодные для установки винтовых дентальных имплантатов

Способ создания экспериментальной модели периимплантита овец осуществляется следующим образом.

В основной группе производили перфорирование кортикальной пластинки челюстной кости беззубого участка челюсти взрослой овцы по вершине альвеолярного гребня хирургической фрезой, диаметром 2 мм, со скоростью вращения 1200 об/мин на глубину 5 мм без охлаждения.

Затем вкручивали винтовой дентальный имплантат диаметром 2,5 мм, длиной 10 мм, на внутрикостную часть которого предварительно накручивали лигатуру из хлопковой нити, определяя крутящий момент в 15 Нсм с помощью

беспроводного автоматического динамометрического ключа Meg-Torq (пр. Ю.Корея).

В контрольной группе выполняли установку винтового дентального имплантата из титана, изготовленного не фабричным способом по методу прототипа (рисунок 4.2).

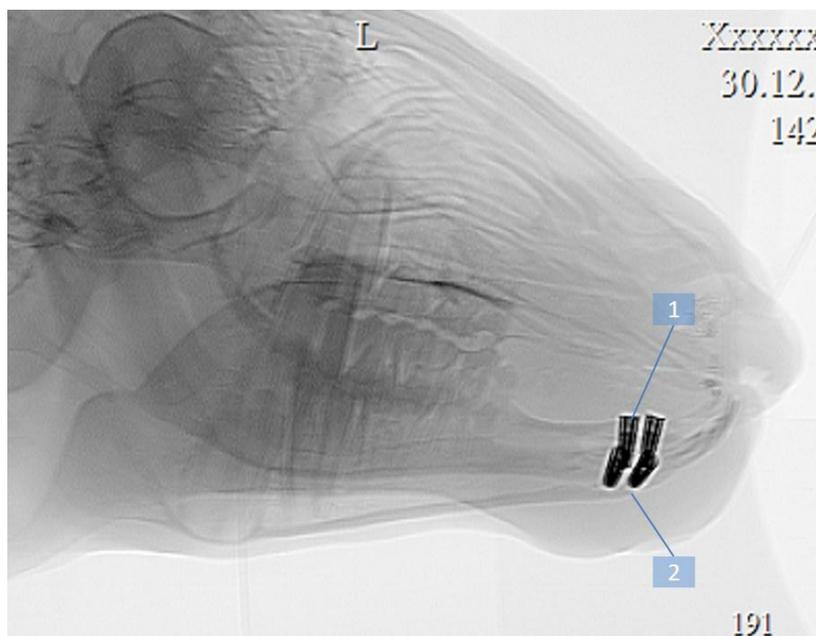


Рисунок 4.2 – Результаты рентгеновской денситометрии челюстных костей овцы через 3 месяца после начала эксперимента (контрольная группа). Дентальные имплантаты, установленные на левой (1) и правой (2) сторонах нижней челюсти

При плотности костной ткани нижней челюсти ниже 250 ЕД по шкале Хаунсфилда (определяемой по результатам рентгеновской денситометрии) и подвижности винтового дентального имплантата 3 степени (подвижность в медио-дистальном, вестибуло-оральном направлениях и вокруг собственной оси) считали модель периимплантита сформированной.

Краткая характеристика этапов и элементов, использованных в разработке модели.

Препарирование беззубого участка челюсти взрослой овцы хирургической фрезой диаметром 2 мм со скоростью вращения 1200 об/мин на глубину 5 мм без охлаждения водой или физиологическим раствором, в

результате которого перфорировали кортикальную кость по вершине альвеолярного гребня, приводило к коагуляции коллагеновых волокон кости, что способствовало ускорению начала воспалительной реакции и, как следствие, сокращению сроков формирования модели периимплантата.

Опытным путем установлено, что увеличение скорости вращения фрезы выше 1200 об/мин без охлаждения приводит к некрозу костной ткани, а уменьшение скорости вращения фрезы менее 1200 об/мин, даже без охлаждения, не дает требуемого эффекта коагуляции коллагеновых волокон и не позволяет ускорить формирование модели периимплантата.

Диаметр хирургической фрезы в 2 мм подобран также опытным путем, поскольку его увеличение, например, до 2,5 мм не позволяет обеспечить минимальную стабильность дентального имплантата с диаметром 2,5 мм (имплантат не фиксируется в кости), а уменьшение диаметра фрезы, например, до 1 мм не дает возможности закрутить имплантат в кость.

Глубина перфорирования фрезой кости в 5 мм также определена опытным путем и обеспечивает минимальную стабильность дентального имплантата, при увеличении глубины перфорирования кости, например, до 7 мм, стабильность имплантата чрезмерная, при уменьшении, например, до 2 мм, не удастся вкрутить имплантат в кость.

Стандартный винтовой дентальный имплантат ENDURE (США) диаметром 2,5 мм и длиной 10 мм является одним из часто используемых дентальных имплантатов в клинических условиях, полностью соответствует стандартам и позволяет оценивать его стабильность в момент установки.

Фиксация хлопковой нити на внутрикостную часть одноэтапного винтового имплантата обеспечивает равномерное распространение патологического процесса не только на пришеечную область (как у прототипа) имплантата, но и на всю область окружающей его костной ткани (по всей длине внутрикостной части имплантата).

Фиксация одноэтапного винтового дентального имплантата в окружающей кости с крутящим моментом 15 Нсм обеспечивает нестабильность

имплантата (являющуюся важной составляющей формирования периимплантита), но позволяет при этом не потерять имплантат.

Следует отметить, что подобранный опытным путем крутящий момент (момент силы) в 15 Нсм позволяет затянуть имплантат так, чтобы он не интегрировался в кости, но и не выпал раньше, чем будет окончательно сформирована экспериментальная модель периимплантита.

Выбор овцы для формирования экспериментальной модели периимплантита также оказался удачным: за все время эксперимента ни одно животное не умерло, у всех подопытных удалось получить адекватные (по данным рентгеновской денситометрии и оценки подвижности) модели периимплантита (эффективность модели составила 100%).

Сроки формирования экспериментальной модели периимплантита в основной группе животных (разработанный способ) составили 30 дней (рис.4.3).

Сроки формирования экспериментальной модели периимплантита в контрольной группе животных (прототип) составили 90 дней.

На рисунках 4.1 - 4.3 изображены отпечатки скриншотов с экрана компьютера при проведении рентгеновской денситометрии овец.

На рисунке 4.1 изображены результаты рентгеновской денситометрии челюстных костей овцы до начала эксперимента (основная группа). Беззубые участки на верхней (1) и нижней (2) челюстях у взрослых животных, пригодные для установки винтовых дентальных имплантатов.



Рисунок 4.3 – Результаты рентгеновской денситометрии челюстных костей овцы через 1 месяц после начала эксперимента (основная группа). В периимплантной области установленных одноэтапных дентальных имплантатов (1) отмечен сформированный дефект костной ткани в области внутрикостной части дентального имплантата длиной 6,698 мм и шириной 4,345 мм (2)

На рисунке 4.2 изображены результаты рентгеновской денситометрии челюстных костей овцы через 3 месяца после начала эксперимента (контрольная группа). Дентальные имплантаты, установленные на левой (1) и правой (2) сторонах нижней челюсти.

На рисунке 4.3 изображены результаты рентгеновской денситометрии челюстных костей овцы через 1 месяц после начала эксперимента (основная группа). В периимплантной области установленных одноэтапных дентальных имплантатов (1) отмечен сформированный дефект костной ткани в области

внутрикостной части дентального имплантата длиной 6,698 мм и шириной 4,345 мм (2).

Результаты проведенного исследования показали, что в основной группе уже через 1 месяц плотность костной ткани челюстных костей по шкале Хаунсфилда составила 210 ЕД, а в контрольной группе, где экспериментальная модель сформирована по описанию прототипа, плотность костной ткани челюстных костей по шкале Хаунсфилда составила 525 ЕД.

Экспериментальная модель позволяет исключить летальные исходы в послеоперационном периоде, предоставляет неограниченный объем тканей, пригодных для научного исследования, а также существенно расширяет границы практической применимости модели по сравнению с прототипом.

4.2. Результаты исследования гистологических и иммуногистохимических особенностей регенерации костной ткани верхней челюсти в экспериментальных периимплантатных дефектах, замещаемых синтетическим биоматериалом по безмембранной технологии

4.2.1. Результаты исследования в контрольной группе (верхняя челюсть)

В соответствии с задачами исследования, после разработки экспериментальной модели периимплантата в контрольной группе наблюдали заживление периимплантатных дефектов под кровяным сгустком в сроки 14, 30, 60 и 180 суток.

Через 14 и 30 суток при микроскопическом исследовании костных блоков, выделенных из верхней челюсти овцы контрольной группы эпителий Шнейдеровой мембраны - без патологии. Хорошо выражены реснитчатые и бокаловидные клетки (рисунок 4.4 – а, б). Железы собственной пластинки без видимых патогистологических изменений, к 60-м суткам со стороны костного

дефекта наблюдается постепенное увеличение объема ретикулоподобной ткани с запечатыванием в ней костных обломков (рисунок 4.5 – а, б).

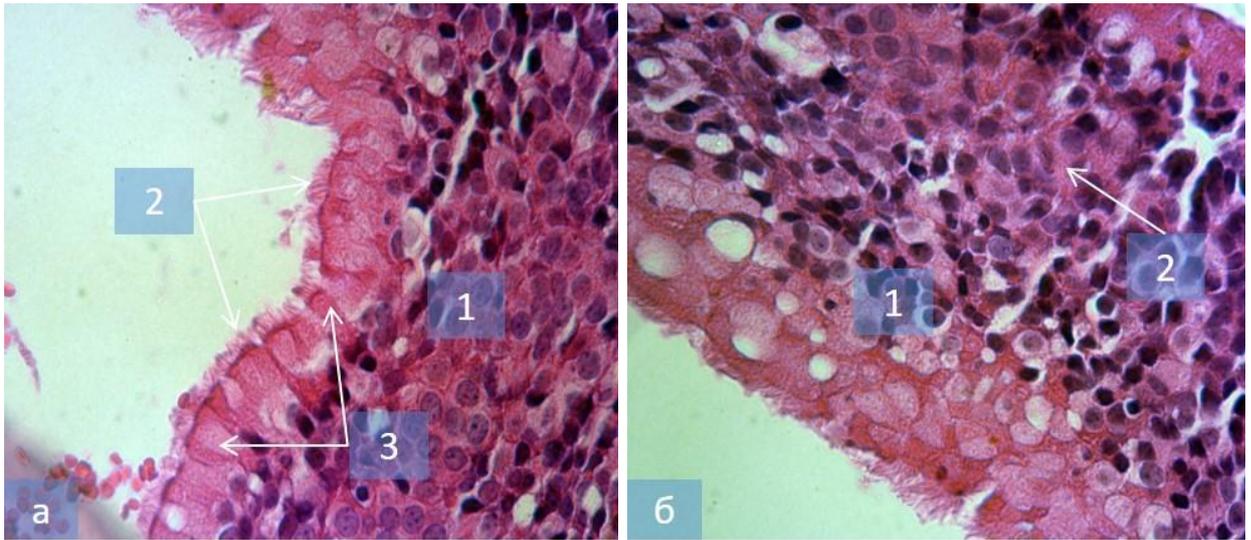


Рисунок 4.4 – Контрольная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы через 14 (а) и 30 (б) суток после начала эксперимента. а – эпителиальный слой мембраны Шнейдера (1), ряды реснитчатых (2) и бокаловидных (3) клеток. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 100; б – эпителиальный слой мембраны Шнейдера (1), глубокие слои эпителия (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 100

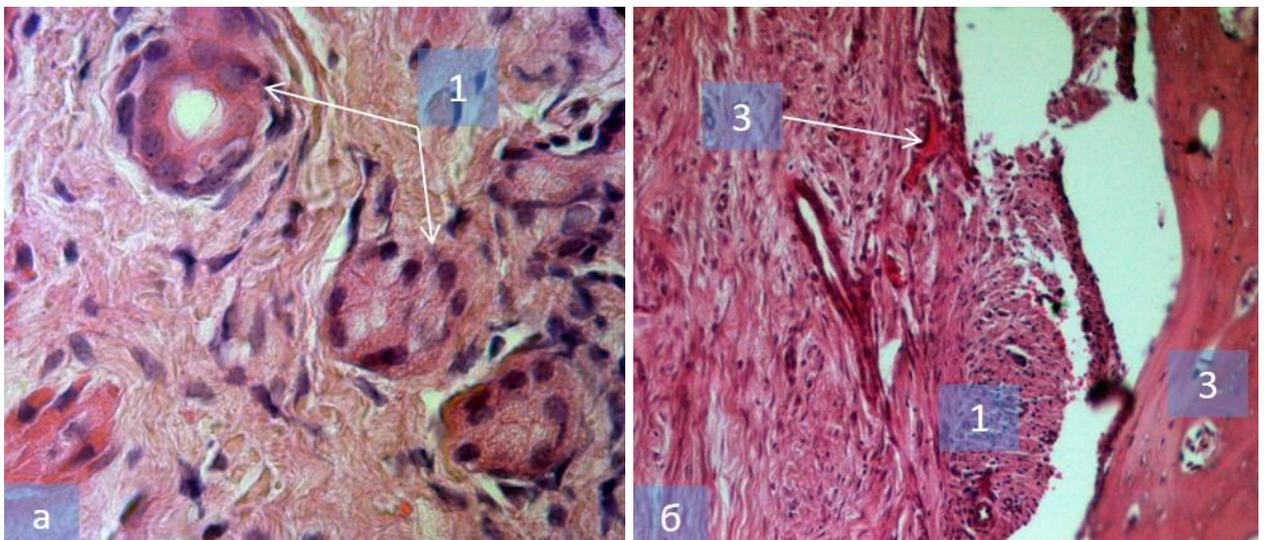


Рисунок 4.5 – Контрольная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы через 30 (а) и 60 (б) суток после начала эксперимента. а – железы собственной пластинки (1) без видимых патогистологических изменений. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 100; б – увеличение объема ретикулоподобной ткани (1) с запечатыванием в ней костных обломков (2) в

центре и по периферии дефекта (3). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10.
Об. 100

В самом периосте на 60-е сутки отмечаются круглые остеоны, чаще полигональной формы, которые к 180-м суткам приобретают характерную структуру пластинчатой кости (рисунок 4.6 – а, б).

В образцах препаратов контрольной группы при обработке результатов иммуногистохимического исследования зафиксирована экспрессивность виментина⁺ и CD34⁺, причём выявленная сила реакции иммунореактивного материала виментина⁺ определяется как слабая (1 балл), а сила реакции иммунореактивного материала CD34⁺ - как умеренная (2 балла). Иммунореактивный материал преимущественно ядерный.

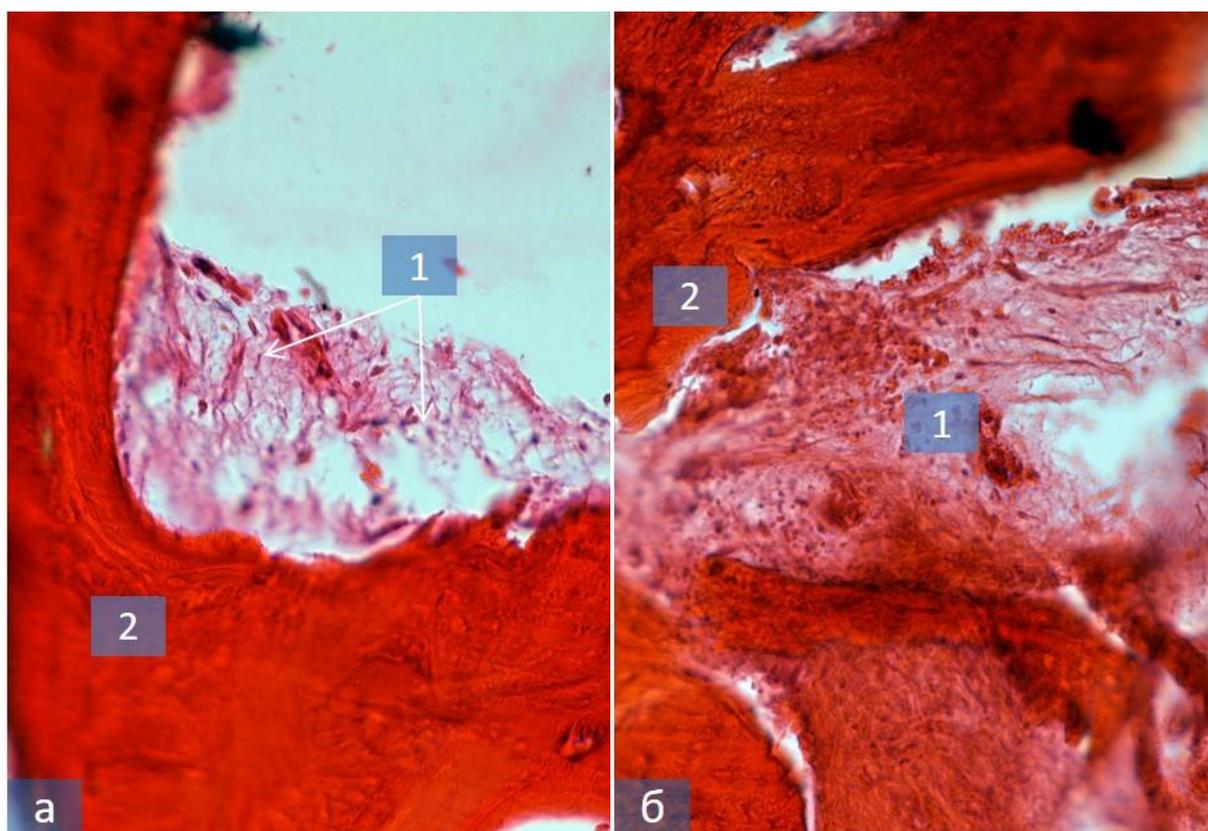


Рисунок 4.6 – Контрольная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы через 60 (а) и 180 (б) суток после начала эксперимента. а – заполнение остеона молодой ретикулоподобной тканью (1) на границе с собственной пластинчатой костью (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 40; б –

преобразование ретикулоподобной (1) ткани в костную (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 100

Виментин⁺ клетки обнаруживались единичными элементами между коллагеновыми волокнами к сроку наблюдения 60 и 180 суток (рисунок 4.7 – а). Иммунореактивный материал CD34⁺ равномерно распределялся по клеточной мембране между волокнами соединительной ткани, наиболее отчетливо проявляясь к 180-м суткам наблюдения (рисунок 4.7 – б).

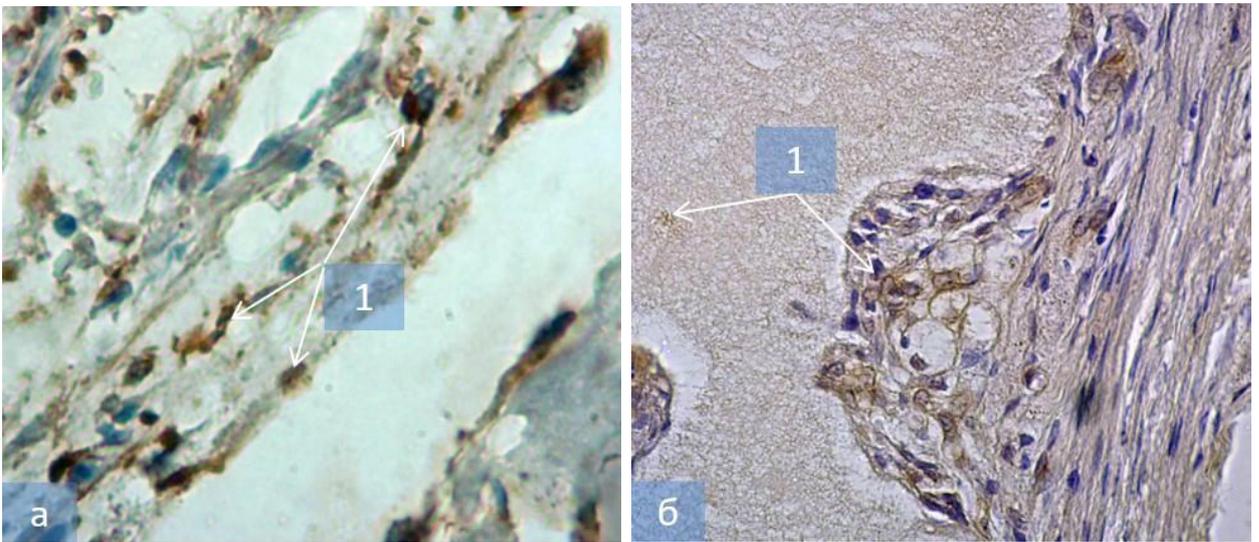


Рисунок 4.7 – Контрольная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы через 60 (а) и 180 (б) суток после начала эксперимента. а – виментин⁺ клетки, хаотично расположенные вдоль кровеносных сосудов (1). ИГХ реакция на виментин⁺. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 40; б – CD34⁺ клетки в строме соединительной ткани и между коллагеновыми волокнами (1). ИГХ реакция на CD34. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. об.40

Резюме

Таким образом, при исследовании микропрепаратов верхней челюсти овцы в различные сроки после формирования модели периимплантита в контрольной группе (при ведении раны под кровяным сгустком) отмечается стабильное состояние эпителия шнейдеровой мембраны с хорошо

выраженными реснитчатыми и бокаловидными клетками. Со стороны костного дефекта наблюдается постепенное увеличение объема ретикулоподобной ткани на фоне слабовыраженной воспалительной реакции.

При иммуногистохимическом исследовании препаратов контрольной группы установлена слабая экспрессия маркеров виментина⁺ и умеренная экспрессия CD34⁺ с локализацией иммунореактивного материала между коллагеновыми волокнами, железами собственной пластинки и по интима формирующихся кровеносных сосудов, что свидетельствует о низком уровне пролиферации эндотелиальных клеток, ответственных за ангиогенез костного регенерата.

Схематическое изображение результатов морфометрических исследований в контрольной группе представлено на рисунке 4.8.

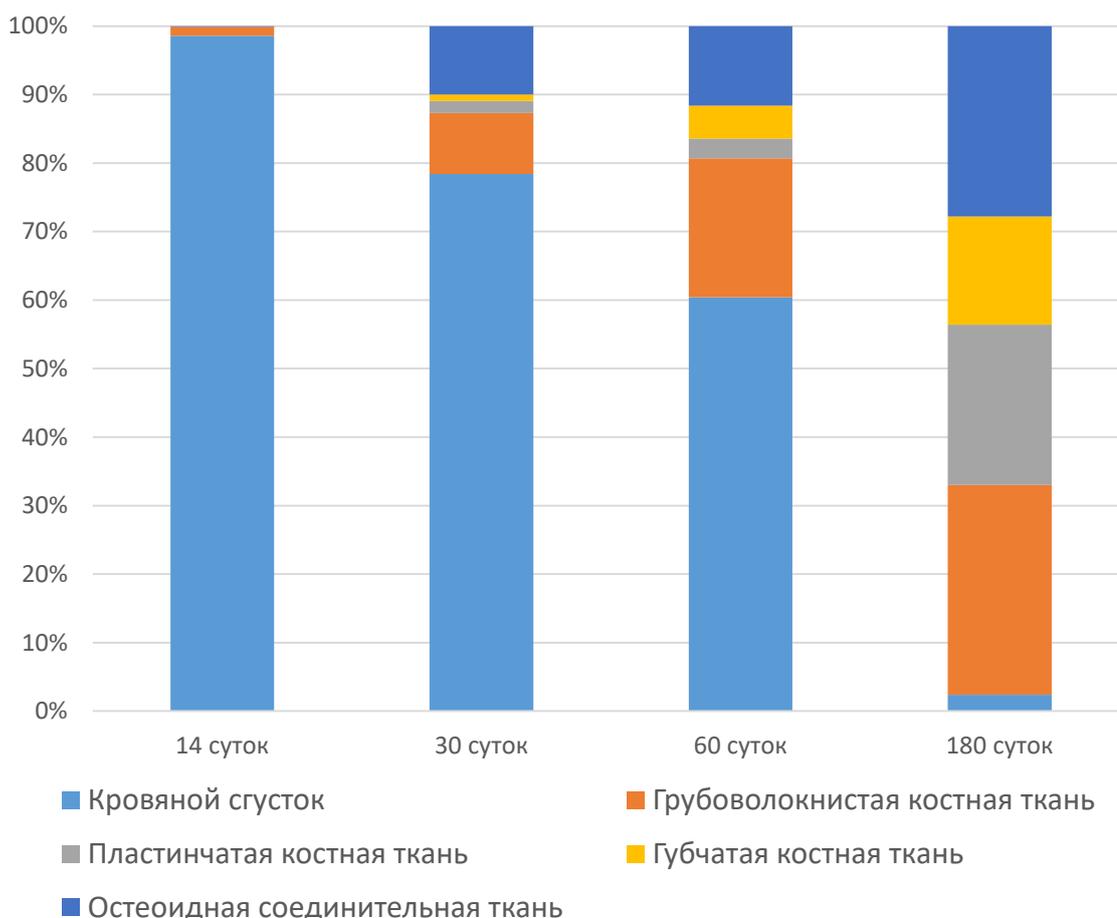


Рисунок 4.8 – Морфометрическая характеристика репаративной регенерации в экспериментальных перимплантатных дефектах верхней челюсти овец контрольной группы

4.2.2. Результаты исследования в основной группе (верхняя челюсть)

В соответствии с дизайном исследования, в 1-ой основной группе животных после окончания формирования модели периимплантита для заполнения периимплантатного дефекта кортикальной кости использовали резорбируемую двухфазную смесь из 60% гидроксиапатита кальция (ГАП) и 40% β -трикальцийфосфата (ТКФ), с активатором склейки гранул Bio Linker, во 2-й основной группе – тот же состав, но с добавлением гиалуроновой кислоты.

При микроскопическом исследовании препаратов обеих групп с верхней челюсти через 14 и 30 суток эпителий Шнейдеровой мембраны - без видимой патологии, реснитчатые и бокаловидные клетки правильной формы, хорошо просматриваются, железы собственной пластинки - также без видимых патогистологических изменений (рисунок 4.9 – а, б). Вышеприведенные данные о статусе Шнейдеровой мембраны гайморовой пазухи касаются препаратов как 1-ой, так и 2-ой группы.

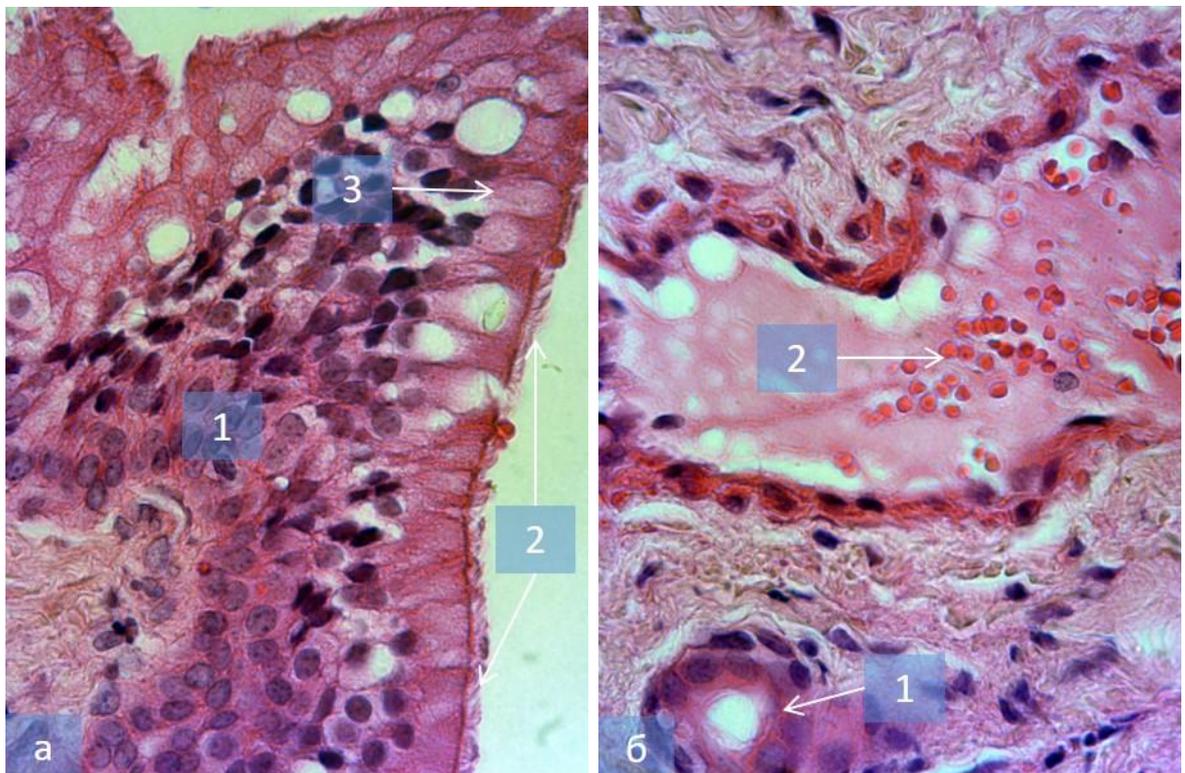


Рисунок 4.9 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-й (а) и 2-ой основных групп (б) через 14 (а) и 30 (б) суток после начала эксперимента. а – эпителиальный слой мембраны Шнейдера (1), ряды реснитчатых (2) и бокаловидных (3) клеток. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 100; б – железа собственной пластинки (1) без видимых патогистологических изменений, выход форменных элементов за пределы кровеносного сосуда (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 100

Со стороны периоста к 30-м суткам в обеих группах также регистрируются однонаправленные изменения: повсеместно видны фокусированные фрагменты имплантированного материала. При увеличении х40 их насчитывается от 4 до 10 единиц. Osteoplasticкий материал характеризуется пористо-пенистой структурой, имеющей преимущественно слабо базофильное окрашивание. Зонально имплантированный материал имеет просветленные участки или более интенсивно окрашенные, что по-видимому соответствует расположению органических биологически-активных веществ (активатор склейки гранул Bio Linker и гиалуроновую кислоту) в представленном материале (рисунок 4.10 – а, б).

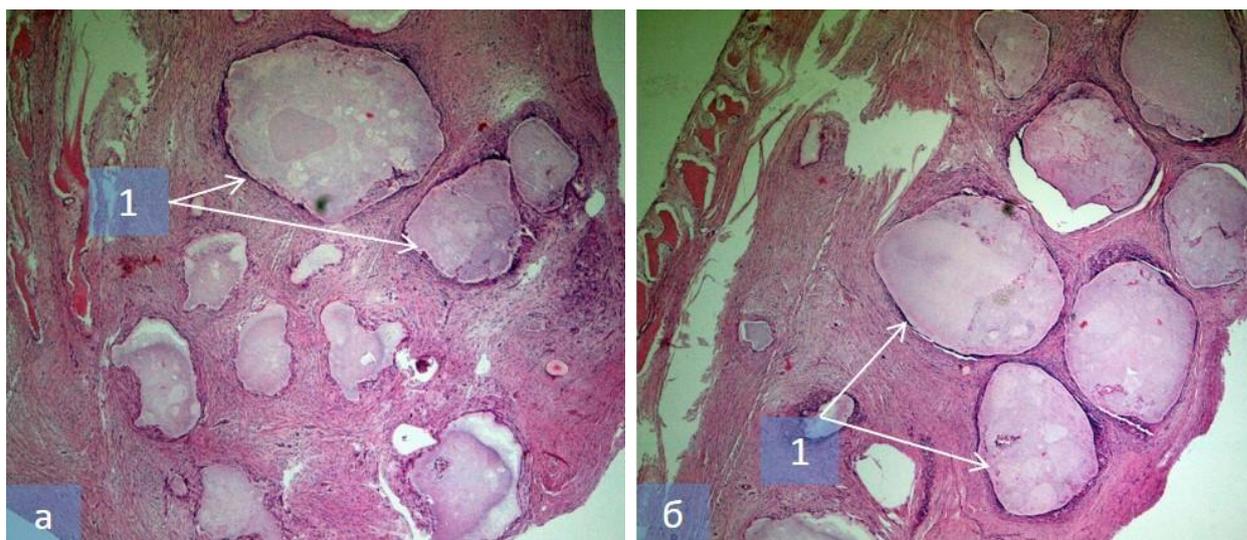


Рисунок 4.10 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-й (а) и 2-ой основных групп (б) через 30 суток после начала эксперимента. а – фокусы имплантированного материала (1); б – плотные ряды

фокусов имплантированного материала (1). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 40

К 60-м суткам наблюдений становится ясно, что вокруг каждого фокуса имплантированного материала сформирована 2-слойная капсула. Первый слой имеет непосредственный интимный контакт с остеопластическим материалом и многочисленными различного морфологического типа клеточными элементами. Между клетками и материалом просматриваются пустоты и небольшие «пояски», что свидетельствует о высокой степени его биорезорбции. Второй слой является соединительнотканной оболочкой, состоящей из зрелых коллагеновых волокон, собранных в многочисленные волокнистые пучки. Этот слой сшит посредством волокнистого компонента с окружающей соединительной тканью (рисунок 4.11 – а, б).

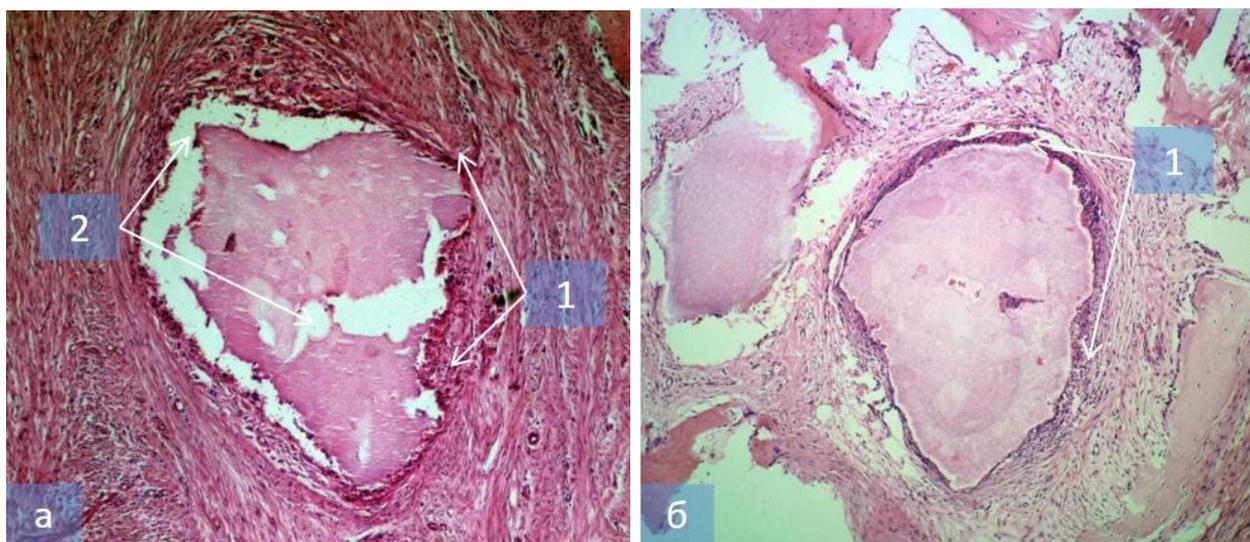


Рисунок 4.11 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-й (а) и 2-ой основных групп (б) через 60 суток после начала эксперимента. а – соединительнотканная капсула вокруг фрагмента имплантированного биоматериала (1), пустоты и «пояски» между клетками и материалом (2); б – соединительнотканная оболочка вокруг гранулы остеопластического материала, состоящая из зрелых коллагеновых волокон, собранных в многочисленные волокнистые пучки (1). Окраска гематоксилином и эозином.

Ок. 10. Об. 100

В этот же срок наблюдения (60 суток) хорошо видно, что непосредственно с биоматериалом локализуются щелевидные пространства, заполненные молодыми недифференцированными клетками, формирующие будущую новую капиллярную сеть. В щелевидных пространствах регистрируются эритроциты, а также выход в межклеточное пространство нейтрофильных лейкоцитов, моноцитов и единичных эозинофильных лейкоцитов. Между клетками крови и формирующимися сосудами микроциркуляторного русла в некоторых зонах отмечается выпотевание фибрина, проявляющееся в виде гомогенно-рыхлой оксифильной массы. Иногда данная масса регистрируется среди склеенных гранул остеопластического материала совместно с клетками, что, по-видимому, является признаком отторжения клеток и фибриновых масс (рисунок 4.12 – а, б).

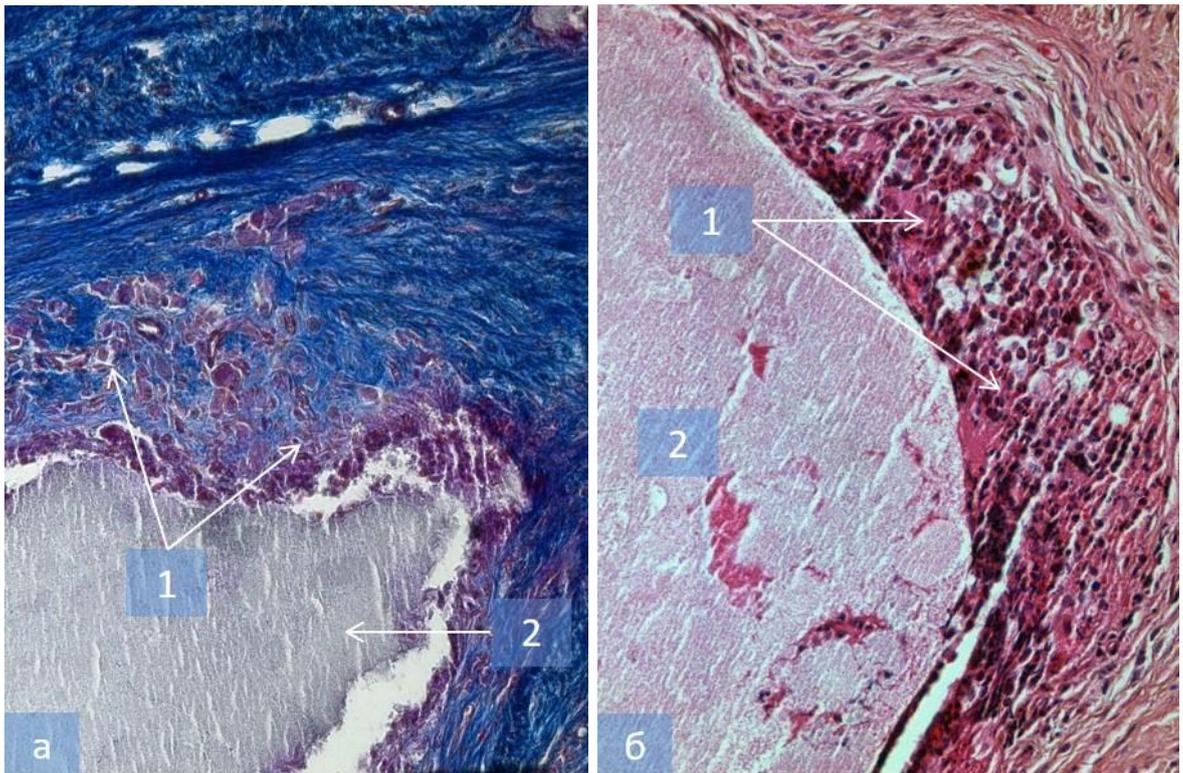


Рисунок 4.12 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-й (а) и 2-ой основных групп (б) через 60 суток после начала эксперимента. а – скопление клеток воспалительного инфильтрата (1) под капсулой имплантата (2). Окраска по Маллори. Ок. 10. Об. 20; б – скопление

клеток воспалительного инфильтрата (1) под капсулой конгломерата склеенных гранул имплантата (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 40

Следует отметить, что к 60-м суткам наблюдения в препаратах 1-ой группы, кроме вышеописанных особенностей повсеместно в скопления гранул биоматериала врастают кровеносные сосуды новообразованного микроциркуляторного русла. В некоторых участках хорошо просматриваются участки с клетками остеобластического и фибробластического дифференции, а также участки с молодой соединительной тканью, имеющей рыхлую и волокнистую структуру (рисунок 4.13 – а, б).

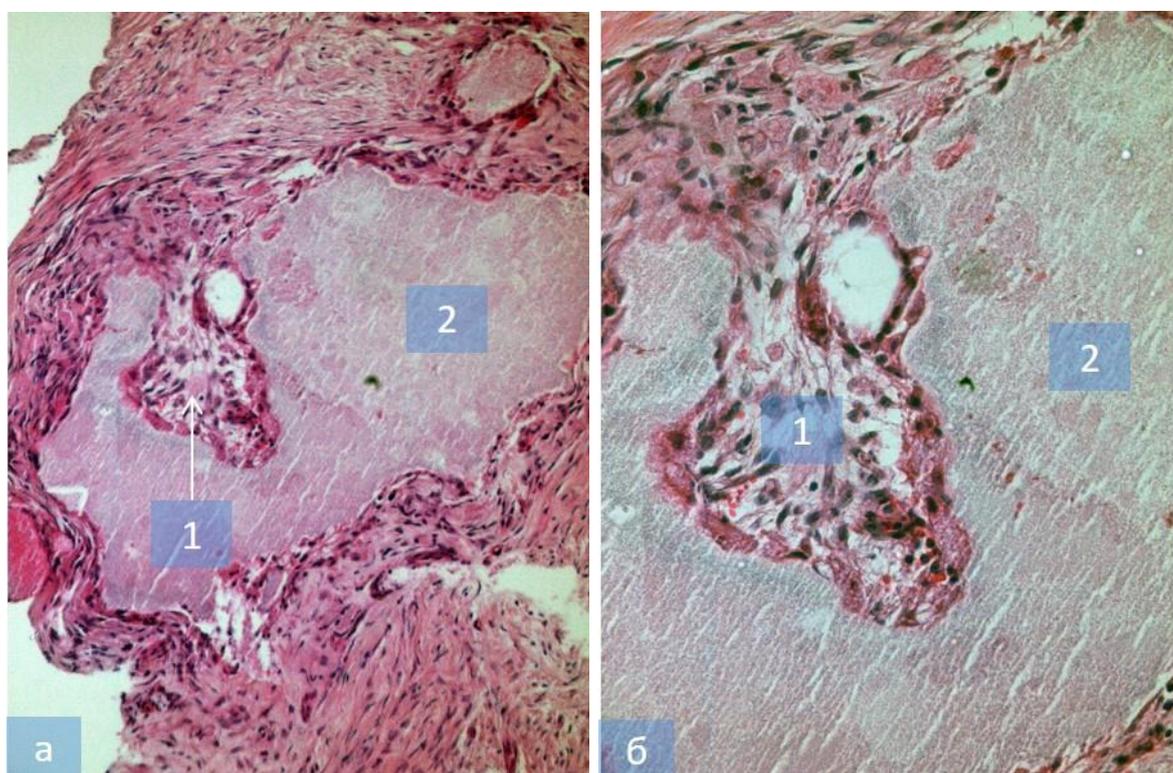


Рисунок 4.13 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-ой группы через 60 суток после начала эксперимента. а – скопление гранул на фоне формирования микроциркулярной сети в молодой соединительной ткани.

Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20; б – обильная васкуляризация молодой соединительной ткани (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 40

Что касается препаратов 2-ой группы, то к 60-м суткам наблюдения (рисунок 4.14 – а), в отличие от препаратов 1-ой группы, островки формирующихся сосудов и локусы костных клеток не были связаны с клеточным слоем капсулы материала, а находились в свободном расположении между пористо-пенистыми массами биоматериала, что, по-видимому, обусловлено потенцированным действием гиалуроновой кислоты на соединительнотканые недифференцированные прогениторные клетки периоста. Более интенсивный рост сосудов и формирование волокнистого компонента по периферии периимплантатного дефекта, на самой границе с нативной костью, во 2-ой группе стимулирует, по нашему мнению, непосредственно сам имплантированный биоматериал в сочетании с гиалуроновой кислотой (рисунок 4.14 – б).

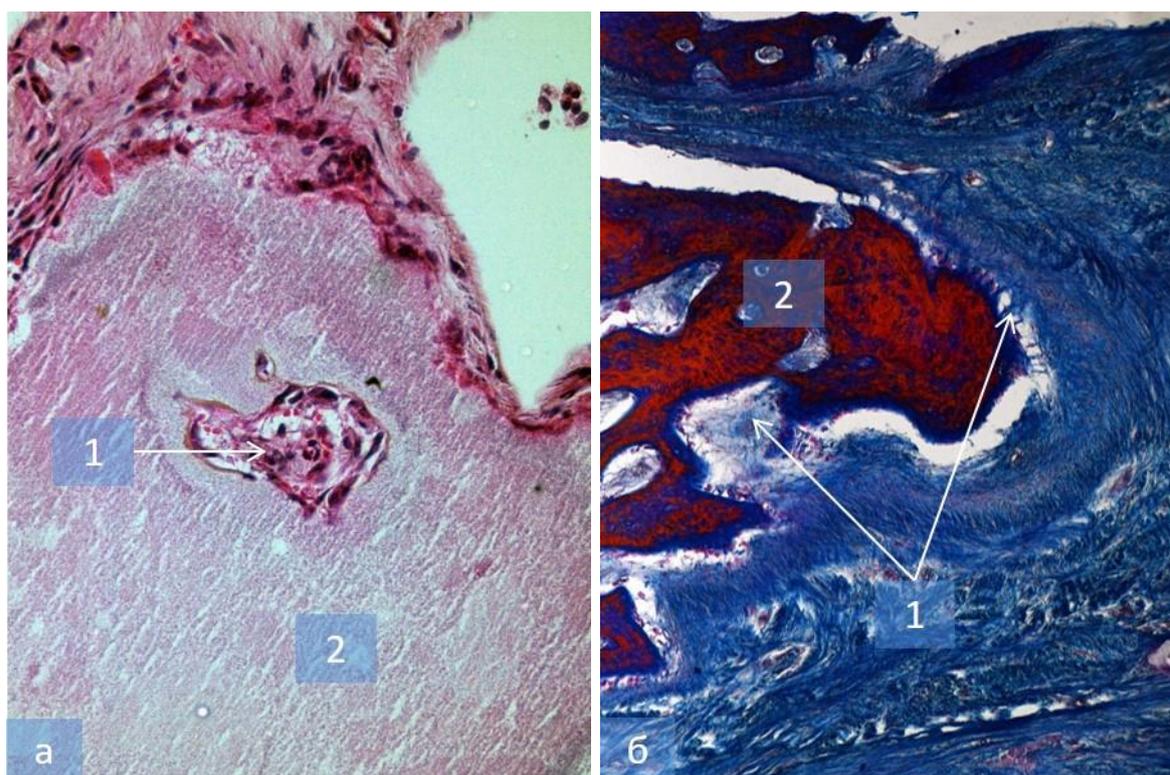


Рисунок 4.14 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 2-ой группы через 60 суток после начала эксперимента. а – сосуды в стадии формирования, единичные локусы клеток костной и соединительной ткани (1) в грануле (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20; б – рост волокон грубоволокнистой соединительной ткани (1) по периферии

перимплантатного дефекта, на границе с нативной костью (2), индуцируемый самим биоматериалом в сочетании с гиалуроновой кислотой. Окраска по Маллори. Ок. 10. Об. 40

В этот же срок наблюдения в препаратах 2-ой группы в единичных локусах имплантированного биоматериала видны новообразованные участки молодой ретикулофиброзной ткани (рисунок 4.15 – а), которые синтезируют матрикс костной ткани (рисунок 4.15 – б), имеют связь с окружающими волокнами за счет фиброостеоплатических микроэлементов имплантированного биоматериала. По-нашему мнению, обнаруженные в препаратах формирующиеся ретикулофиброзные микротрабекулы являются подтверждением реализации в экспериментальном материале процессов остеорепарации за счет резорбции имплантированного биоматериала и построения на его основе матрицы новой костной ткани.

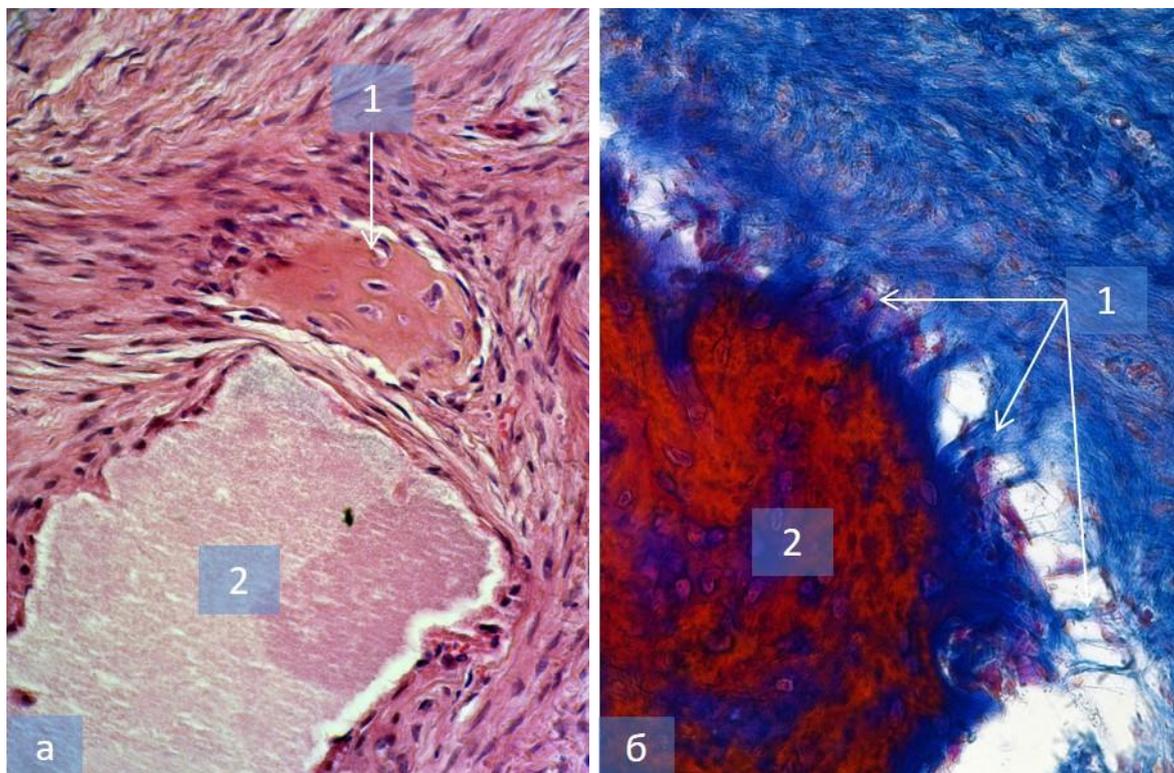


Рисунок 4.15 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 2-ой группы через 60 суток после начала эксперимента. а – формирование микрососудистой сети (1) вокруг гранул материала (2). Окраска

гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20; б – рост волокон грубоволокнистой соединительной ткани (1) по периферии периимплантатного дефекта, на границе с нативной костью (2), индуцируемый самим биоматериалом в сочетании с гиалуроновой кислотой. Окраска по Маллори. Ок. 10. Об. 40

Что касается препаратов первой группы, где для заполнения периимплантатного дефекта кортикальной кости использовали резорбируемую двухфазную смесь из 60% гидроксиапатита кальция (ГАП) и 40% β -трикальцийфосфата (ТКФ), с активатором склейки гранул Bio Linker, к 60-м суткам эксперимента в крупных фокусах имплантированного биоматериала визуализировались картины активного врастания по периферии клеточных структур, кровеносных сосудов и волокнистого компонента, что приводило к отщеплению небольших островковоподобных пористых фрагментов, и является по-нашему мнению, признаком разрушения организмом крупных очагов материала на более мелкие структуры с целью активизации резорбции инородного тела, что и визуализируется повсеместно в виде многочисленных небольших фокусов материала (рисунок 4.16 – а, б).

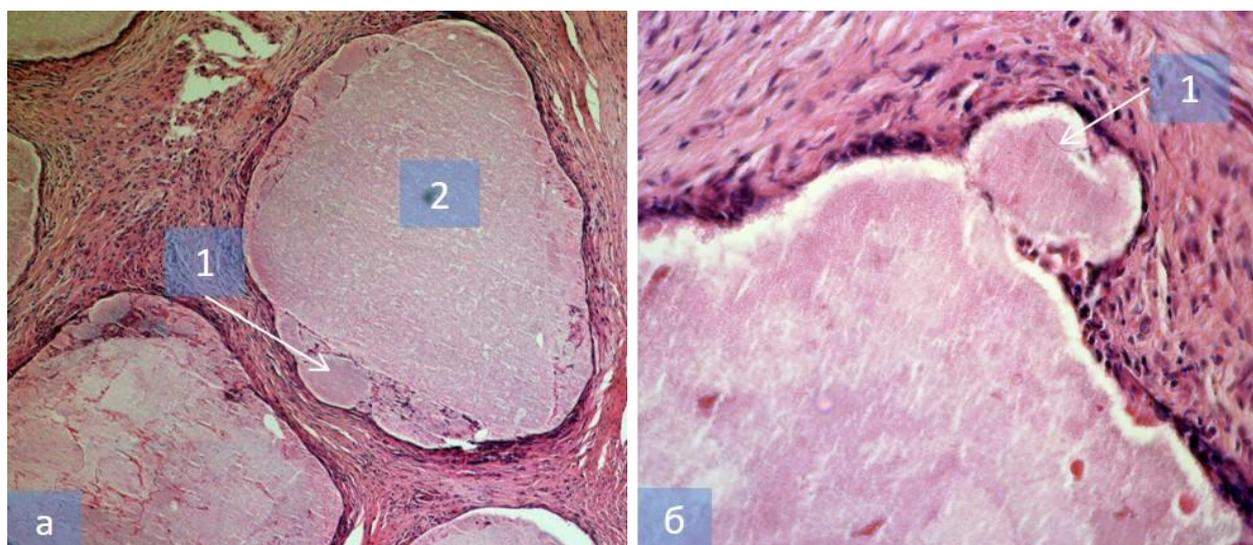


Рисунок 4.16 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 2-ой группы через 60 суток после начала эксперимента. а – формирование островковоподобных фрагментов (1) материала (2). Окраска гематоксилином и

эозином. Ок. 10. Об. 100; б – фрагмент гранулы исследуемого материала.

Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 40

К 180-м суткам наблюдения в обеих исследуемых группах животных, повсеместно между фокусами имплантированного биоматериала регистрируется зрелая кость, с длинными пучками коллагеновых волокон, между которыми отмечаются формирующаяся сеть микроциркуляторного русла в виде мелких сосудов и сопровождающих их нервов (рисунок 4.17 – а, б).

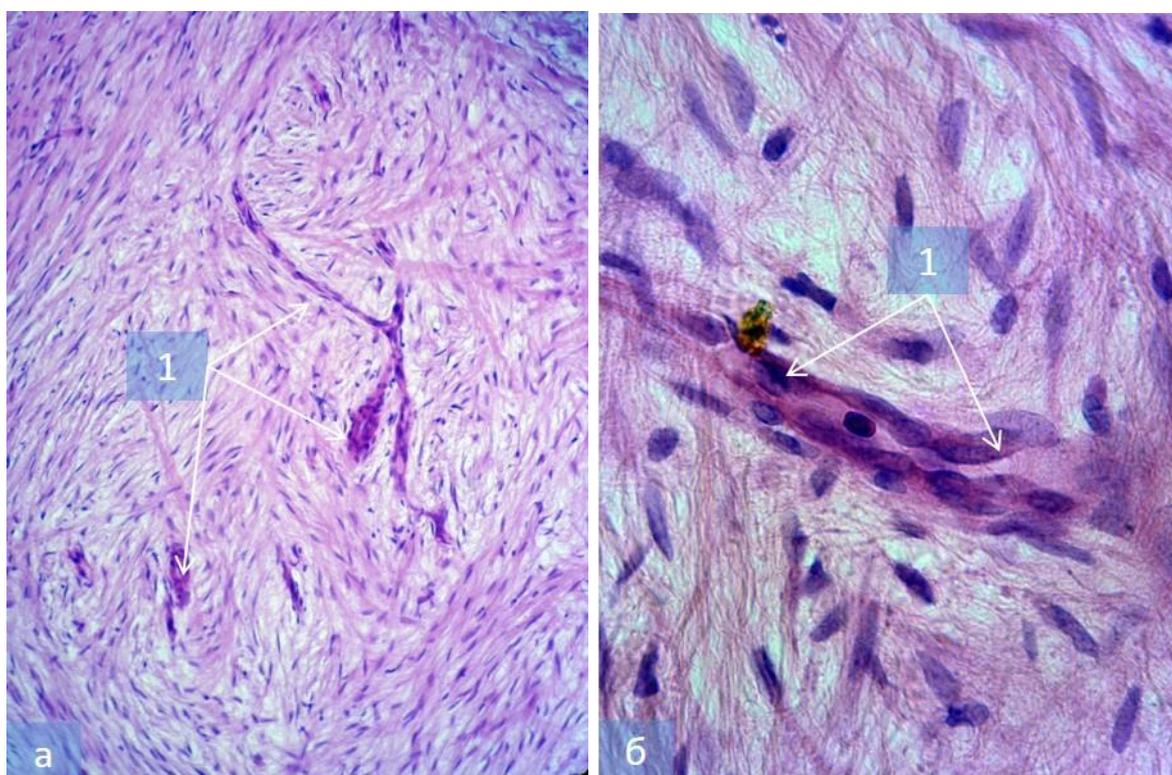


Рисунок 4.17 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-й (а) и 2-ой основных групп (б) через 180 суток после начала эксперимента. а – неоваскулогенез между фокусами гранул материала (1). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20; б – микроциркуляторное русло (1). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 100

В отдельных локациях просматриваются отдельные участки с клетками в виде широкого компактного пласта (рисунок 4.18 – а). При этом от них отходят многочисленные отростки и волокна, которые врастают в матрикс костной

балки, формирующей трабекулярное строение. При этом между гомогенным матриксом в балочках и между коллагеновых волокон просматриваются явления индукции гранул имплантированного биоматериала. В данных зонах костные балки формируют петли, а на их поверхности визуализируются многочисленные остеобласты в виде «частокола» (рисунок 4.18 – б). На небольшом расстоянии от костных балок просматриваются сформированные кровеносные сосуды микроциркуляторного русла.

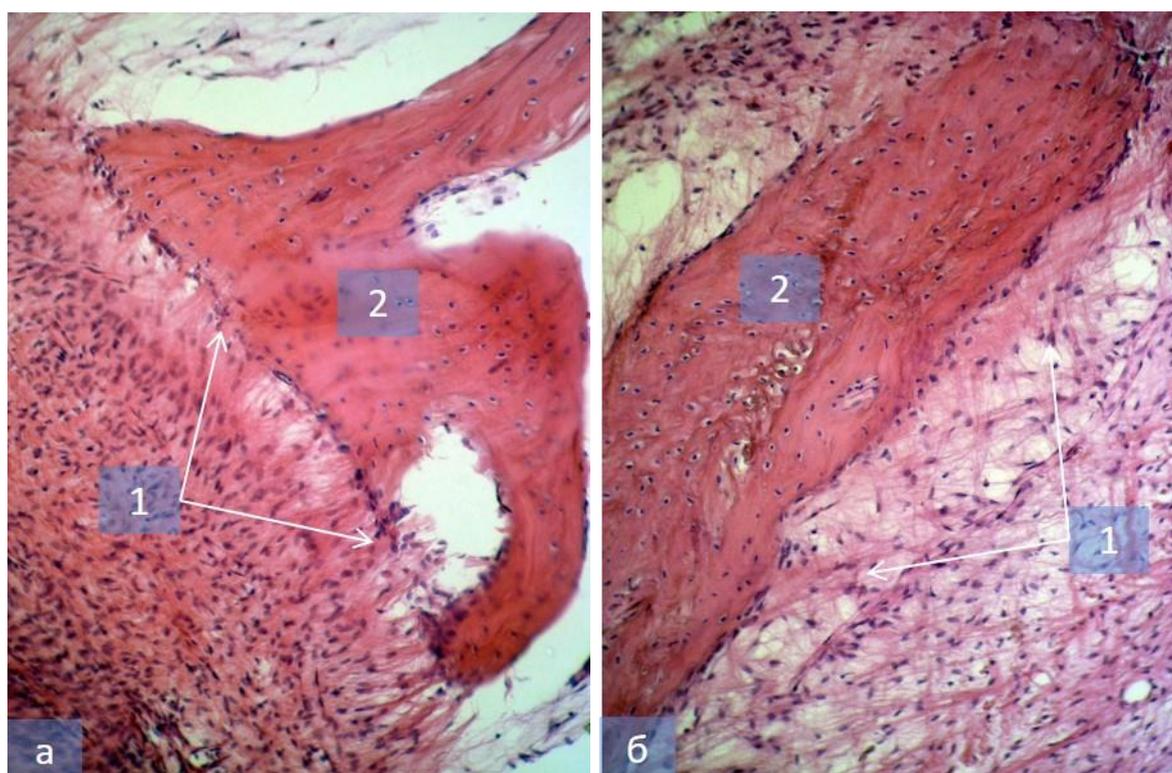


Рисунок 4.18 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-й (а) и 2-ой основных групп (б) через 180 суток после начала эксперимента. а – формирование зон преобразования коллагеновых волокон (1) в костные трабекулы (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20; б – остеобласты в матриксе кости (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20

К данному сроку наблюдения существенной разницы в потенциале новообразования кости между препаратами 1-ой и 2-ой группы (как это было в

срок 60 суток) уже не наблюдается. Между тем, имеются существенные различия в характере происходящих преобразований кости.

Так, в препаратах 1-ой группы к 180-м суткам отмечаются лакуны, в которые проникает имплантированный материал (рисунок 4.19 – а).

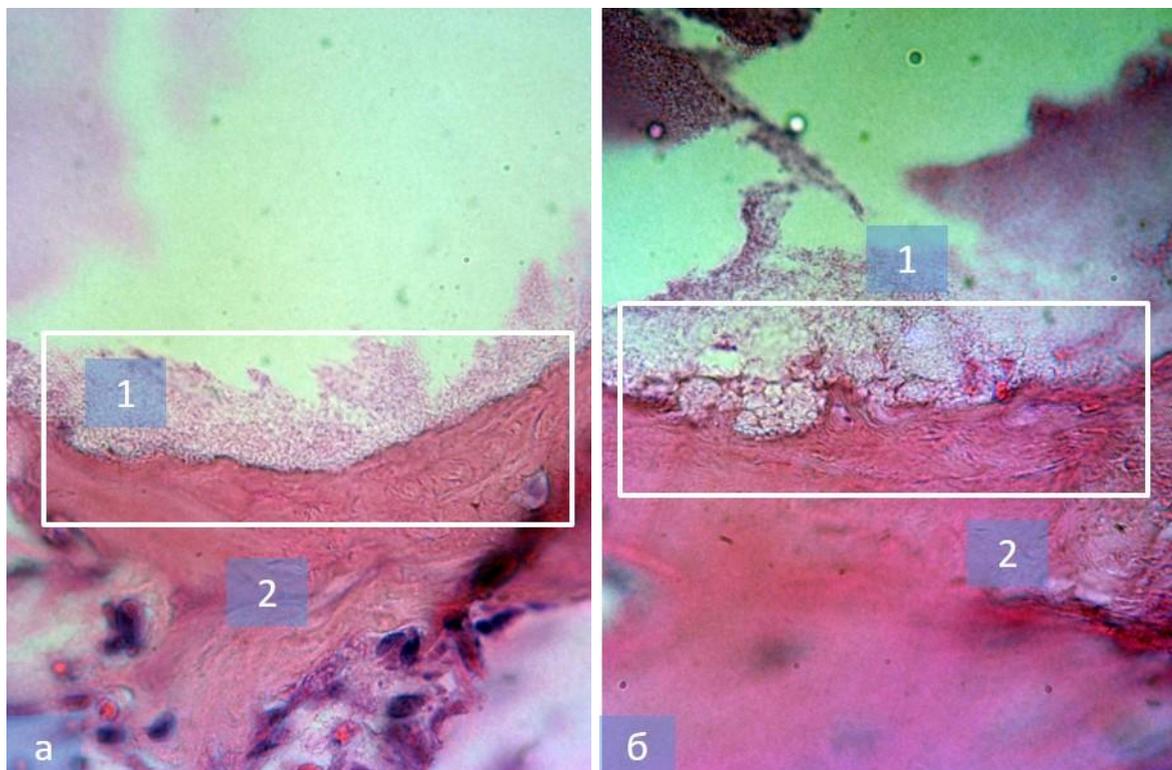


Рисунок 4.19 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-й (а) и 2-ой основных групп (б) через 180 суток после начала эксперимента. а – интимный контакт имплантированного биоматериала (1) и костных трабекул (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 100; б – резорбция костных трабекул. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об.

100

В свою очередь, в препаратах 2-ой группы имеются места, в которых, по-видимому, под действием остеоиндукции имплантированного биоматериала в сочетании с гиалуроновой кислотой, костный матрикс отдает многочисленные тонкие отростки матрикса и формирует из него выпячивания, исходящие от стенки кости. Данная перестройка характеризует, по-нашему мнению,

аппозиционный рост костной ткани (рост ткани за счет наложения новых слоев) в препаратах 2-ой группы (рисунок 4.19 – б).

Более интенсивная биорезорбция материала во 2-ой группе подтверждается микрокартинами костных лакун в состоянии резорбции и контакт остеобласта с материалом при помощи своих отростков которые врастают с материал (рисунок 4.20).

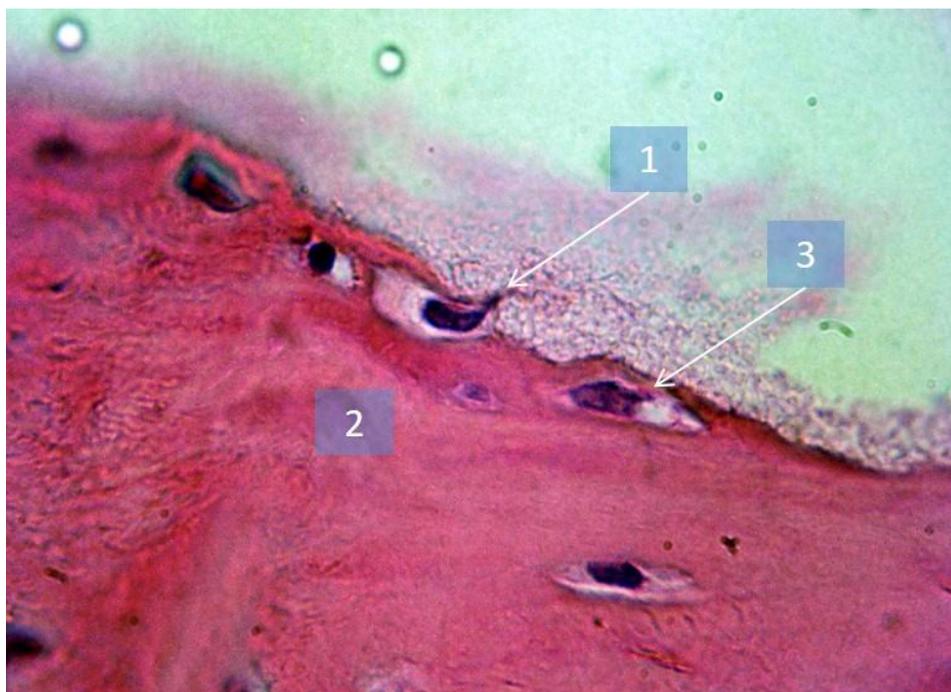


Рисунок 4.20 – Основная группа. Микропрепарат верхней челюсти овцы 2-ой основной группы через 180 суток после начала эксперимента. Внедрение остеобласта (1) в матрикс кости (2), справа – замурованный в кости остеобласт (3). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 100.

Следует отметить, что к данному сроку наблюдения в обеих группах повсеместно отмечается кортикальная пластинка верхней челюсти на стадии деминерализации с резким оголением волокнистого компонента из коллагеновых волокон. Межтрабекулярные полости частично разрушены, некоторые из них сшиваются посредством коллагеновых волокон матрикса с врастанием в полости гемопоэтической рыхлой соединительной ткани. Имеются межтрабекулярные полости с атрофией костного мозга (рисунок 4.21 – а). Все описанные изменения подтверждают хаотичный характер перестройки

костной ткани из пластинчатой в ретикулофиброзную, что объясняется механическим повреждением кости во время оперативного вмешательства при хирургической операции по подсадке исследуемого биоматериала (рисунок 4.21 – б).

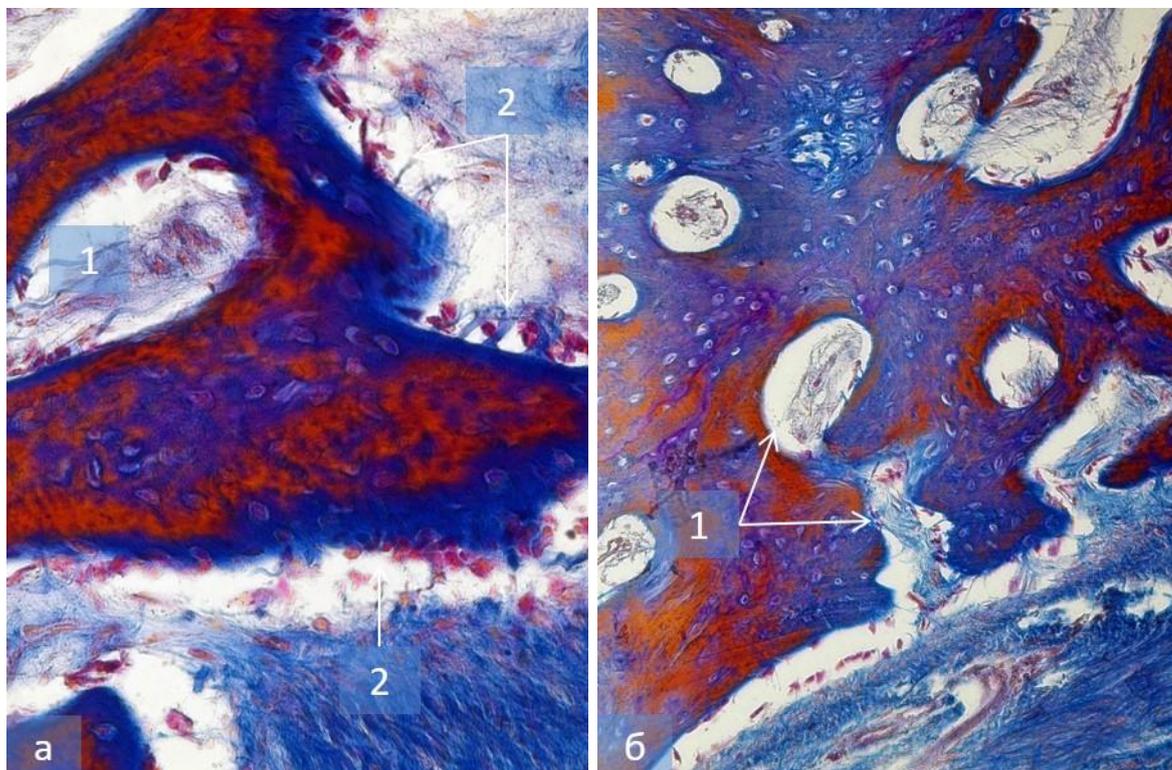


Рисунок 4.21 – Основная группа. Микропрепарат верхней челюсти овцы 1-ой (а) и 2-ой (б) основной группы через 180 суток после начала эксперимента. а – межтрабекулярные полости с атрофией костного мозга (1), сшивание посредством коллагеновых волокон матрикса с вращанием в полости гемопоэтической рыхлой соединительной ткани (2). Окраска по Маллори. Ок. 10. Об. 40; б – ремоделирование кости (1). Окраска по Маллори. Ок. 10. Об. 20

Схематическое изображение результатов морфометрических исследований в основной группе представлено на рисунке 4.22.

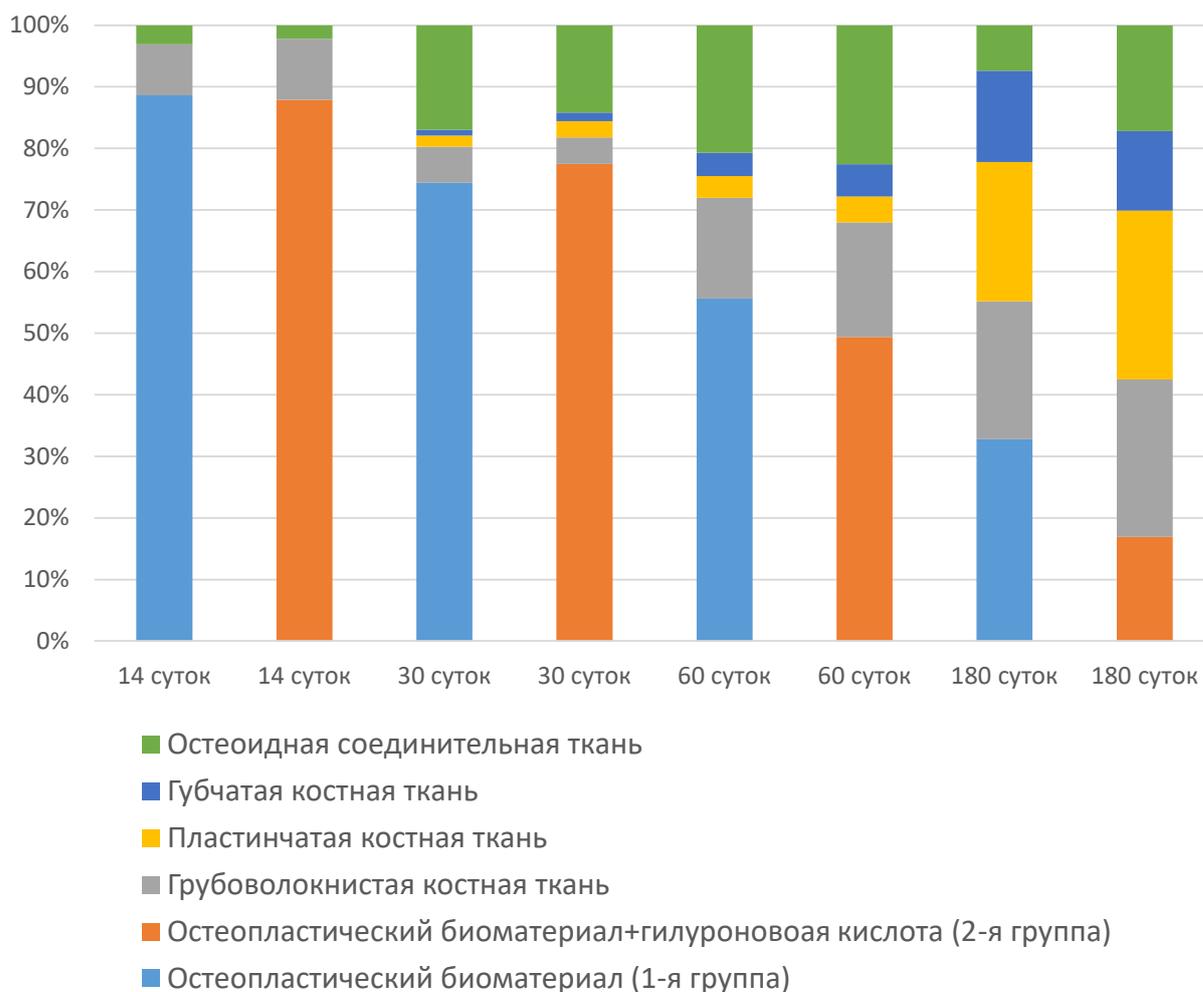


Рисунок 4.22 – Морфометрическая характеристика репаративной регенерации в экспериментальных периимплантатных дефектах верхней челюсти овец основной группы

В ходе проведения иммуногистохимического исследования установлена выраженная экспрессивность трех антигенов: Ki67⁺, виментина⁺ и CD34⁺.

Экспрессивность Ki67⁺ оказалась различной - от умеренной до интенсивной (2 и 3 балла соответственно). Иммунореактивный материал преимущественно ядерный.

В препаратах 1-ой группы животных, начиная с 30-х суток эксперимента, Ki67⁺ клетки локализовались, в основном, в зрелой соединительной ткани, вокруг скоплений гранул имплантированного биматериала (рисунок 4.23 – а).

В препаратах 2-ой группы экспрессия иммунореактивного материала Ki67⁺ оказалась выше, чем в 1-ой группе (3 балла), большинство выявленных

клеток находилось в состоянии митотического деления уже на 14-е сутки (рисунок 4.23 – б).

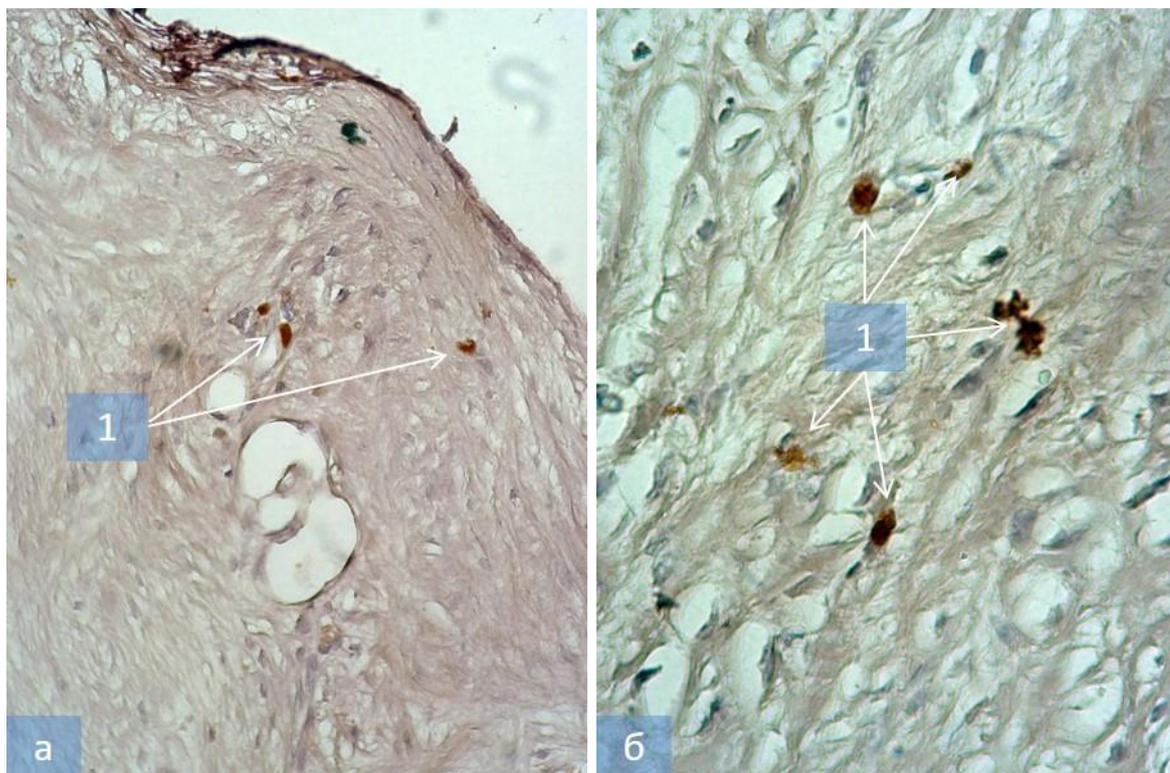


Рисунок 4.23 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-ой (а) и 2-ой (б) групп через 14 (б) и 30 (а) суток после начала эксперимента. а – $Ki67^+$ клетки в зрелой соединительной ткани. ИГХ реакция на $Ki67$. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 20; б – $Ki67^+$ клетки в стадии митотического деления. ИГХ реакция на $Ki67$. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 40

Обнаруженная экспрессия $Ki67^+$ клеток, характер их локализации и расположения, а также локация прогениторных клеток сформированы под действием остеоиндуктивного свойства имплантированного биоматериала в сочетании с гиалуроновой кислотой. Обнаружение данных клеток в состоянии митотического деления по-нашему мнению, является, предтечей формирования и активизации роста костного эктомезенхимального компонента всего исследуемого фрагмента костной ткани.

Экспрессивность виментина⁺ в обеих анализируемых группах оказалась наиболее интенсивной (2 балла) к 60-м суткам наблюдения. Тип экспрессии – комковатый, расположение - преимущественно в цитоплазме клеток в виде хаотично локализованных крупных комочков и конгломератов.

Выявленные в препаратах виментин⁺ клетки - отростчатой формы, с одним веретеновидным цитоплазматическим отростком, имеют крупное немного спереди локализовано ядро (без патологии). Клетки локализованны в основном, вокруг фокусов имплантированного биоматериала, они обнаруживаются повсеместно (рисунок 4.24).

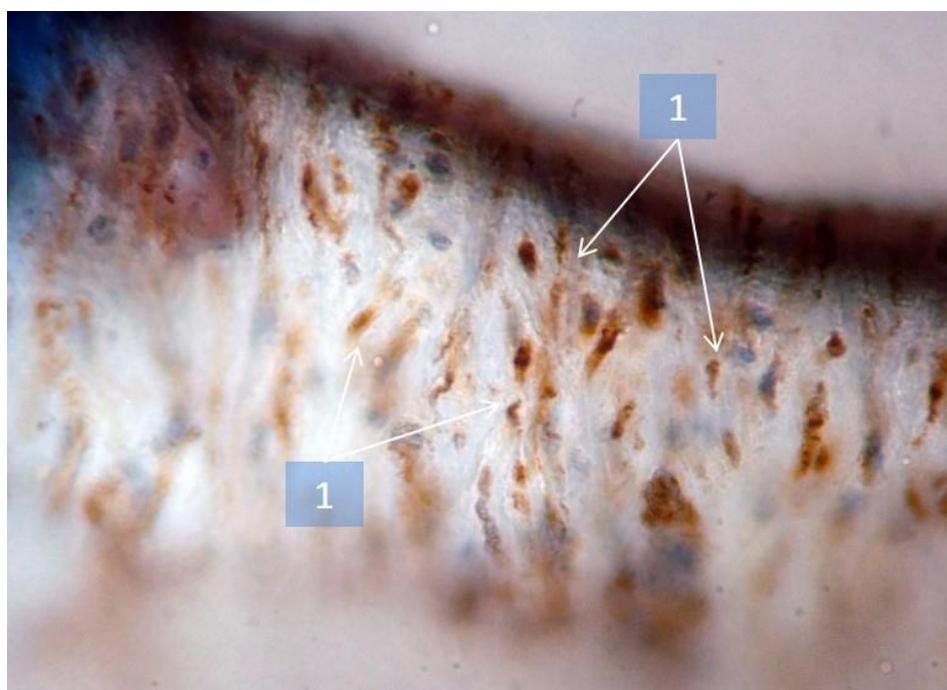


Рисунок 4.24 – Основная группа. Микропрепарат верхней челюсти овцы 2-ой основной группы через 60 суток после начала эксперимента. Виментин⁺ клетки вокруг имплантированного биоматериала. ИГХ реакция на виментин. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 40

Обнауженное массовое присутствие значительного числа клеток фибробластического дифферона с экспрессией белка – виментина в препаратах животных 2-ой группы, является по-нашему мнению, свидетельством увеличения фракции белков промежуточных филаментов фибробластов перед

их дифференцировкой в остеобластической дифферон (под остеоиндуктивным влиянием имплантированного биоматериала и гиалуроновой кислоты).

Кроме того, и в 1-ой и во 2-ой группах виментин⁺ обнаруживался вокруг кровеносных сосудов и вблизи от клеточного слоя оболочки сосудистой стенки (рисунок 4.25).

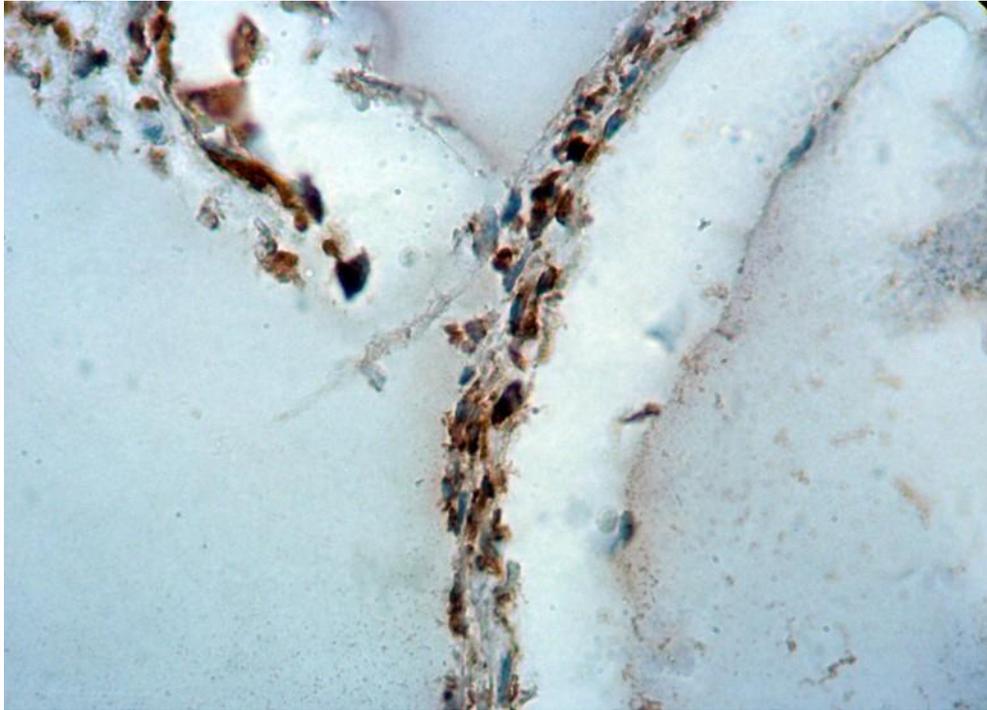


Рисунок 4.25 – Основная группа. Микропрепарат верхней челюсти овцы 1-ой основной группы через 60 суток после начала эксперимента. Виментин⁺ клетки (1) в сосудистой стенке (2) на границе с гранулами материала (3). ИГХ реакция на виментин. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 40

Экспрессивность CD34⁺ оказалась наиболее интенсивная (3 балла) во 2-ой группе наблюдения, начиная с 14-и суток. Иммунореактивный материал – преимущественно мембранный или нормальный, равномерно распределен по всей клеточной мембране.

К 30-м суткам наблюдения CD34⁺ клетки визуализируются повсеместно в обеих группах между волокнами соединительной ткани, окружающей имплантированный биоматериал (рисунок 4.26 – а, б). К 60-м суткам

наблюдения клетки входят уже в состав стенки – интимы формирующихся кровеносных сосудов микроциркуляторного русла.

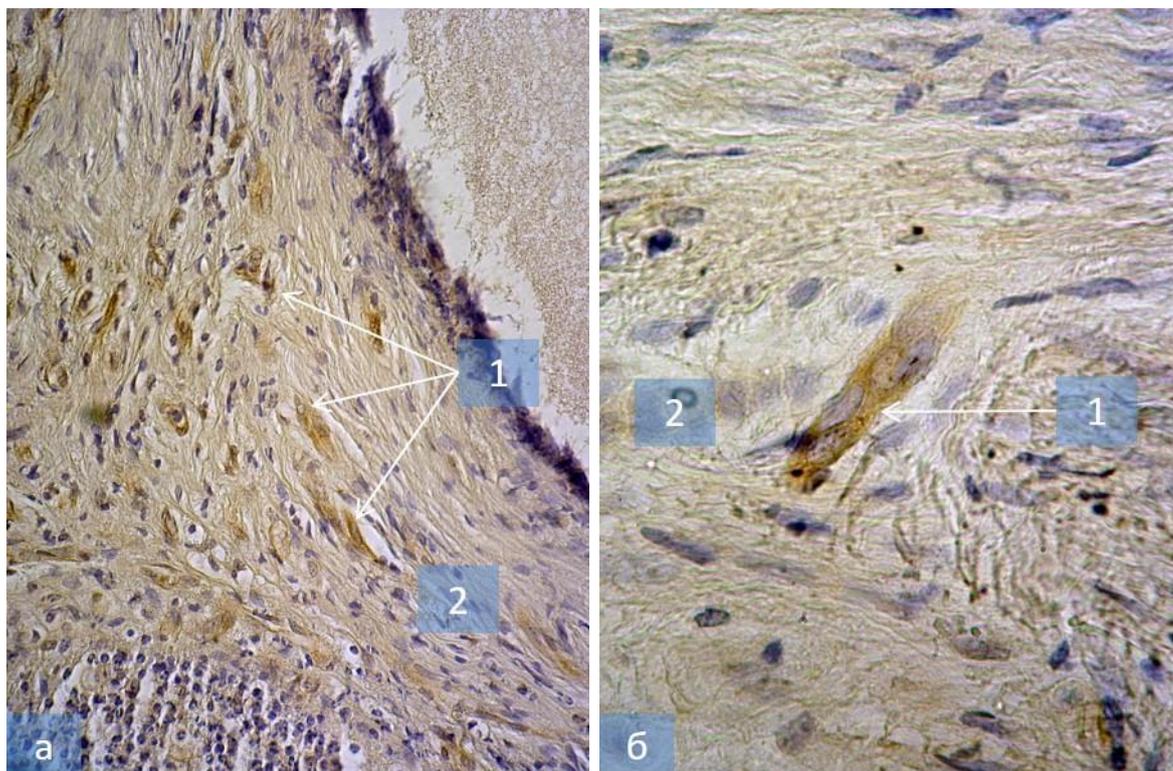


Рисунок 4.26 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-ой (а) и 2-ой (б) групп через 30 (а) и 60 (а) суток после начала эксперимента. а – $CD34^+$ клетки в сосудистой стенке. ИГХ реакция на $CD34$. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 40; б – $CD34^+$ клетки в сосудистой стенке. ИГХ реакция на $CD34$. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 100

Следовательно, наличие $CD34^+$ клеток в стенках сосудов на ранних стадиях репаративного процесса в замещаемой остеопластическим материалом экспериментально созданной полости челюстной кости овцы является явным признаком активации ангиогенеза. Кроме этого, обнаруженная экспрессивность данных антител свидетельствует о пролиферации стволовых эндотелиальных клеток в ходе аутогенного нео- и ангиогенеза и может служить доказательством активизации остеогенеза под влиянием компонентов использованного биоматериала при периимплантите.

Резюме

Таким образом, после окончания формирования модели периимплантита, где в первой группе животных для заполнения периимплантатного дефекта кортикальной кости использовали резорбируемую двухфазную смесь из 60% гидроксиапатита кальция (ГАП) и 40% β -трикальцийфосфата (ТКФ), с активатором склейки гранул Bio Linker, а во 2-й основной группе – тот же состав, но с добавлением гиалуроновой кислоты установлено следующее.

При имплантации исследуемого материала в области верхнечелюстной пазухи воспалительной реакции не наблюдается ни в одной группе, что является признаком биосовместимости всех используемых компонентов биоматериала. Отмечается формирование капсулы с клетками мезенхимального происхождения в непосредственном контакте с гранулами имплантированного остеопластического материала, что является первопричиной его резорбции и формированию на его основе трабекулярного рисунка новообразованной костной ткани, что является признаком стимуляции остеорепаративного процесса компонентами биоимплантата. Иммуногистохимические исследования показали, что в исследуемых образцах отмечается активный аутогенный неоваскулогенез, наиболее выраженный во 2-ой группе (где дополнительно вводили гиалуроновую кислоту), что обеспечивалось стволовыми клетками гемопоэтического происхождения, концентрацией виментина (стрессорного белка), повышенную выработку которого можно отнести к приспособительной реакции организма по повышению устойчивости окружающих клеток к патофизиологическим изменениям, происходящим вокруг имплантированного биоматериала.

4.3. Результаты исследования гистологических и иммуногистохимических особенностей регенерации костной ткани нижней челюсти в экспериментальных периимплантатных дефектах, замещаемых синтетическим биоматериалом по безмембранной технологии

4.3.1. Результаты исследования в контрольной группе (нижняя челюсть)

В соответствии с поставленными задачами настоящего исследования, в контрольной группе наблюдали заживление периимплантатных дефектов под кровяным сгустком в сроки 14, 30, 60 и 180 суток после моделирования экспериментального периимплантита.

Через 14 и 30 суток при микроскопическом исследовании костных блоков, выделенных из нижней челюсти овцы контрольной группы установлено, что репаративные процессы тормозятся из-за воспалительных явлений, низкой скорости перестройки костного регенерата и кровоизлияний (рисунок 4.27 – а, б), по-видимому нарушения образовались во время забора материала, так как это свежие процессы.

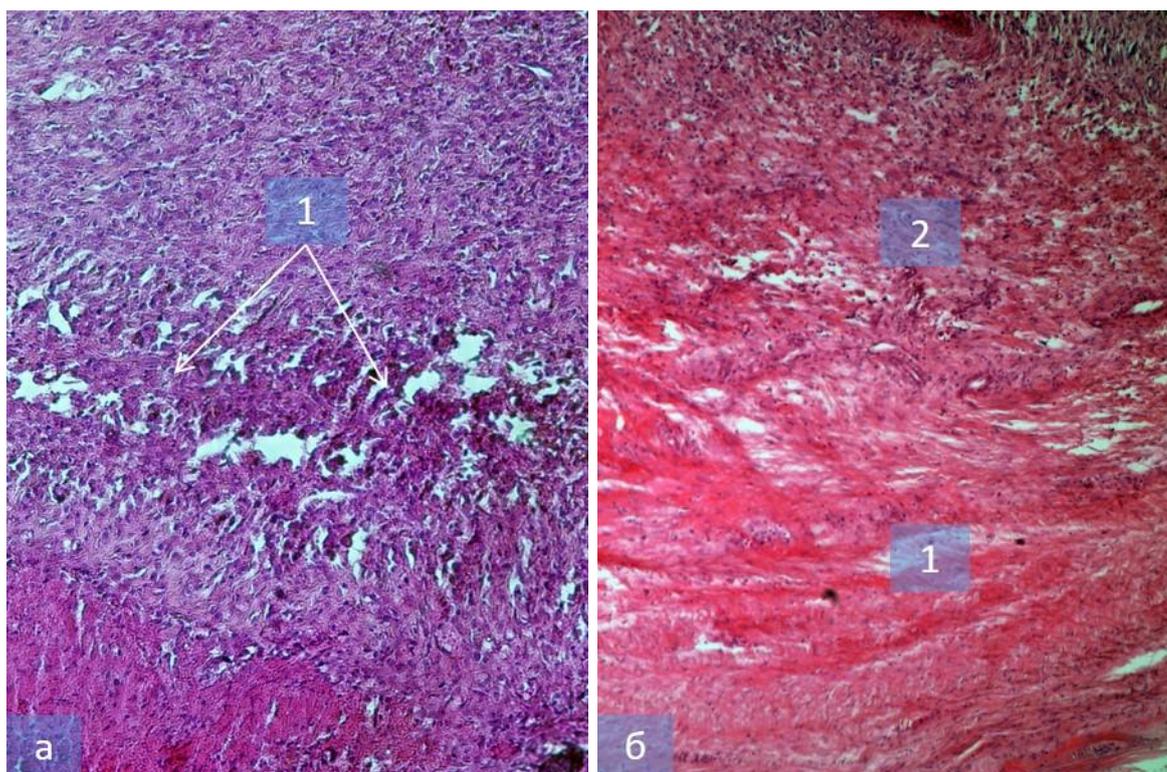


Рисунок 4.27 – Контрольная группа. Микропрепараты нижней челюсти овцы через 14 (а) и 30 (б) суток после начала эксперимента. а – обширные кровоизлияния (1) в губчатой кости нижней челюсти. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20; б – набухание коллагеновых волокон (1) на фоне обширного кровоизлияния (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок.10.Об.20

К 60-м суткам в периосте нижней челюсти хорошо видны многочисленные остеоны, которые имеют неправильную форму и различные размеры (рисунок 4.28 – а). К данному сроку в исследуемых участках кости нижней челюсти отмечается врастание гемопозитической рыхлой соединительной ткани в остеоны, которая полностью заполняет пространства и содержит группы молодых клеток остеобластического дифферона и кровеносные сосуды формирующегося микроциркуляторного русла. Однако в некоторых сосудах отмечаются процессы застоя плазмы и небольшие диапедезные кровоизлияния (рисунок 4.28–б).

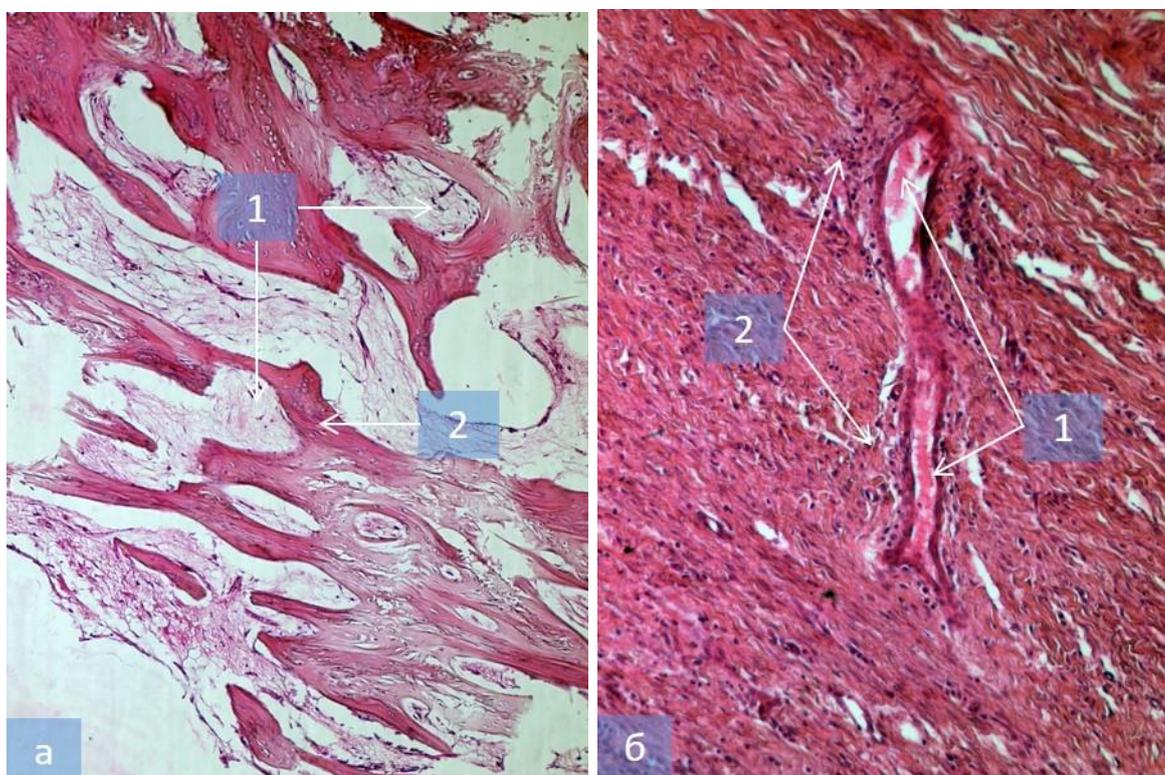


Рисунок 4.28 – Контрольная группа. Микропрепараты нижней челюсти овцы через 30 (а) и 60 (б) суток после начала эксперимента. а – врастание гемопозитической рыхлой соединительной ткани в остеоны (1) на границе с собственной костью (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20; б – застой плазмы и небольшие диапедезные кровоизлияния (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20

Следует отметить, что помимо физиологических процессов и репаративной регенерации, в исследуемых препаратах контрольной группы визуализируются крупные одиночные очаги, в которых видна костная ткань, которая повреждена, по-видимому, во время оперативного вмешательства. Рядом с очагами имеются костные трабекулы в виде фрагментов на стадии ремоделирования. Фрагменты расположены как поодиночке, так и связаны с общей костной массой. Между костной массой локализована гемопозитическая рыхлая соединительная ткань в которой выявляется патогистологический процесс – желатинозная трансформация (рисунок 4.29 – б).

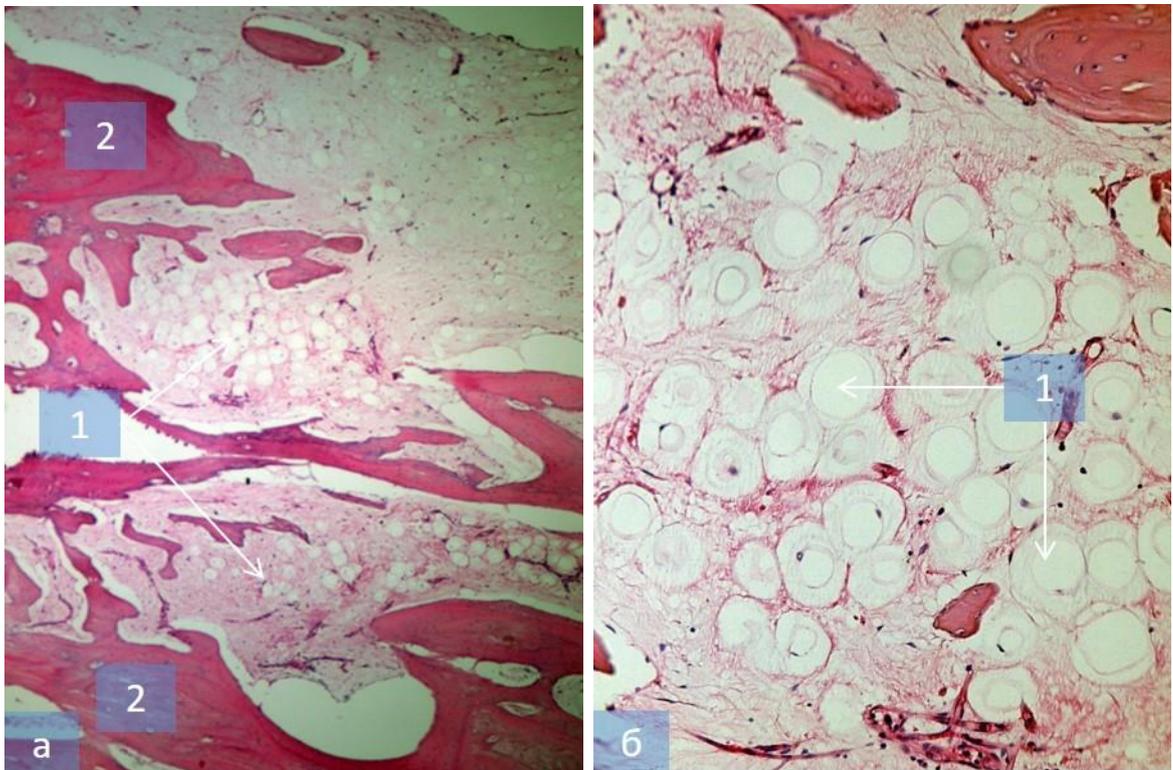


Рисунок 4.29 – Контрольная группа. Микропрепараты нижней челюсти овцы через 60 (а) и 180 (б) суток после начала эксперимента. а – желатинозная трансформация гемопозитической соединительной ткани (1) на границе с нативной костью (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 4; б – адипоциты различных размеров (1) в очаге желатинозной трансформации гемопозитической соединительной ткани. Окраска гематоксилином и эозином.

Ок. 10. Об. 20

Данный процесс просматривается, как накопление большого количества белых адипоцитов, которые подвергаются атрофии вследствие их погружения в желатинозную субстанцию. Адипоциты имеют разные размеры, на всех препаратах отмечается их гибель (рисунок 4.29 – б).

К 180-м суткам наблюдения рыхлая соединительная ткань в центре и по периферии периимплантатного дефекта отечная, волокна дезорганизованы, просматривается вакуолизация аморфного вещества. Имеются диапедезные кровоизлияния. Кровеносные сосуды в данной зоне частично разрушены и с застойными явлениями плазмы в просвете (рисунок 4.30 – а).

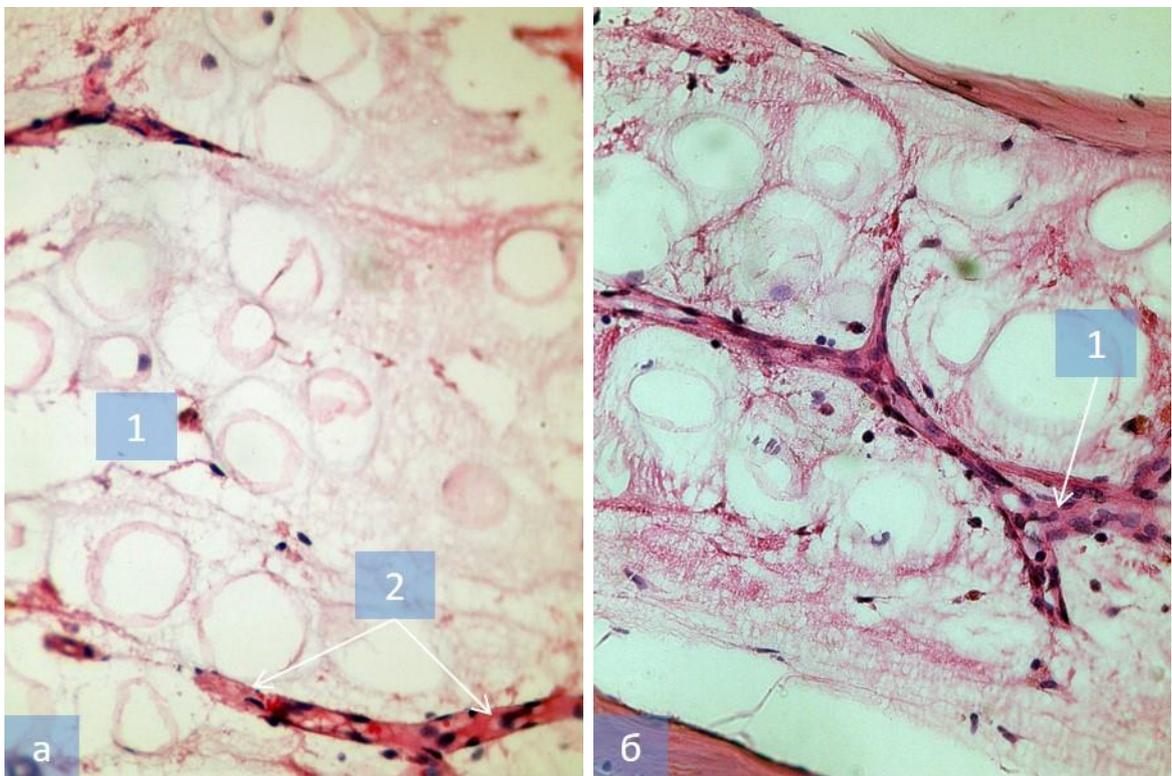


Рисунок 4.30 – Контрольная группа. Микропрепараты нижней челюсти овцы через 60 (а) и 180 (б) суток после начала эксперимента. а – желатинозная трансформация гемопоэтической соединительной ткани (в центре), разрушенные кровеносные сосуды с застойными явлениями плазмы в просвете (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 40; б – желатинозная трансформация гемопоэтической соединительной ткани с формированием сосудов путем почкования (1). Окраска гематоксилином и эозином. Ок.10.Об.40

Единичные сосуды регенерируют путем почкования. По нашему мнению, такое изменение в гемопозитической рыхлой соединительной ткани произошло вследствие гипоксии тканей из-за отека, нарушения васкуляризации и истощения в целом костного мозга и его декомпенсация (рисунок 4.30 – б).

Схематическое изображение результатов морфометрических исследований в контрольной группе представлено на рисунке 4.31.

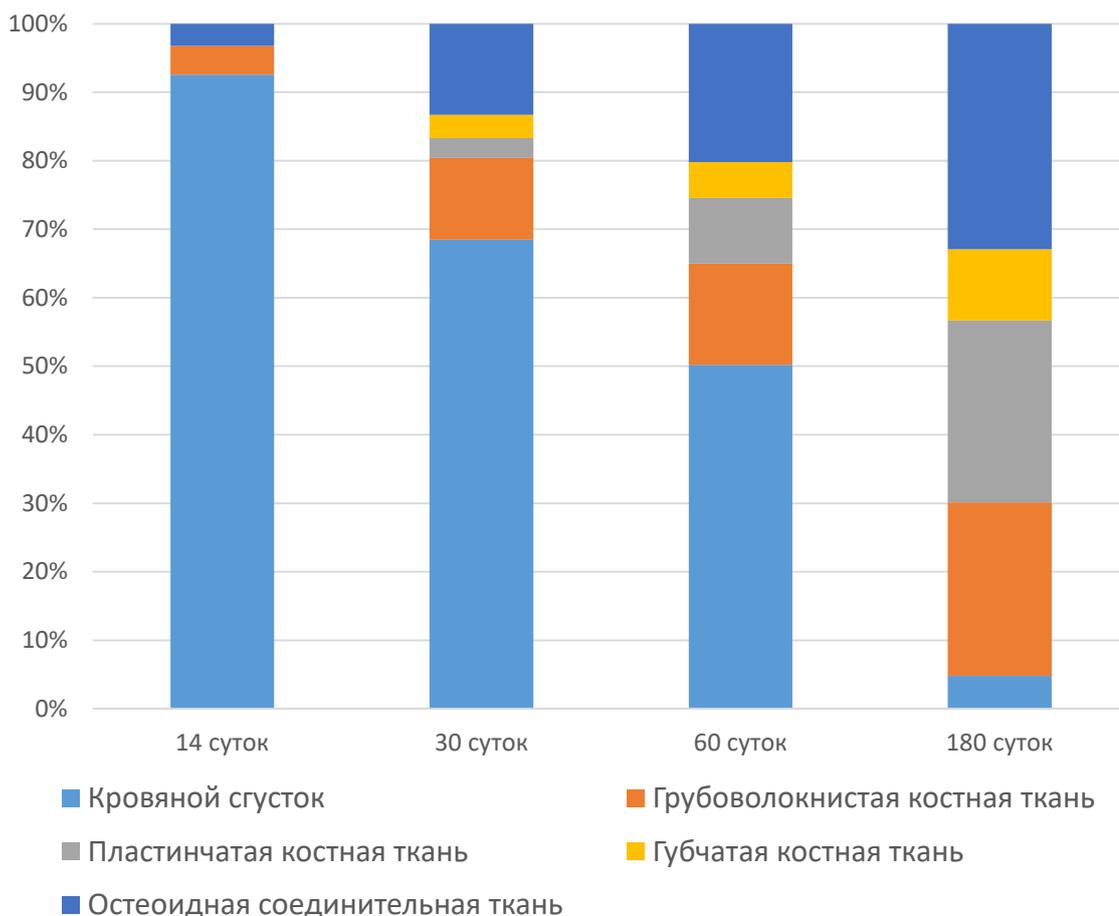


Рисунок 4.31 – Морфометрическая характеристика репаративной регенерации в экспериментальных периимплантатных дефектах нижней челюсти овец контрольной группы

При иммуногистохимическом исследовании в препаратах контрольной группы в сроки 60 и 180 суток выявлена экспрессия Ki67⁺ (пролиферирующие клетки на стадии интерфазы) и NSE⁺ (нейрон специфическая эналаза). Интенсивность экспрессии иммунореактивного материала Ki67⁺ - слабая (1 балл), интенсивность экспрессии иммунореактивного материала NSE⁺ - слабая

(1 балл). Иммунореактивный материал преимущественно ядерный. Ki67⁺ клетки обнаруживались в виде единичных элементов между коллагеновыми волокнами к сроку наблюдения 60 и 180 суток (рисунок 4.32 – а). Иммунореактивный материал NSE⁺ неравномерно распределялся по клеточной мембране между волокнами соединительной ткани, незначительно проявляясь лишь к 180-м суткам наблюдения (рисунок 4.32 – б).

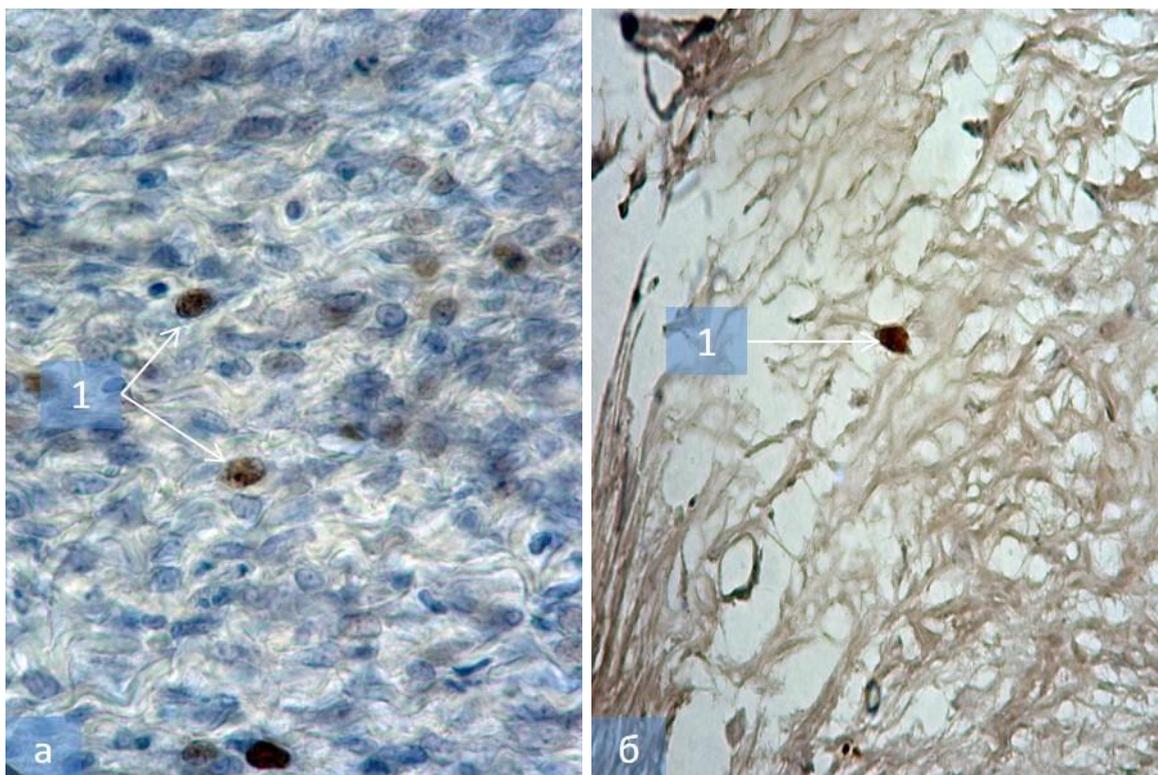


Рисунок 4.32 – Контрольная группа. Микропрепараты нижней челюсти овцы через 60 (а) и 180 (б) суток после начала эксперимента. а – Ki67⁺ клетки между новообразованных коллагеновых волокон. ИГХ реакция на Ki67⁺. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 40; б – единичные NSE⁺ клетки в строме соединительной ткани (1). ИГХ реакция на NSE⁺. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 40

Резюме

Таким образом, при исследовании микропрепаратов нижней челюсти овцы в различные сроки после формирования модели периимплантата в

контрольной группе (при ведении раны под кровяным сгустком) отмечается неравномерно протекающий репаративный остеогенез, который на разных стадиях ремоделирования кости претерпевает желатинозную трансформацию и диapedезные кровоизлияния вследствие гипоксии тканей из-за отека, нарушения васкуляризации, истощения стромы костного мозга и его декомпенсации.

При иммуногистохимическом исследовании препаратов контрольной группы установлена слабая экспрессия маркеров Ki67⁺ и NSE⁺ с расположением иммунореактивного материала между новообразованными коллагеновыми волокнами только к 60-180-м суткам эксперимента, что свидетельствует о низком уровне пролиферации эндотелиальных клеток и замедленной активации процессов ангио- и неогенеза.

4.3.2. Результаты исследования в основной группе (нижняя челюсть)

В соответствии с дизайном исследования, в 1-ой основной группе животных после окончания формирования модели периимплантата для заполнения периимплантатного дефекта кортикальной кости нижней челюсти использовали резорбируемую двухфазную смесь из 60% гидроксиапатита кальция (ГАП) и 40% β-трикальцийфосфата (ТКФ), с активатором склейки гранул Bio Linker, во 2-й основной группе – тот же состав, но с добавлением гиалуроновой кислоты.

При микроскопическом исследовании препаратов нижней челюсти в области кортикальной пластинки и губчатого компонента кости, а также в периосте на 14-е сутки после начала эксперимента визуализируются многочисленные округло-овальные или разной формы и разного диаметра фокусы имплантированного остеопластического материала (рисунок 4.33 – а). Имплантированный биоматериал в нижнечелюстной кости располагается в основном в интимной взаимосвязи с костной тканью, которая имеет

трабекулярное строение, просматриваются единичные зоны его контакта с гемопоэтической рыхлой соединительной тканью (рисунок 4.33 – б).

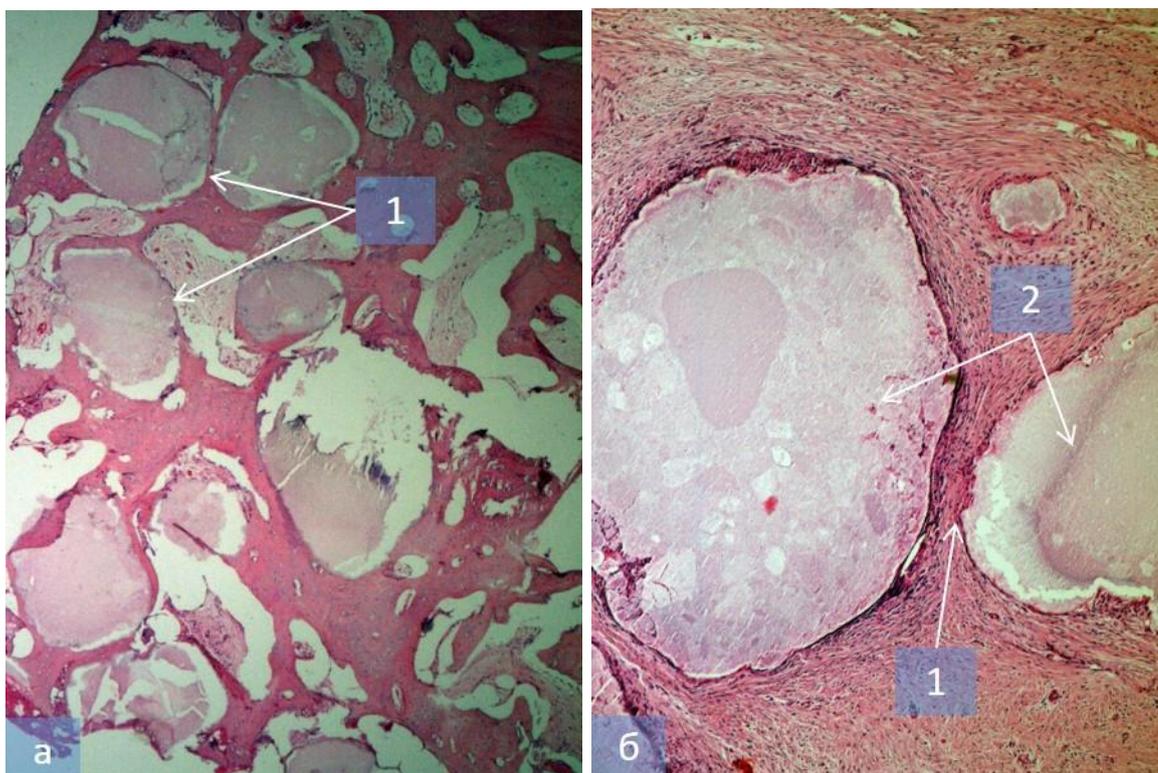


Рисунок 4.33 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-й (а) и 2-ой основных групп (б) через 14 суток после начала эксперимента. а – фокусы имплантированного материала в нижнечелюстной кости (1). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 4; б – врастание соединительной ткани (1) между фокусов имплантированного материала (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 40

В периосте фокусы имплантированного биоматериала окружены зрелой соединительной тканью (рисунок 4.34 – а), располагающейся в виде напластовываний в интимной близости с нативной губчатой костью (рисунок 4.34 – б). К 30-м суткам в месте контакта имплантированного биоматериала с костной тканью отмечается врастание в матрикс трабекулы, что приводит к формированию эрозивных лакун, которые им заполнены.

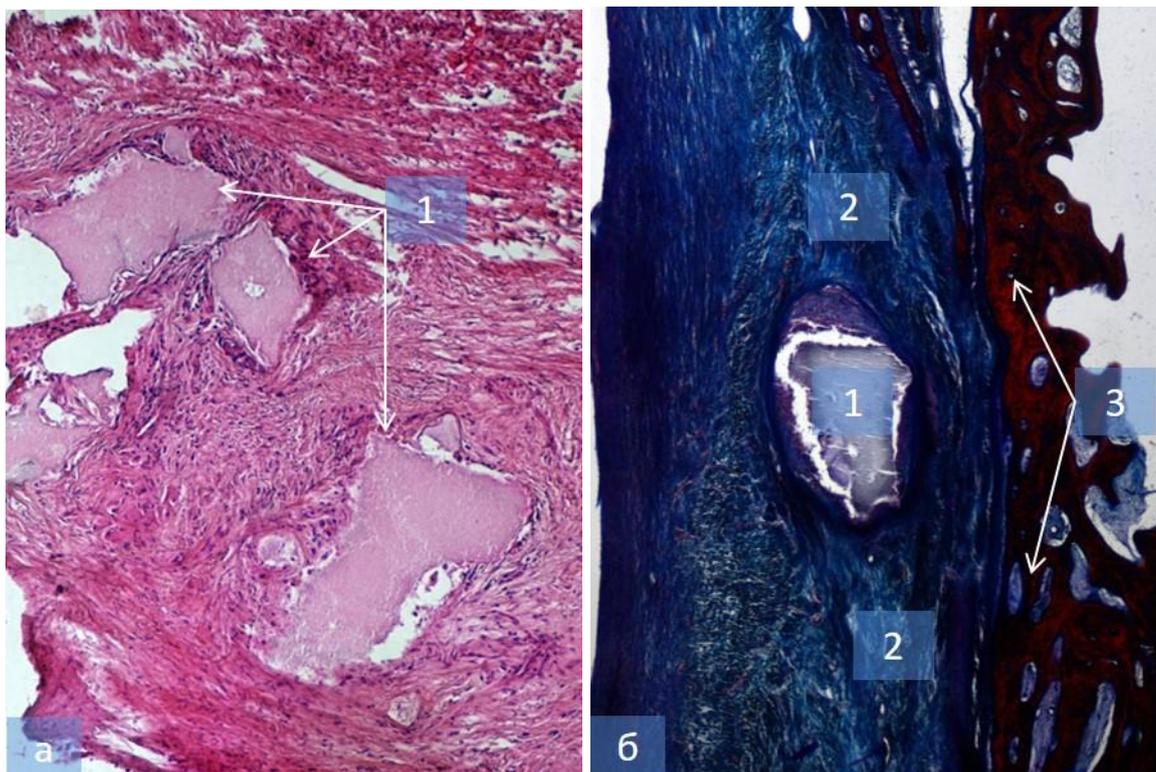


Рисунок 4.34 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-й (а) и 2-ой основных групп (б) через 14 суток после начала эксперимента. а – фокусы имплантированного материала в периосте нижнечелюстной кости (1).

Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 10; б – фокусы имплантированного биоматериала (1), окруженные зрелой соединительной тканью (2), примыкающей к нативной губчатой кости челюсти (3). Окраска по Маллори. Ок. 10. Об. 20

Костный матрикс отщепляется от трабекул и проникает в пенисто-пористую структуру имплантата (рисунок 4.35 – а). Кроме того, очаги кровоизлияний с фибрином и некротизированные фрагменты трабекул, образованные во время оперативного вмешательства, также постепенно разрушаются путем проникновения биоматериала в их вещество (рисунок 4.35 – б).

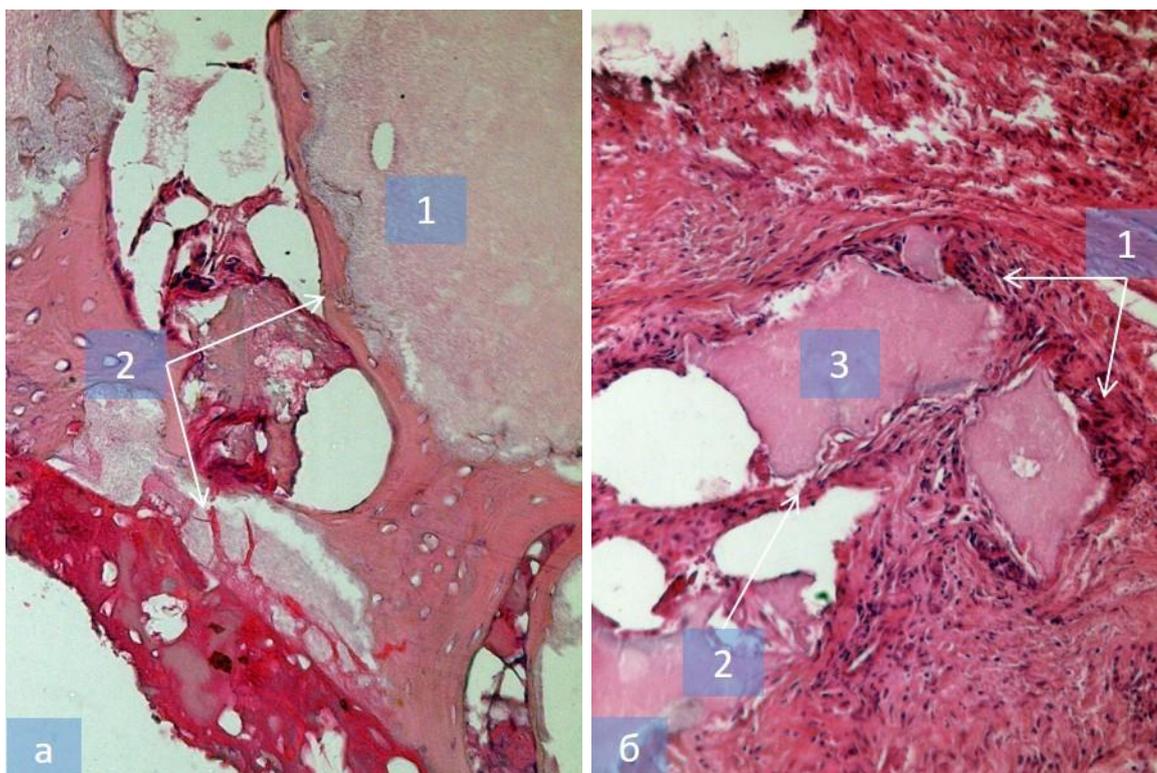


Рисунок 4.35 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-й (а) и 2-ой основных групп (б) через 30 суток после начала эксперимента. а – интимный контакт имплантированного биоматериала (1) с костными трабекулами (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 10; б – очаги кровоизлияний с фибрином (1) и некротизированные фрагменты трабекул (2) вокруг фрагментов биоматериала (3). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20

В этот же срок наблюдения в месте проникновения костного матрикса в структуру имплантированного биоматериала, отмечается формирование сетевидных структур, а также визуализируются остециты, которые отторгаются от кости (рисунок 4.36 – а). При этом клетки и их ядра без патологии. Иногда в толще имплантированного биоматериала просматриваются кусочки костной ткани, которые по-видимому, во время оперативного вмешательства откололись от кости (рисунок 4.36 – б). В тех местах, где имплантированный материал контактирует с гемопоэтической рыхлой

соединительной тканью отмечается ее частичное вращание в имплантат совместно с клеточными элементами фибробластического дифферона.

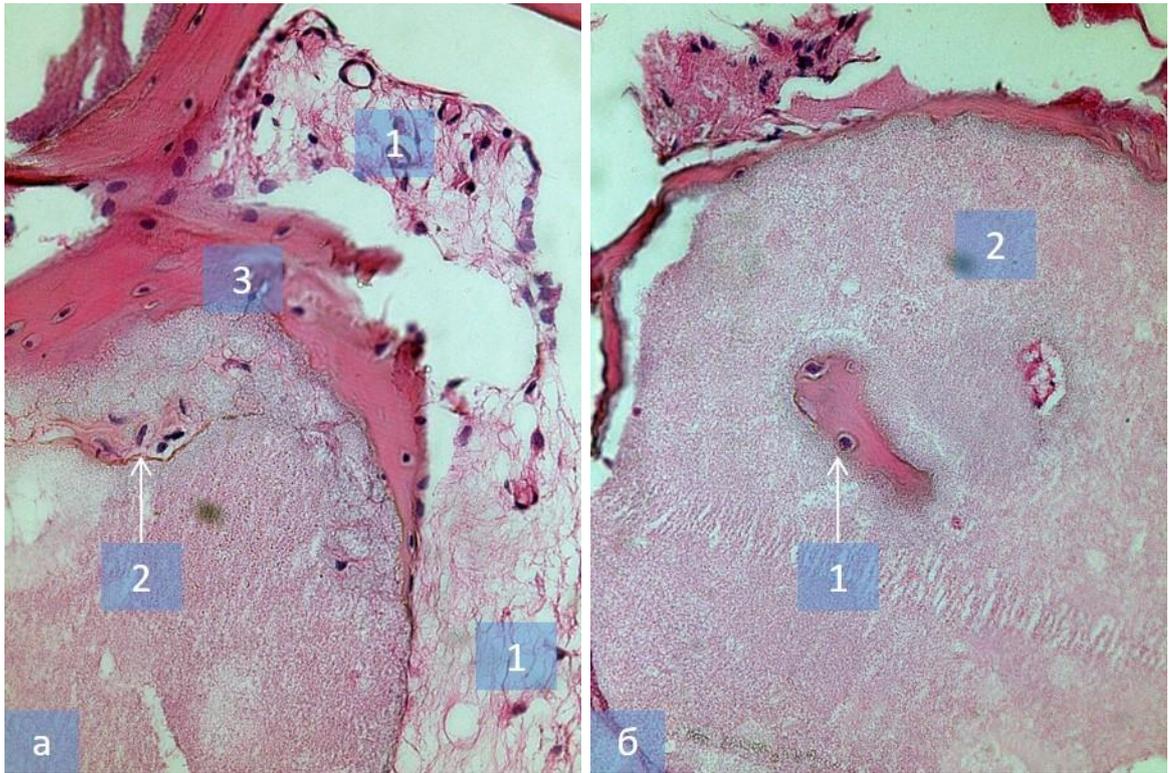


Рисунок 4.36 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-й (а) и 2-ой основных групп (б) через 30 суток после начала эксперимента. а – формирование сетевидных структур (1), отторгающиеся от кости остеоциты (2), проникновение костных структур в толщу имплантированного биоматериала (3). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 40; б – фрагмент костной ткани (1), замурованный в имплантированном биоматериале (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 40

Для части препаратов 2-ой группы характерным явилось то, что в этот же срок наблюдения остальная часть соединительной ткани уплотняется за счет разрастания коллагеновых волокон, что приводит к ее частичному фиброзу и она принимает вид неоформленной плотной соединительной ткани. В тех местах, где во время оперативного вмешательства произошло образование сгустка крови с фибрином, соединительная ткань обрастает, врастает в сгусток

подвергаясь склеротизации и просматривается в виде гомогенной ткани (рисунок 4.37).

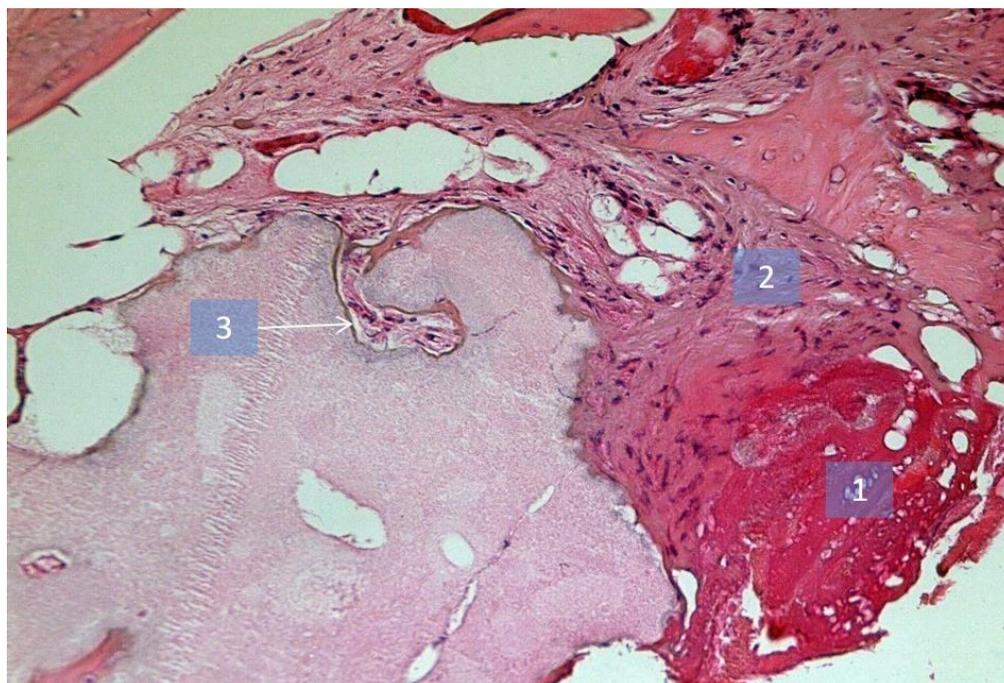


Рисунок 4.37 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 2-ой основной группы через 30 суток после начала эксперимента. Некроз (1), склероз (2) и врастание соединительной ткани в имплантат (3). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20

К 60-м суткам наблюдения установлено, что костная ткань кортикальной пластинки и губчатого компонента представлена 2-мя видами костной ткани – пластинчатой и ретикулофиброзной. Обе ткани расположены вокруг и между фокусами имплантированного биоматериала. Пластинчатая костная ткань находится в состоянии ремоделирования, так как во время имплантации подверглась разрушению, поэтому визуализируется в виде анастомозирующих арочных трабекул, которые частично по периферии или в центре состоят из ретикулофиброзной костной ткани или просматриваются отдельные фрагменты трабекул (рисунок 4.38 – а). Формирование ретикулофиброзной костной ткани в пластинчатой происходит путем аппозиции из тканей периоста. В некоторых случаях визуализируется формирование структур, имеющих форму костной балки из соединительной ткани периоста (рисунок 4.38 – б).

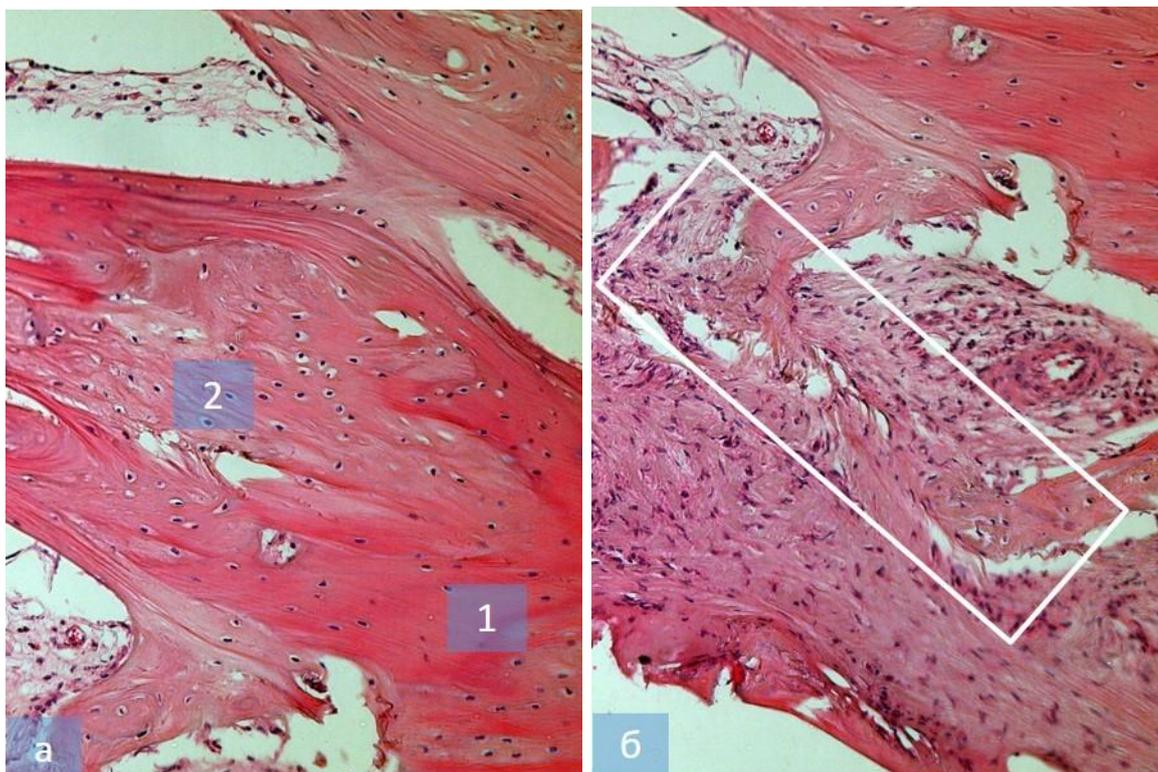


Рисунок 4.38 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-й (а) и 2-ой основных групп (б) через 60 суток после начала эксперимента. а – костная трабекула с ремоделированием пластинчатой (1) костной ткани в ретикулофиброзную (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20; б – формирование трабекулы из соединительной ткани периоста (в центре).

Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20

В этот же срок наблюдения регенерат ретикулофиброзной костной ткани располагается вокруг имплантированного биоматериала в виде неправильных структур, формирующих костные балки по типу ретикулума –перекладины первичной губчатой кости (рисунок 4.39 – а). Сами балки сильно отличаются по толщине и длине. Местами ретикулофиброзная костная ткань построена из костной массы. Повсеместно в регенерате формируются межтрабекулярные полости, некоторые из них широкие, неправильной формы. Между некоторыми трабекулами отмечается активная пролиферация остеобластов и синтез межклеточного вещества, что приводит к сшиванию трабекул между собой (рисунок 4.39 – б).

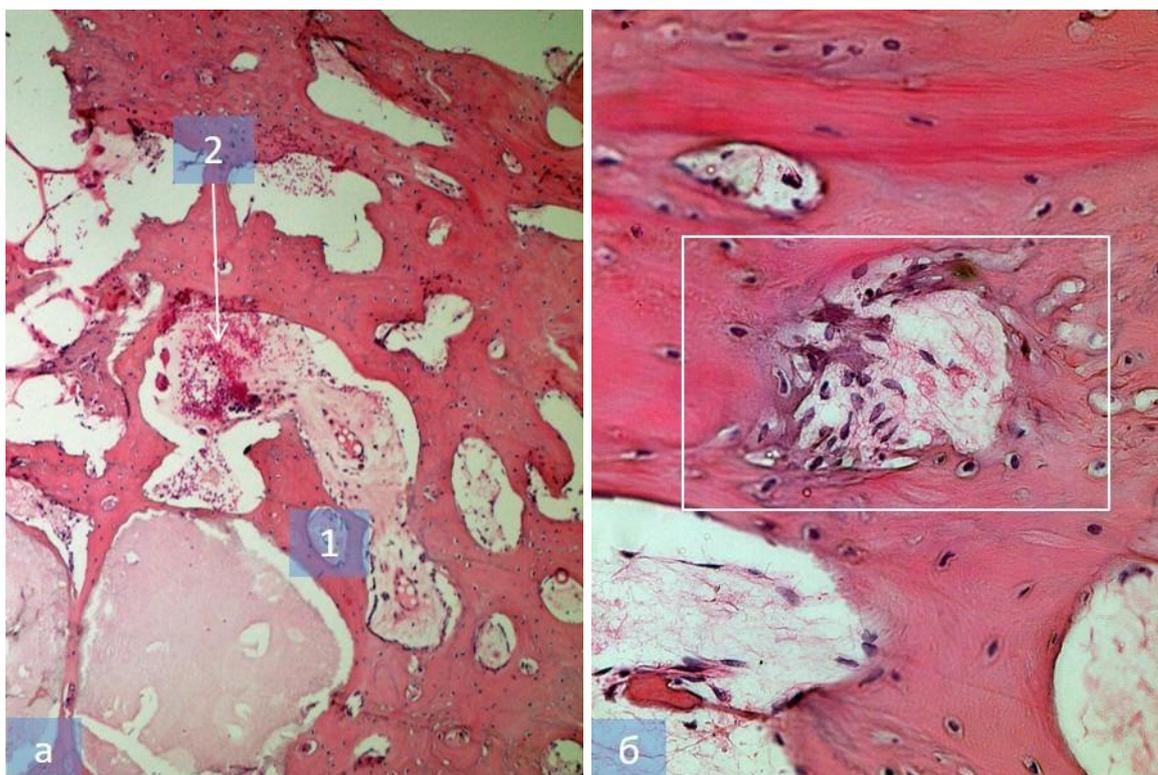


Рисунок 4.39 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-й (а) и 2-ой основных групп (б) через 60 суток после начала эксперимента. а – балочное строение регенерата ретикулофиброзной костной ткани (1) с проращением гемопоэтической соединительной ткани (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 10; б – ремоделирование костной ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 100

Повсеместно в гемопоэтической ткани межтрабекулярных полостей отмечается аутогенный неоваскулогенез и накопление остеобластами цероида, который характерен для мезенхимальных клеток – макрофагов, которые фагоцитируют липиды которые образуются при минерализации костной ткани (рисунок 4.40 – а). Отмечается врастание между фрагментами костных трабекул гемопоэтической рыхлой соединительной ткани, коллагенизация ее волокнистого компонента, пролиферация клеток фибробластического дифферона, накопление клеток, содержащих цероид, что приводит к сшиванию даже больших фрагментов трабекул кости (рисунок 4.40 – б).

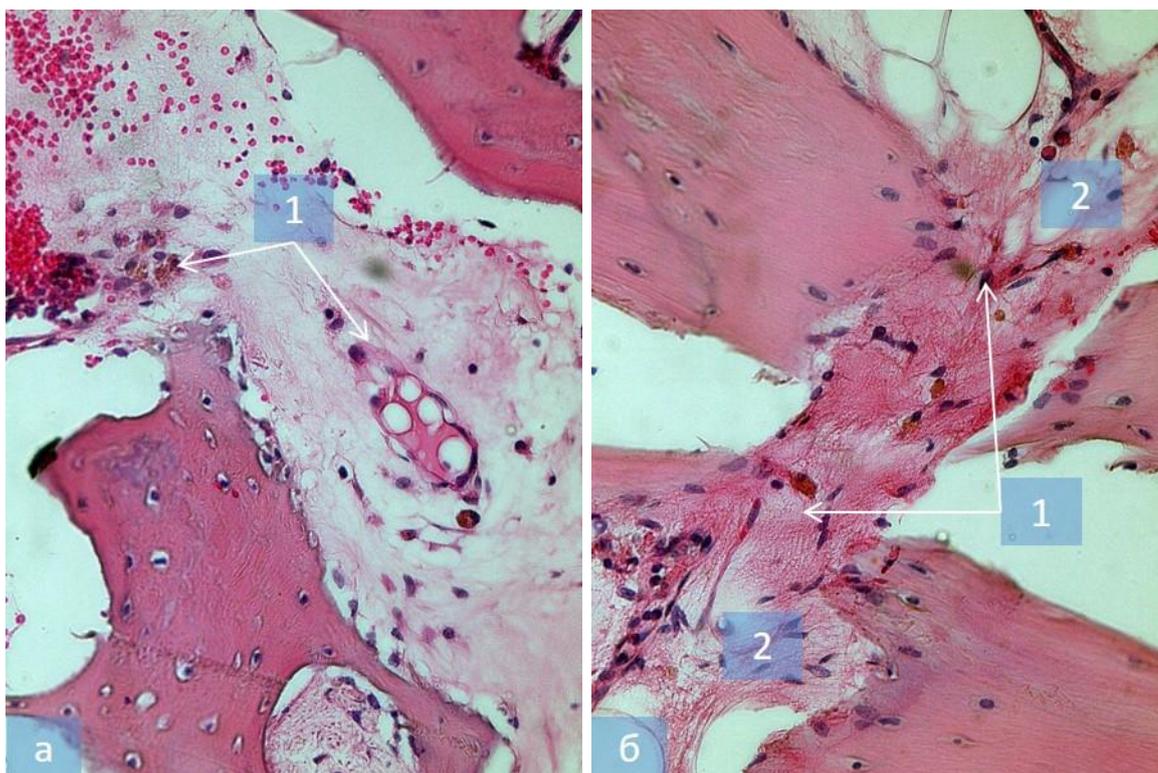


Рисунок 4.40 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-й (а) и 2-ой основных групп (б) через 60 суток после начала эксперимента. а – Цероид в мезенхимальных клетках (1). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 100; б – сшивание трабекул (1) посредством молодой соединительной ткани с откладыванием цероида (2) в клетках. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 100

К 180-м суткам эксперимента регистрируются единичные участки, в которых наблюдаются процессы ремоделирования ретикулофиброзной костной ткани в пластинчатую. Отмечается формирование первичных остеонов, вокруг которых формируются цементирующие линии с аморфными отложениями кристаллов гидроксиапатита кальция, что присуще минерализации новообразованного регенерата (рисунок 4.41). Следует отметить, что в препаратах 1-ой основной группы довольно часто встречались фрагменты нерезорбированного биоматериала даже к 180-м суткам эксперимента.

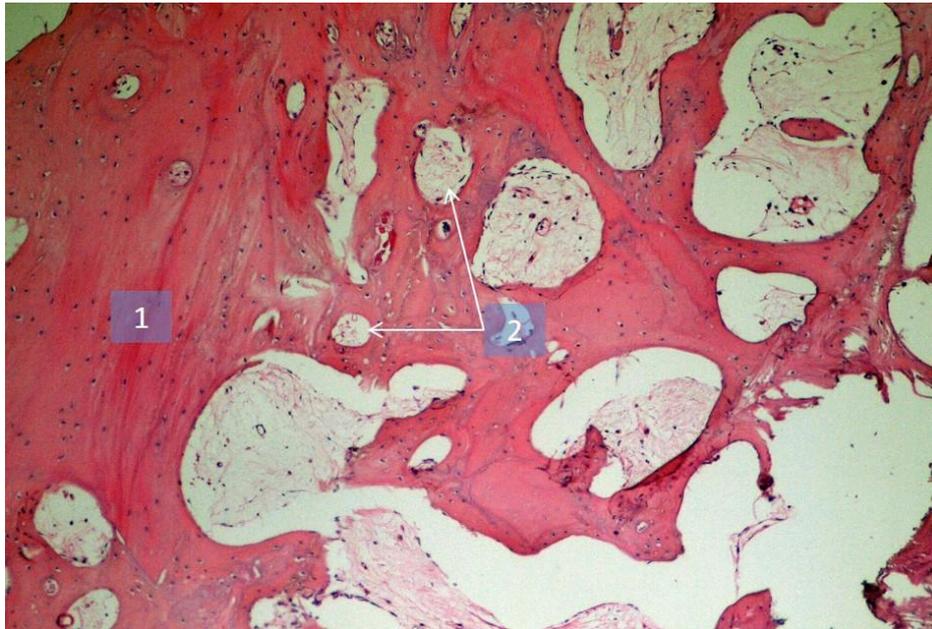


Рисунок 4.41 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-й основной группы через 180 суток после начала эксперимента.

Структурирование костных балок в трабекулы (1). Формирование первичных остеонов (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 10

Кроме губчатого компонента кости, нерезорбированный имплантированный биоматериал визуализировался и в периосте, в количестве от 3 до 5 фигур. Остеопластический материал имел неправильную конфигурацию и размеры. Около крупных фигур регистрировались маленькие, которые оторглись от основного вещества посредством прорастания между ними соединительной ткани (рисунок 4.42 – а). Вокруг имплантированного биоматериала расположена зрелая соединительная ткань, которая имеет непосредственный интимный контакт с биоматериалом (рисунок 4.42 – б). Соединительная ткань вокруг биоматериала формирует невыраженную 2-слойную оболочку. Первый слой - клетки фибробластического дифферона, которые врастают в имплантат, тем самым его отщепляют от основной массы. Второй слой - рыхлая соединительная ткань с сосудами микроциркуляторного русла (рисунок 4.43).

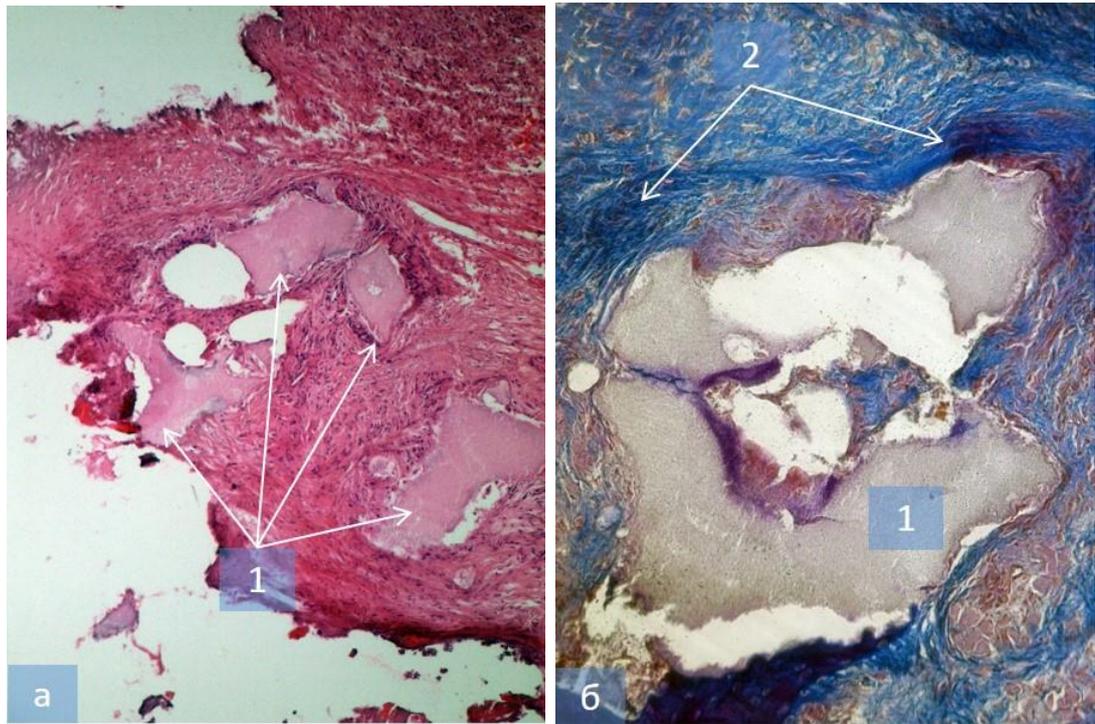


Рисунок 4.42 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-й основной группы через 180 суток после начала эксперимента. а – конгломераты нерезорбированного имплантированного биоматериала в периосте. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 10; б – зрелая соединительная ткань (1) вокруг имплантированного биоматериала. Окраска по Маллори. Ок. 10. Об. 10

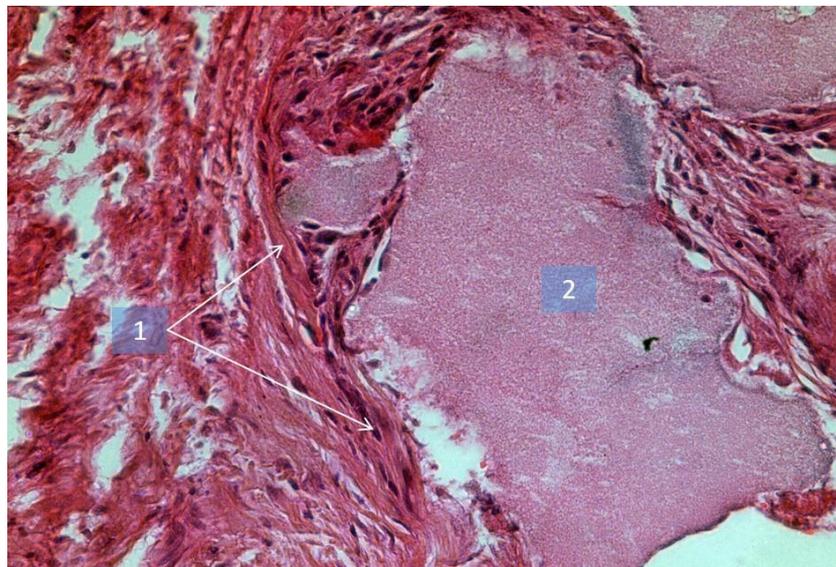


Рисунок 4.43 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-й основной группы через 180 суток после начала эксперимента. Сформированная двухслойная оболочка (1) вокруг имплантированного биоматериала (2).

Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20

В препаратах 2-ой группы отмечено, что в единичных местах возле имплантированного биоматериала не визуализируются клетки, а напрямую вырастает соединительная ткань, при этом формируя межклеточный матрикс, в котором замуровываются клетки, что по-нашему мнению, является признаком прямого остеогенеза II-стадии (рисунок 4.44 – а).

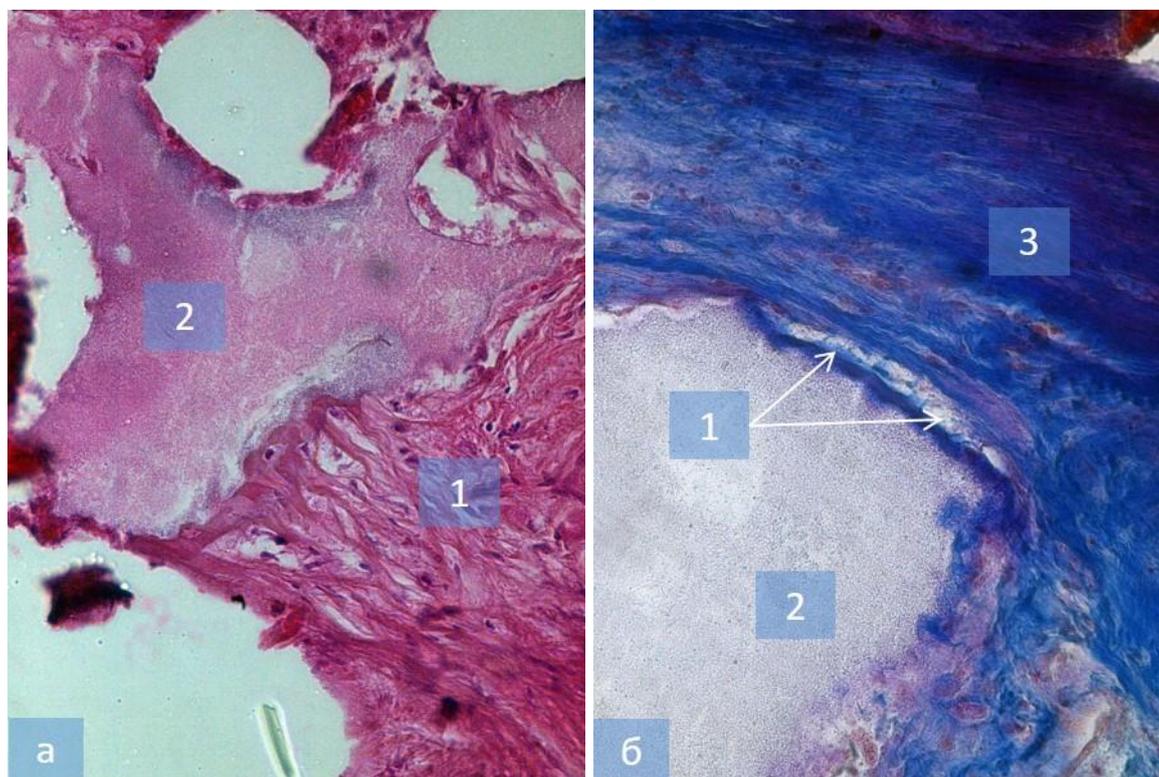


Рисунок 4.44 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 2-й основной группы через 180 суток после начала эксперимента. а – вращание тканей периоста (1) в имплантированный биоматериал (2). Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 40; б – зона резорбции (1) между имплантированным биоматериалом (2) и соединительнотканной оболочкой (3). Окраска по Маллори. Ок. 10. Об. 40

В имплантированном биоматериале во 2-ой группе на месте формирования костной ткани значительно раньше, чем в препаратах 1-ой группы, появляется зона резорбции (рисунок 4.44 – б). Отмечается также, что имплантированный биоматериал при окрашивании гематоксилином и эозином имеет оксифильное окрашивание. Однако при контакте с тканями и клетками

организма он приобретает базофильное окрашивание, что является симптомом изменения органических или биохимических показателей биоматериала при контакте с организмом.

В этой же группе на небольшом расстоянии от фокусов частично резорбированного имплантированного биоматериала отмечается очаговый аутогенный неоваскулогенез с образованием скелетогенных островков между волокнами соединительной ткани из клеток, имеющих фибропластическую дифференцировку (рисунок 4.45).

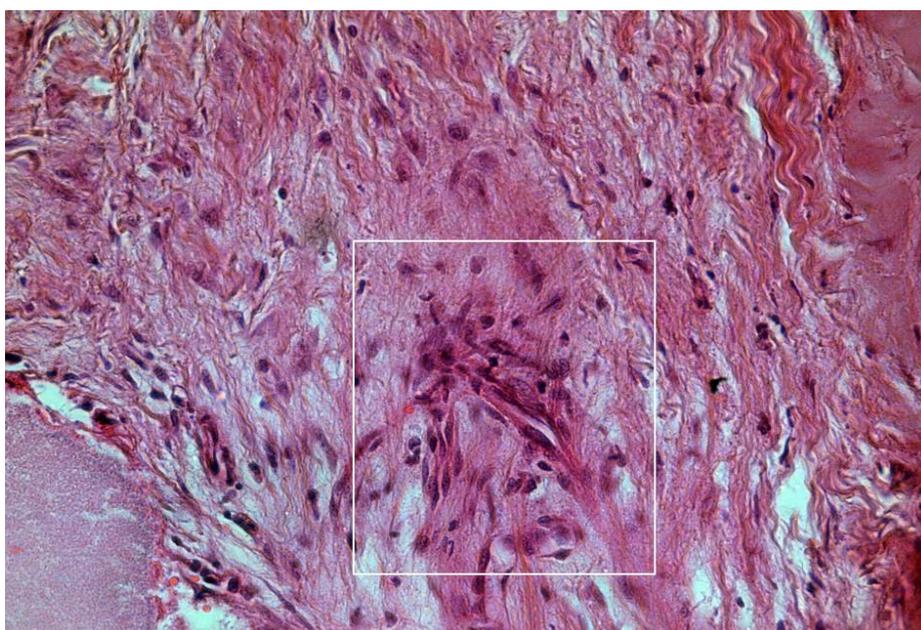


Рисунок 4.45 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 2-й основной группы через 180 суток после начала эксперимента. Формирование остеогенного островка. Окраска гематоксилином и эозином. Ок. 10. Об. 20

Схематическое изображение результатов морфометрических исследований в контрольной группе представлено на рисунке 4.46.

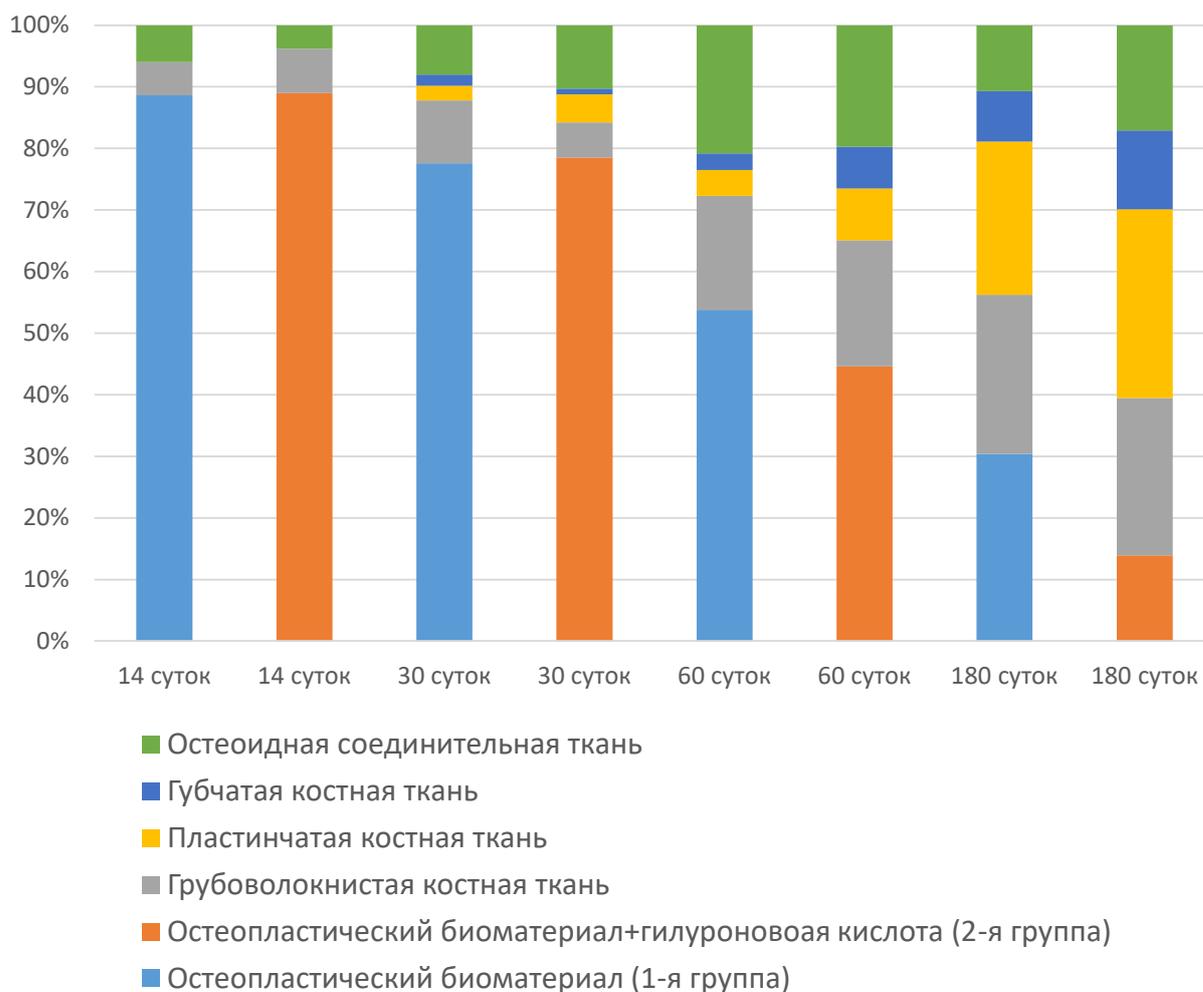


Рисунок 4.46 – Морфометрическая характеристика репаративной регенерации в экспериментальных периимплантатных дефектах нижней челюсти овец основной группы

Иммуногистохимические исследования образцов препаратов основной группы позволили выявить экспрессивность трёх антигенов – Ki67⁺ (пролиферирующих клеток на стадии интерфазы), CD34⁺ (гемопоэтических стволовых клеток и эндотелиальных клеток сосудов) и NSE⁺ (нейрон специфической эналазы).

Белок Ki67 является наиболее универсальными инструментом для оценки клеточного цикла, по его экспрессии исследуют пролиферативную активность клеток, а с помощью антител к Ki67 можно установить, на какой именно фазе цикла пролиферации находятся эти клетки.

Интенсивность экспрессии иммунореактивного материала $Ki67^+$ - интенсивная, ядерная (3 балла). $Ki67^+$ клетки регистрируются в обеих группах, начиная с 14-х суток повсеместно в периосте в соединительной ткани, расположенной вокруг имплантированного биоматериала (рисунок 4.47 – а). Наибольшее количество иммунореактивного материала наблюдалось к 30-м и 60-м суткам около и внутри образованного регенерата губчатого компонента нижнечелюстной кости (рисунок 4.47 – б).

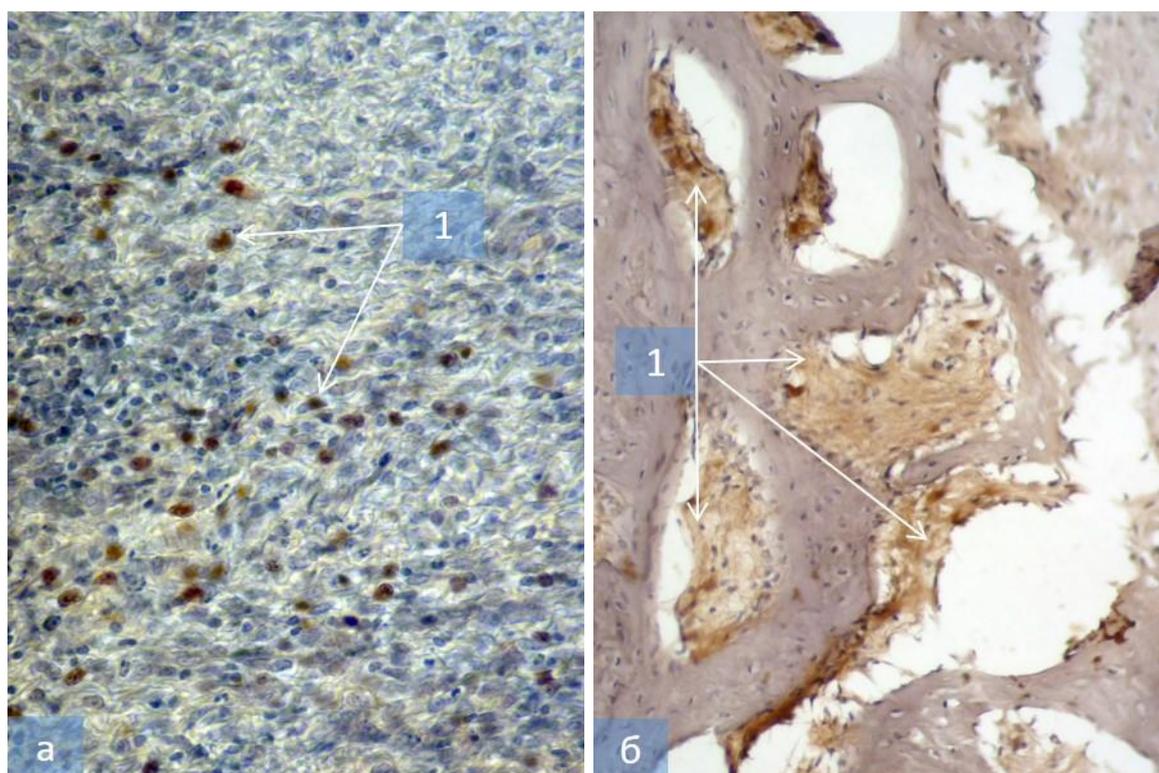


Рисунок 4.47 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-й (а) и 2-ой основных групп (б) через 14 (а) и 30 (б) суток после начала эксперимента. а – $Ki67^+$ клетки (1) в соединительной ткани по периферии имплантированного биоматериала. ИГХ реакция на $Ki67$. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 40; б – большее количество иммунореактивного материала (1) внутри образованного регенерата губчатого компонента нижнечелюстной кости. ИГХ реакция на $Ki67$. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 40

К 60-м суткам эксперимента в препаратах 1-ой и 2-ой группы визуализируются Ki67⁺ клетки в области новообразованного костного регенерата (рисунок 4.48 – а). Кроме этого, во 2-ой группе скопления Ki67⁺ клеток отмечено и в стенках кровеносных сосудов на стадии аутогенного неоваскулогенеза, что подтверждает пролиферативную активность (рисунок 4.48–б).

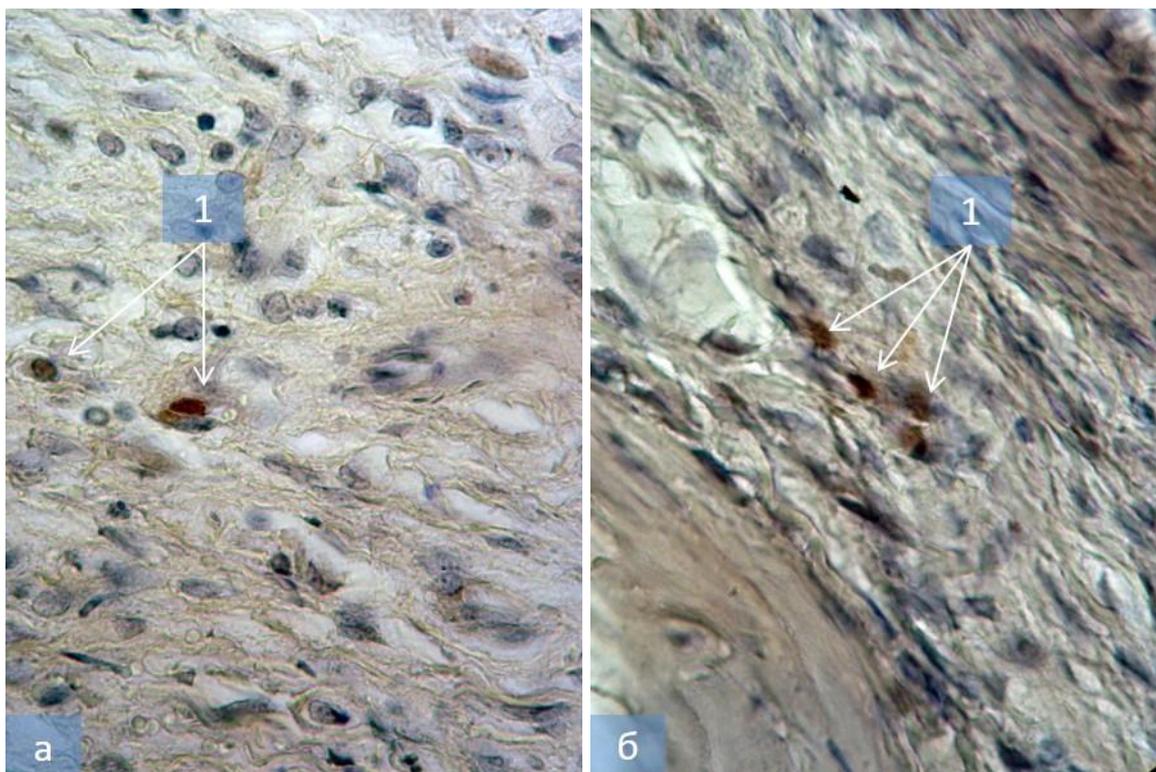


Рисунок 4.48 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-й (а) и 2-ой основных групп (б) через 60 суток после начала эксперимента. а – единичные Ki67⁺ клетки около регенерата. ИГХ реакция на Ki67. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 100; б – скопление Ki67⁺ клеток в стенке формирующегося сосуда микроциркуляторного русла. ИГХ реакция на Ki67. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 100

На эти же сроки (30-60 суток) наблюдения приходится пик зарегистрированных CD34⁺ клеток (гемопоэтических стволовых клеток-предшественников и эндотелиальных клеток сосудов), обнаруженных в основном, в области формирующихся сосудов (рисунок 4.49 – а). Следует

отметить, что подсчет микрососудов с помощью специфического маркера CD34 не является абсолютно точным, поскольку выявляемые антигеном CD34⁺ клетки окрашивают не только активный (пролиферирующий), но и неактивный (покоящийся) эндотелий.

Наиболее интенсивная экспрессия иммунореактивного материала CD34⁺ (3 балла) выявлена во 2-ой группе наблюдения. Иммунореактивный материал равномерно распределен по всей клеточной мембране. К 30-м суткам наблюдения одиночные CD34⁺ клетки визуализируются между волокнами соединительной ткани, окружающей имплантированный биоматериал. К 60-м суткам наблюдения скопления CD34⁺ клеток входят в состав стенок интимы новых кровеносных сосудов микроциркуляторного русла (рисунок 4.49 – б).

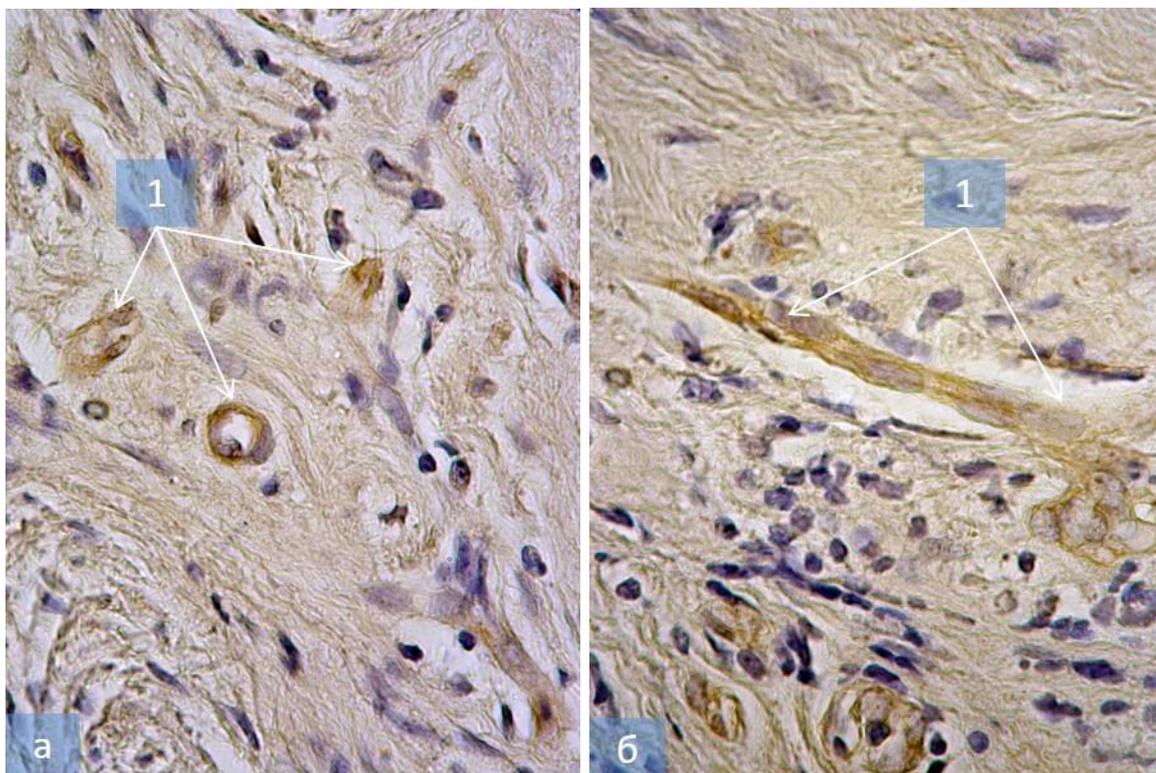


Рисунок 4.49 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-ой (а) и 2-ой (б) групп через 30 (а) и 60 (а) суток после начала эксперимента. а – CD34⁺ клетки (1) между волокнами соединительной ткани, окружающей имплантированный биоматериал. ИГХ реакция на CD34. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 40; б – CD34⁺ клетки в стенке интимы

формирующихся кровеносных сосудов микроциркуляторного русла (1). ИГХ реакция на CD34. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 100

Количество и расположение клеток нейроэктодермального происхождения в препаратах 1 и 2 группы в различные сроки наблюдения имело определенные различия. Начиная с 30-х суток наблюдения NSE^+ клетки регистрировались только в первой группе. Также в этой группе единичные NSE^+ клетки визуализировались в области формирующихся кровеносных сосудов и 60-м суткам (рисунок 4.50 – а).

Во второй группе NSE^+ клетки регистрировались в местах наиболее интенсивного остеогенеза: вокруг остеонов между формирующимися костными балками, прямо по ходу новообразованных волокон периоста (рисунок 4.50 – б), на 14-е, 30-е и особенно, на 60-е сутки после начала экспериментального исследования.

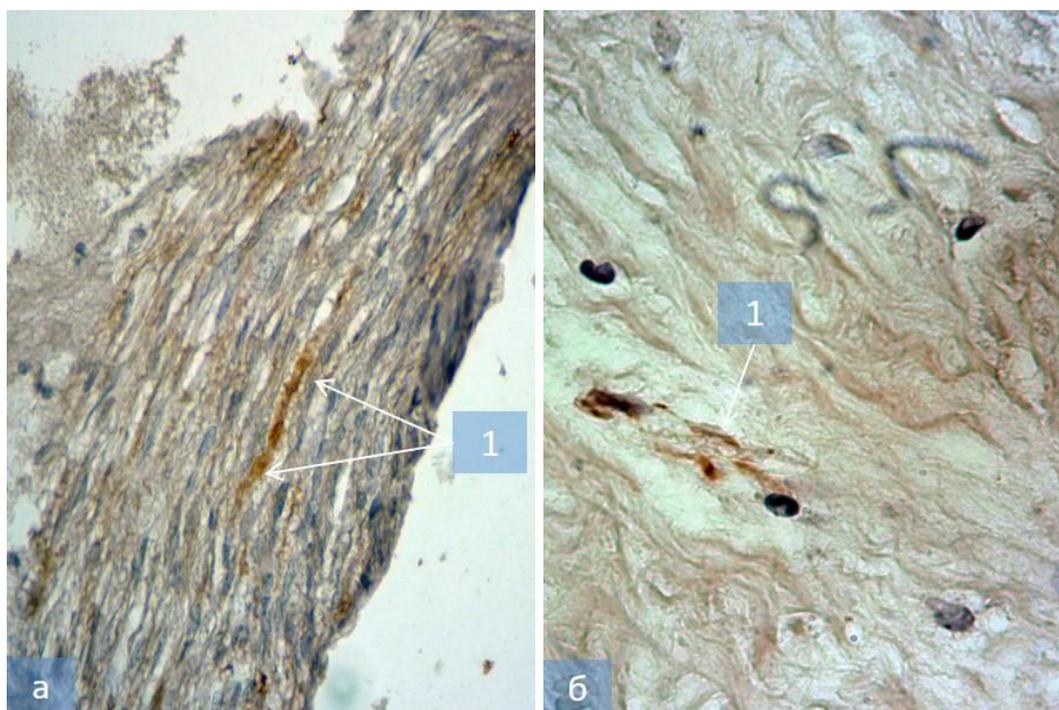


Рисунок 4.50 – Основная группа. Микропрепараты верхней челюсти овцы 1-ой (а) и 2-ой (б) групп через 60 суток после начала эксперимента. а – NSE^+ клетки (1) в области формирующихся кровеносных сосудов. ИГХ реакция на NSE. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 40; б – NSE^+ клетки

между формирующимися костными балками по ходу новообразованных волокон периоста (1). ИГХ реакция на NSE. Продукт реакции коричневого цвета. Ок. 10. Об. 100

Резюме

Результаты проведенного исследования гистологических и иммуногистохимических особенностей регенерации костной ткани нижней челюсти в экспериментальных периимплантатных дефектах, которые вели под кровяным сгустком (контрольная группа), показали, что заживление дефектов на 30-60 сутки происходило с образованием патологических очагов гемопоэтической рыхлой соединительной ткани, что указывает на преждевременное перерождение костного мозга в жировое тело с ослизнением вследствие гипоксии тканей из-за отека, нарушения васкуляризации и истощения костного мозга и его декомпенсации. К 180-м суткам наблюдения в центре и по периферии периимплантатного дефекта наряду с репарацией тканей обнаруживалась желатинозная трансформация гемопоэтической соединительной ткани с образованием отеков, дезорганизацией волокон и вакуолизации аморфного вещества кости.

В результате проведенного исследования гистологических и иммуногистохимических особенностей регенерации костной ткани нижней челюсти в экспериментальных периимплантатных дефектах, замещаемых синтетическим биоматериалом по безмембранной технологии установлено, что различные микрокартины, происходящие в тканях, позволяют с наибольшей полнотой оценить гистогенез костной ткани при экспериментально воспроизведенном периимплантите. Воспалительная инфильтрация тканей не выявлена. Установлено, что имплантированный биоматериал для заполнения периимплантатного дефекта обладает не только биосовместимостью, но и остеоиндукцией. Однако он индуцирует остеогенез с костной тканью не напрямую, а наоборот, сначала вызывает в ней эрозивные процессы. С

грубоволокнистой соединительной тканью имплантированный биоматериал хорошо совместим, катализируя в ней процесс остеогенеза. Также посредством соединительной ткани происходит, по-нашему мнению, восстановление поврежденных костных трабекул.

Таким образом, при имплантации исследуемого биоматериала непосредственно в нижнечелюстную кость и периост, помимо воздействия на костную дифференцировку, имплантированный животным биоматериал, особенно в сочетании с гиалуроновой кислотой (2-я группа), стимулирует аутогенный неоваскулогенез, что подтверждается активной пролиферацией клеток при реакции с антителом Ki67⁺, выявляющих клетки на стадии деления.

Высокую репаративную активность тканей в замещаемом биоматериалом периимплантатном дефекте подтвердило обнаружение в костном регенерате CD34⁺ клеток, поскольку способностью к экспрессии данного белка обладают только зрелые клетки.

Помимо этого, к 30-60-м суткам эксперимента отличительной чертой репаративного процесса в первой и второй группах стала выявляемая с помощью специфического маркера гамма-энолазы (NSE) нейроэндокринная дифференцировка клеток нейроэктодермального происхождения, что является, по нашему мнению, прямым подтверждением интенсификации процессов неои ангиогенеза в кости.

ГЛАВА 5.

КЛИНИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКОГО БИОМАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ РЕЗОРБИРУЕМОЙ ДВУХФАЗНОЙ СМЕСИ ГИДРОКСИАПАТИТА КАЛЬЦИЯ, ТРИКАЛЬЦИЙФОСФАТА С АКТИВАТОРОМ СКЛЕЙКИ ГРАНУЛ И ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ

Полученные результаты гистологических и иммуногистохимических исследований репаративного остеогенеза в экспериментальных периимплантатных костных дефектах челюстей, замещаемых синтетическим биоматериалом по безмембранной технологии позволили обоснованно применять исследуемый биоматериал на основе резорбируемой двухфазной смеси из 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата с активатором склейки гранул Bio Linker, а также в комбинации с гиалуроновой кислотой для замещения периимплантатных костных дефектов уже в клинических условиях.

Остеопластический биоматериал Easy Graft[®] Crystal с различной степенью резорбции, представляющей собой резорбируемую двухфазную смесь из 60% гидроксиапатита кальция (ГАП) и 40% β -трикальцийфосфата (ТКФ), с активатором склейки гранул Bio Linker, а также в комбинации с гиалуроновой кислотой применялся у 80 пациентов (44 мужчин и 36 женщин) с периимплантатными дефектами (ПД). Контрольную группу составили 28 больных, у которых периимплантатный дефект вели под кровяным сгустком.

В основной группе больных оперативные вмешательства проведены в периимплантатных дефектах в области 114 дентальных имплантатов, в контрольной группе – в области 40 дентальных имплантатов.

Процессы остеорегенерации в ПД, протекающие в различные сроки после операции дентальной имплантации, оценивали по клиническому течению, по результатам рентгенологических, эхоостеометрических и биохимических исследований сразу при обращении, после операции и в отдаленные сроки.

Наблюдение за пациентами основной группы показали, что послеоперационный период в ближайшие дни протекал гладко, без осложнений. Незначительный отек мягких тканей удерживался в течение 2-3 суток у 64,8% пациентов, у 35,2% больных - исчезал к 4-5 суткам. Умеренная боль при пальпации оперированной области прекращалась на 2-3 сутки у 55,4% больных, у 44,6% пациентов - на 4-5 сутки. В эти же сроки слизистая в области послеоперационной раны приобретала нормальную окраску. Ни у одного из пациентов основной группы не наблюдали признаков воспаления, аллергической реакции или отторжения имплантированного биоматериала. Раны зажили первичным натяжением у 96,25% пациентов.

У 3-х (3,75%) пациентов основной группы на 3-4 сутки после операции наступило ослабление натяжения швов и частичное расхождение краев раны, однако нагноения в области оперированного ПД не наблюдалось. После антисептической обработки раны удалось добиться ее полной эпителизации: частичное расхождение краев раны не повлияло на качество регенерации костной ткани в дальнейшем.

В контрольной группе у большинства больных (71,4%) послеоперационный период протекал гладко, у 8 (28,6%) из 28 пациентов наблюдались воспалительные явления в виде отека, припухлости и болей в оперированной области, потребовавшие дополнительного использования антибактериальных средств.

Все наблюдения проводились через 1, 3, 6, 9 и 12 месяцев после операции. Из 80 оперированных пациентов основной группы через 1 месяц обследовано 74 (92,5%), через 3 месяца - 62 (77,5%), через 6 месяцев - 51 (63,75%), через 9 месяцев - 45 (56,25%) и через 12 месяцев - 38 (47,5%) пациентов.

Пациенты контрольной группы наблюдались в эти же сроки с большим постоянством, через 12 месяцев отсутствовали при осмотре только 2 (7,14%) из 28 больных.

При контрольных осмотрах через месяц после операции у всех пациентов наблюдались заметные рубцы на месте разреза слизистой оболочки, собственно сама слизистая оболочка - бледно-розового цвета, блестящая и гладкая, тургор сохранен. К этому времени у пациентов не отмечалось подвижности дентальных имплантатов, которые ранее имели подвижность. При пальпации тканей, окружающих периимплантатную область, отмечался достаточный и плотный контур альвеолярного отростка, его ширина приближалась к его ширине на неоперированной стороне челюсти.

Через три месяца после операции и во все время дальнейшего наблюдения у всех пациентов основной группы отсутствовала атрофия и деформация альвеолярного отростка на месте оперативного вмешательства. Его ширина оказалась такой же, как на симметричной стороне до самого конца наблюдений. Поверхность челюстных костей в области проведенного оперативного вмешательства по устранению периимплантатного дефекта характеризовалась нормальной конфигурацией. Стабильность дентальных имплантатов через 3 месяца после операции повысилась у всех пациентов основной группы, в контрольной группе – только у 42,85% больных. К концу наблюдения количество удаленных дентальных имплантатов в основной группе – 0, в контрольной группе – 7 (17,5%).

5.1. Результаты рентгенологических исследований

В результате проведения рентгенологического обследования при контрольных осмотрах пациентов основной группы через месяц после оперативного вмешательства обнаружены достаточно четкие признаки остеорегенеративных процессов на месте ПД. На обзорных рентгенограммах видны сеточки из нежных костных балок вдоль дентального имплантата, в некоторых частях костной ткани прослеживались различной контрастности тени частиц имплантационного биоматериала. По краям ПД отмечалась размытость и потеря четкости ее контуров (рисунок 5.1).

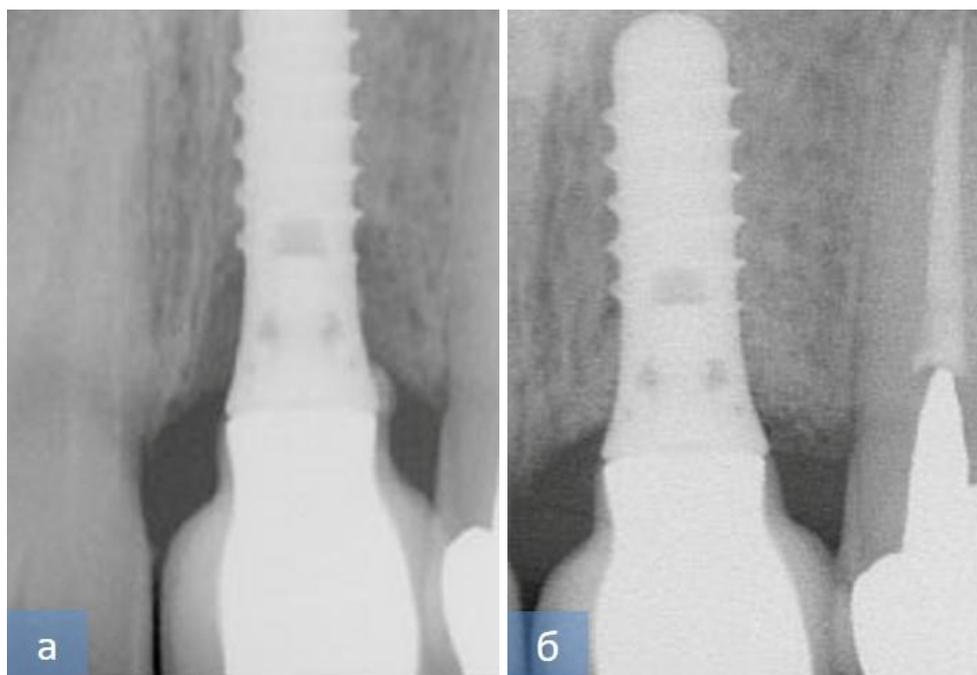


Рисунок 5.1 – Фрагмент рентгенограммы больного А. до (а) и через 1 месяц (б) после имплантации исследуемого биоматериала в перимплантатный дефект

Через 3 месяца после заполнения перимплантатного костного дефекта имплантированным биоматериалом определялись начальные рентгенологические признаки его биодеградации и процессов остеорегенерации. Они проявлялись наличием различной степени рентгеноконтрастности тени частиц бифазной керамики (ГАП и ТКФ) и участков вновь образованной костной ткани, структура которой отличалась слабой дифференцировкой, с участками резкой степени минерализации. Границы оперированных периимплантатных костных дефектов почти не определялись.

Процессы восстановления костной ткани в перимплантатных дефектах протекали по-разному: дефект кости в районе нескольких установленных дентальных имплантатов труднее подвергался остеоинтеграции (рисунок 5.2 – а, б), в свою очередь, в области одиночных дентальных имплантатов остеорепаративные процессы происходили наиболее интенсивно (рисунок 5.2 – в). У 50% таких пациентов под влиянием композитного биоматериала в сочетании с гиалуроновой кислотой (2-я группа) через 3 месяца после операции

наблюдалось полное восстановление кости на месте прошлого дефекта. Новообразованная костная ткань приобретала такие же характеристики, которые имели смежные участки челюстной кости (рисунок 5.2 – г).

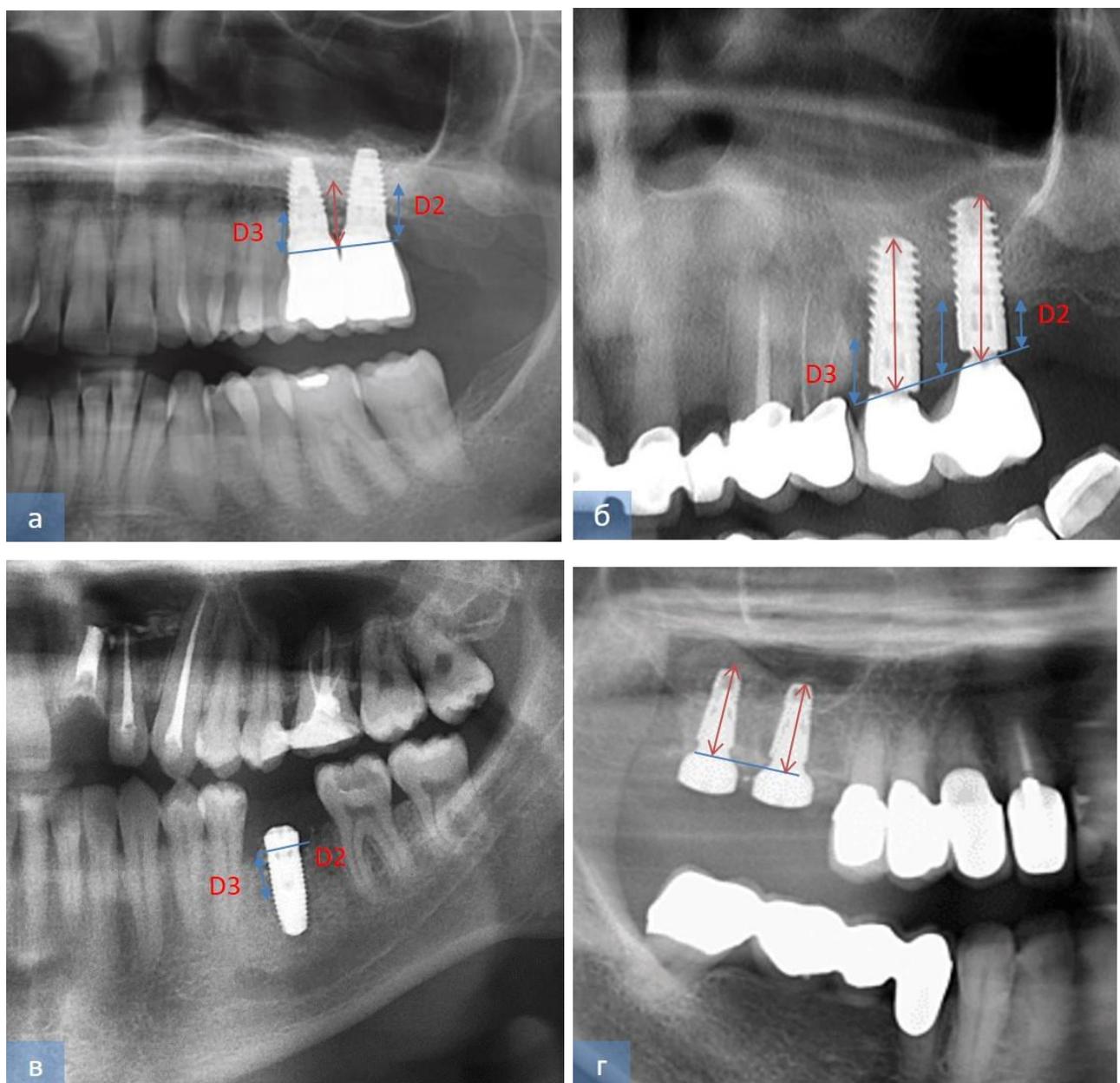


Рисунок 5.2 – Фрагменты обзорных рентгенограмм больных 1-ой (а, б, в) и 2-ой (г) группы через 3 месяца после имплантации исследуемого биоматериала в перимплантатные дефекты

Несмотря на это, рентгенологическая плотность изображения новообразованной кости являлась пониженной за счет недостаточной

минерализации и явно не дотягивала до уровня нативной костной ткани с неповрежденных участков челюсти.

Через 6 месяцев после операции на месте бывших малых (у пациентов обеих групп) и средних (в 2/3 случаев) размеров перимплантатных дефектов рентгенологически определялась зрелая новообразованная костная ткань с характерным трабекулярного рисунком, которая не отличалась по оптической плотности и структуре от окружающей нативной кости (рисунок 5.3 – а, б).

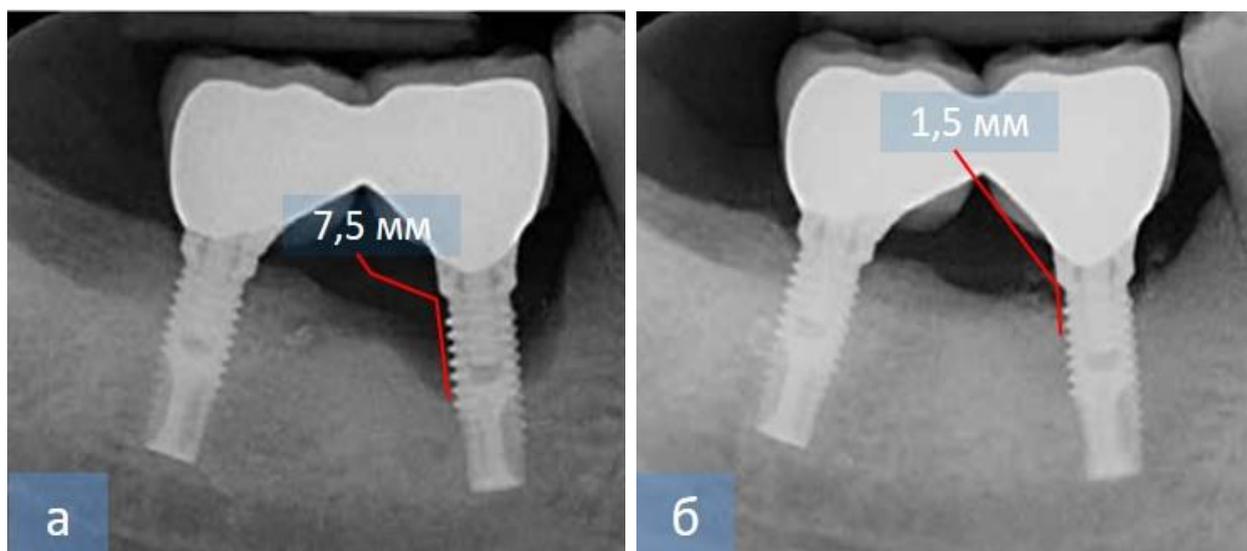


Рисунок 5.3 – Фрагменты рентгенограмм больной С. до (а) и через 6 месяцев (б) после имплантации исследуемого биоматериала в перимплантатный дефект (2-я группа)

К данному сроку в крупных перимплантатных дефектах сохранились участки, характеризовались недостаточной структурированности и минерализацией. Местами определялись слабые тени замурованных частиц гидроксиапатита кальция и β -трикальцийфосфата с признаками биодеградации. Следует отметить, что атрофия и деформация края альвеолярного отростка на месте оперативного вмешательства отсутствовала (рисунок 5.4 – а, б).

В свою очередь, у больных контрольной группы, где перимплантатный дефект заживал под кровяным сгустком, к 6 месяцам после операции сколько-нибудь значимого прироста новообразованной кости в области оперированного перимплантатного дефекта практически не наблюдалось (рисунок 5.5 – а, б).

Максимальный репаративный эффект за 6 месяцев наблюдения в контрольной группе составил от 1 до 2 мм прироста костной ткани.

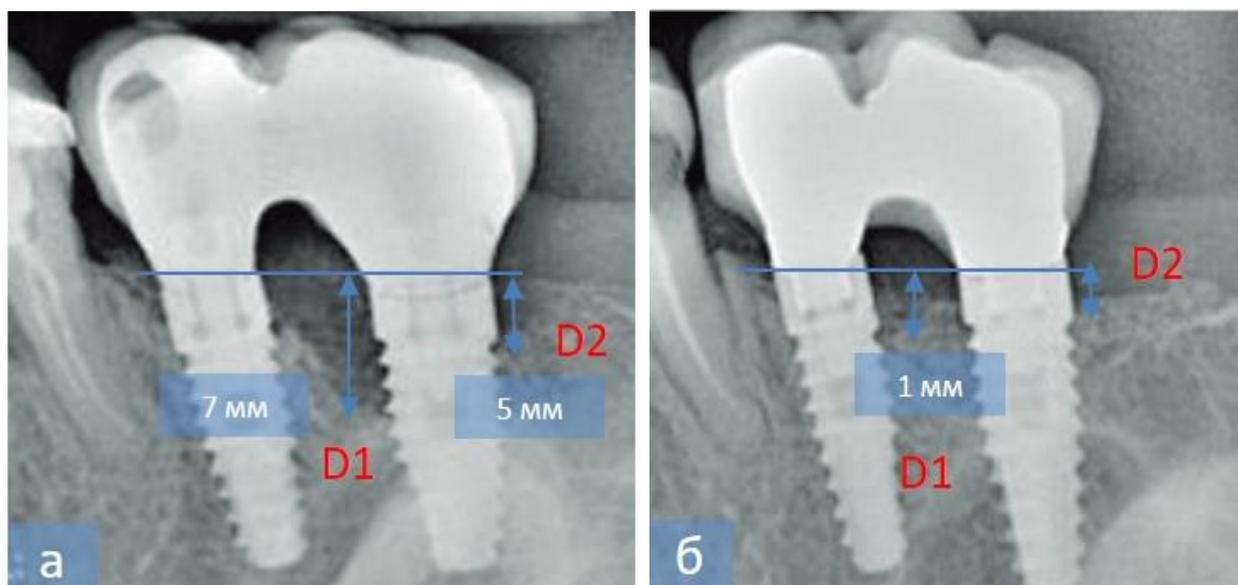


Рисунок 5.4 – Фрагменты рентгенограмм больного В. до (а) и через 6 месяцев (б) после имплантации исследуемого биоматериала в перимплантатный дефект (2-я группа группа)

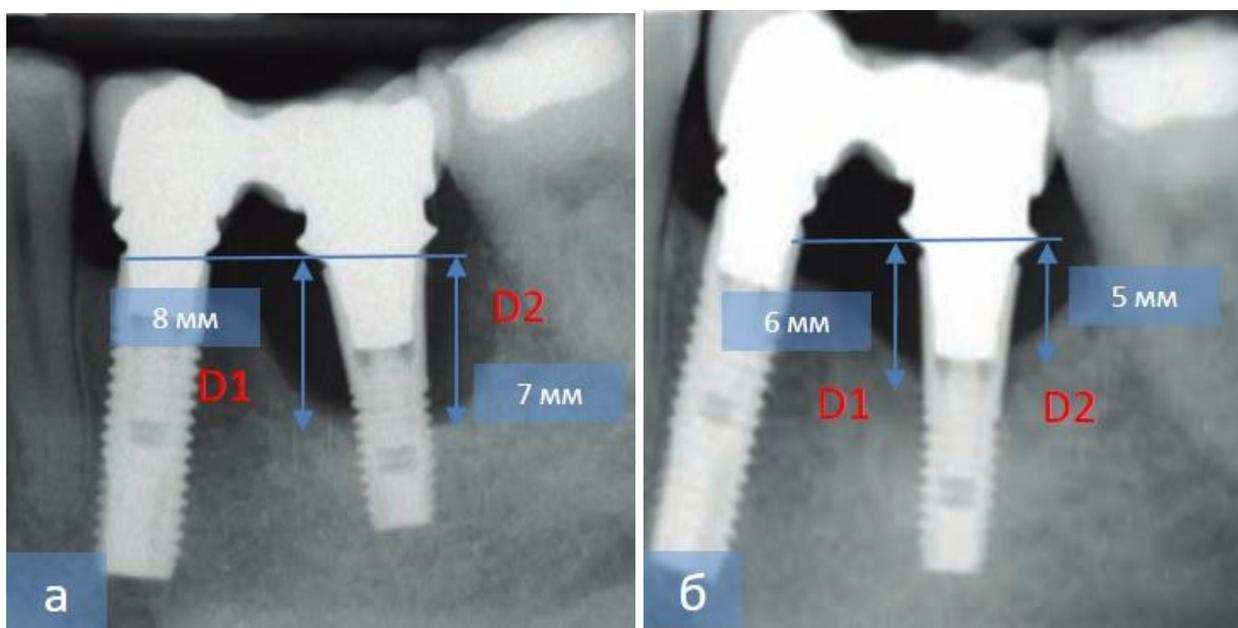


Рисунок 5.5 – Фрагменты рентгенограмм больной К. до (а) и через 6 месяцев (б) после операции на перимплантатном дефекте (контрольная группа)

Через 9 месяцев после операции при рентгенологическом обследовании у всех пациентов с малыми и средними периимплантатными костными

дефектами констатирована полная оссификация костных полостей с восстановлением нативной архитектоники и структуры челюстной кости.

К данному сроку наблюдения на месте перимплантатного дефекта отчетливо визуализируется гомогенная структура вновь образованной костной ткани, которая не отличается от соседних участков кости.

Через 12 месяцев после операции по устранению периимплантатного дефекта в основной группе при рентгенологическом обследовании у всех пациентов установлено построение новой костной ткани на месте прошлых дефектов кости (рисунок 5.6).

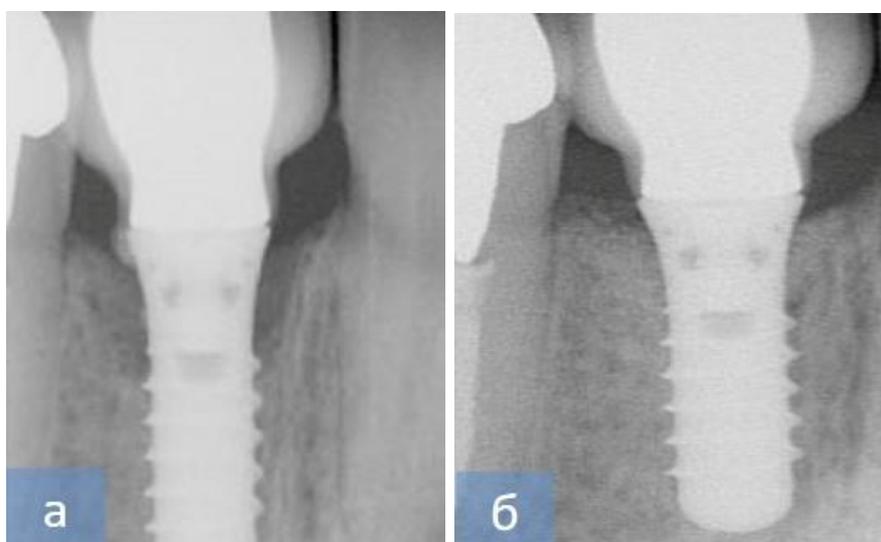


Рисунок 5.6 – Фрагменты рентгенограмм больного У. (а) и через 12 месяцев (б) после имплантации исследуемого биоматериала в перимплантатный дефект (1-я группа)

В то же время, у части обследованных больных контрольной группы таких позитивных результатов не наблюдалось. Наоборот, имела место разнонаправленная динамика репаративных процессов.

Так, у больной Ш. к 6 месяцам после оперативного вмешательства установлена положительная динамика остеорепаративных процессов, выразившаяся в приросте костной ткани в области периимплантатных дефектов, а к 12-и месяцам процессы остеорезорбции кости, окружающей дентальные имплантаты, стали преобладать над процессами остеорепарации,

что выразилось (по данным рентгенологического исследования) в увеличении зоны резорбции кости вокруг внутрикорневой части дентальных имплантатов, особенно в пришеечной их области (рисунок 5.7 – а, б, в).

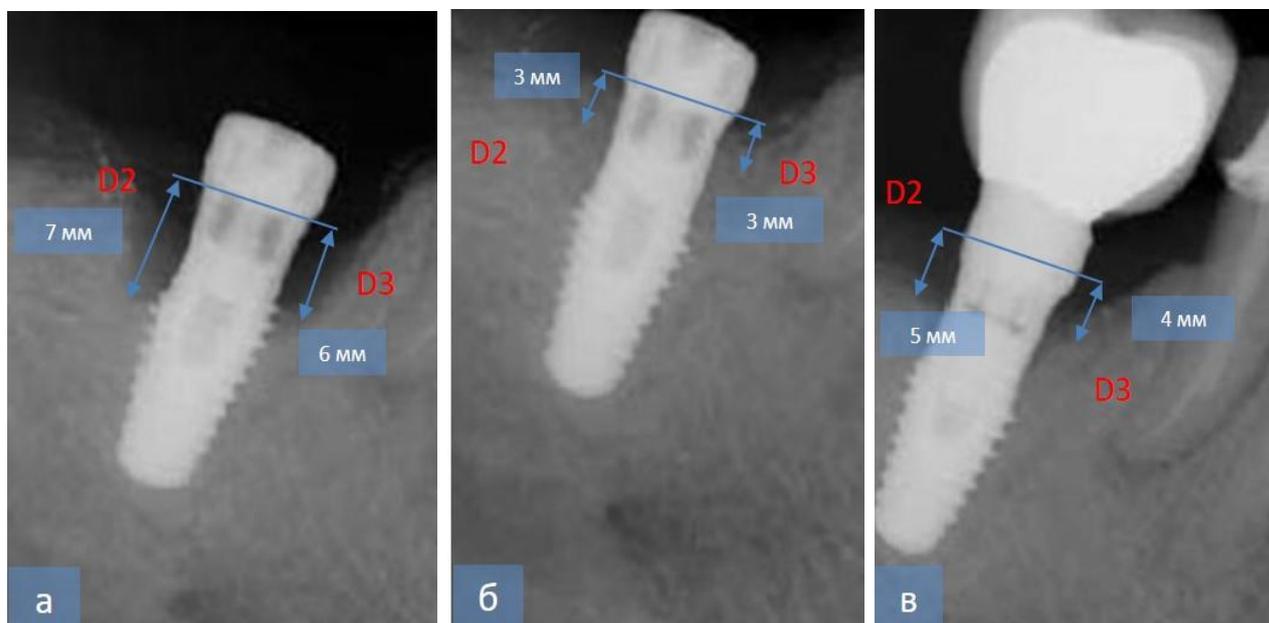


Рисунок 5.7 – Фрагменты рентгенограмм больной Ш. до (а), через 6 (б) и 12 (в) месяцев после операции в области перимплантатного дефекта челюсти (контрольная группа)

Резюме

Итак, сравнивая отдаленные результаты хирургического лечения периимплантатных дефектов костной ткани челюстей с использованием биоматериала на основе резорбируемой двухфазной смеси из 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата с активатором склейки гранул Bio Linker, по результатам динамического рентгенологического исследования, установлено, что из 40 обследованных пациентов первой основной группы у 65,8% полное восстановление костной ткани в области операции состоялось до 6-и месячного срока, у 24,3% - через 9 месяцев, у 8,9% - через 12 месяцев после операции. Из 40 больных 2-ой основной группы (где использовали комбинацию вышеназванного биоматериала с гиалуроновой кислотой) у 62,8% полное восстановление костной ткани в области операции

состоялось до 6-и месячного срока, у 35,4% - через 9 месяцев, у 1,8% - через 12 месяцев после операции. Данные результаты не обладают статистически значимым эффектом ($p > 0,05$) и зависят, по-нашему мнению, в основном, от размера периимплантатного дефекта, а также в меньшей степени – от возраста, пола и характера жевательных нагрузок и состояния жевательного аппарата в целом.

Следует отметить, что репарация костной ткани в области одиночных периимплантатных дефектов закончилась у всех пациентов основной группы к 6-и месяцам после проведенного оперативного вмешательства, причем у части из них основной прирост новообразованной кости пришелся на первых 3-и месяца после операции.

У пациентов с большими по протяженности периимплантатными дефектами челюстей (в области 2 и более дентальных имплантатов) регенерация костной ткани закончилась в сроки до 6 месяцев только у 15,4%, у остальных 84,6% пациентов – она завершилась в срок 12 месяцев.

5.2. Результаты ультразвуковых исследований

Для изучения динамики регенерации костной ткани в области периимплантатных дефектах челюстей пациентов, оперированных по поводу периимплантита, наряду с клиническими и рентгенологическими исследованиями использовали также ультразвуковую эхоостеометрию (ЭОМ). Показатели скорости прохождения ультразвука в челюстной кости пациентов в области операции в зависимости от времени, прошедшего после операции, отражали в специальных графиках. Замеры проводили как перед операцией, так и в различные сроки после оперативного вмешательства – через 1, 3, 6, 9 и 12 месяцев. До операции у пациентов всех групп показатели скорости прохождения ультразвука в челюстной кости в исследуемой периимплантатной области оказались снижены по сравнению с показателями на противоположной стороне челюсти, принятой за условную норму. На

верхней челюсти эти показатели составляли - 1965 (1830-2100) м/с (при условной норме 2850 м/с), а на нижней челюсти - 2180 (2075-2260) м/с (при условной норме 3300 м/с) (рисунок 5.8-5.9).

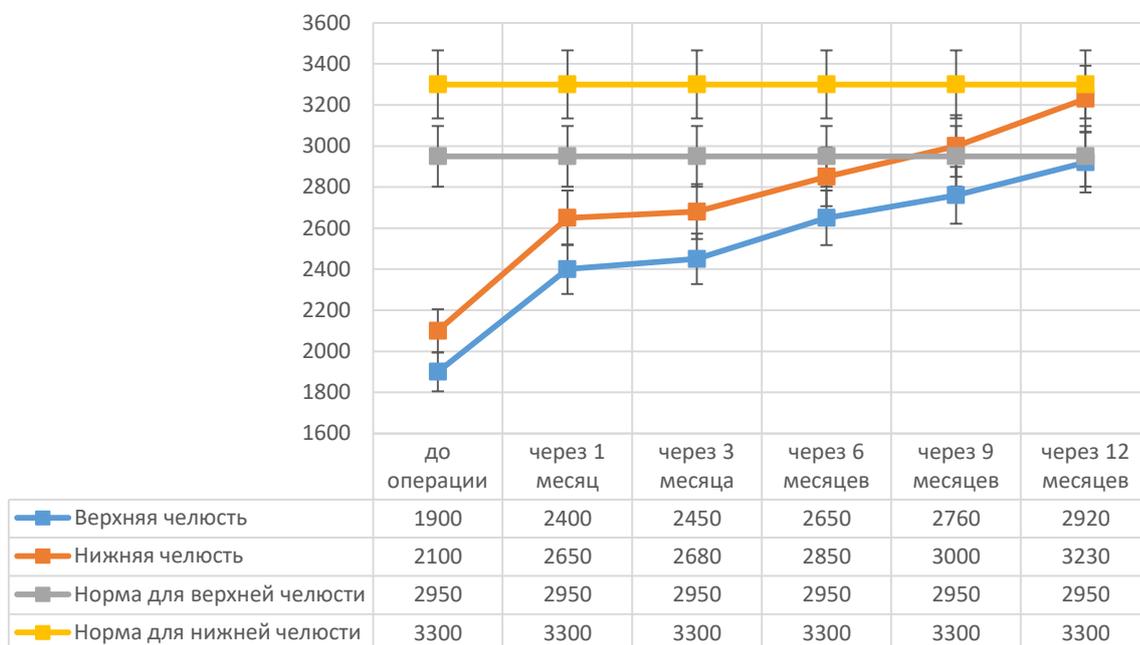


Рисунок 5.8 – Показатели скорости прохождения ультразвука (м/с) в верхней и нижней челюстях перед и в различные сроки после операции в области периимплантатного дефекта челюсти (1 группа)

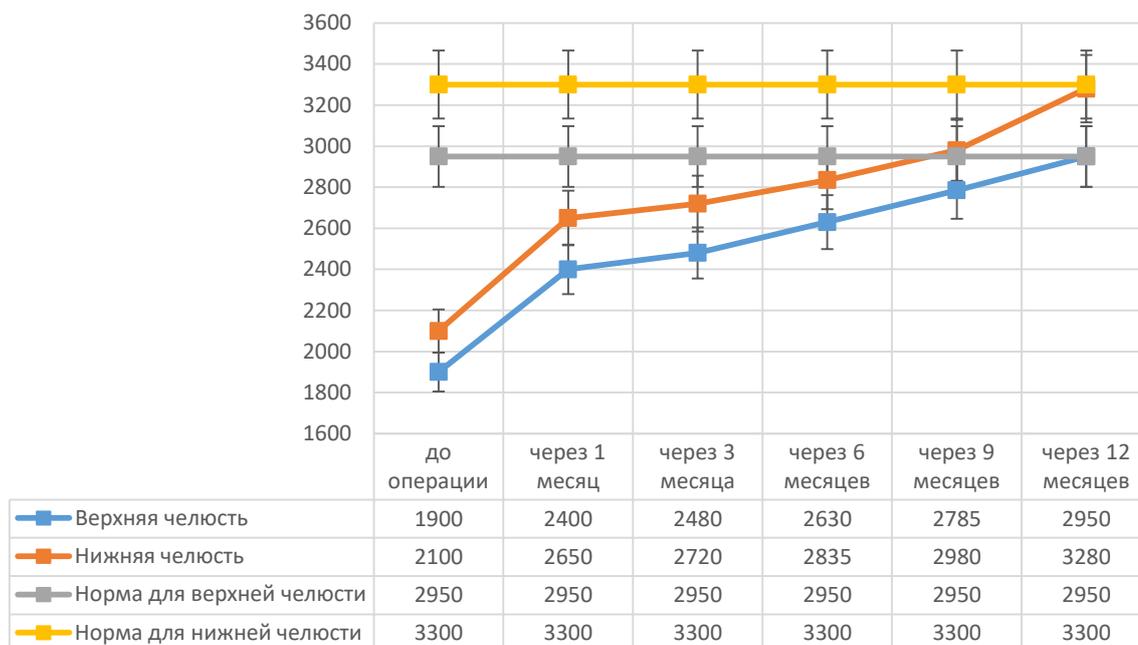


Рисунок 5.9 – Показатели скорости прохождения ультразвука (м/с) в верхней и нижней челюстях перед и в различные сроки после операции в области периимплантатного дефекта челюсти (2 группа)

Через месяц показатели скорости прохождения ультразвука альвеолярными отростками верхних и нижних челюстей увеличились по сравнению с исходными показателями только в 1-ой и 2-ой группах, что может быть связано с высокими плотностными характеристиками (по сравнению с контрольной группой, где периимплантатный дефект вели под кровяным сгустком) формирующегося на основе ГАП и ТКФ регенерата (рисунок 5.10).

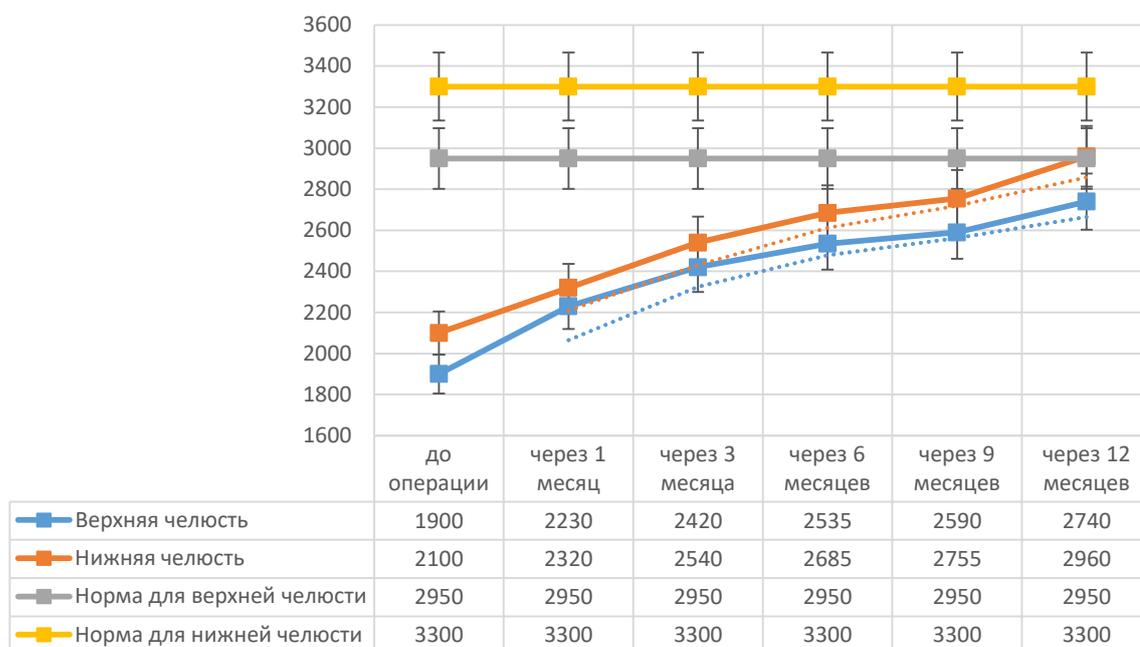


Рисунок 5.10 – Показатели скорости прохождения ультразвука (м/с) в верхней и нижней челюстях перед и в различные сроки после операции в области периимплантатного дефекта челюсти (контрольная группа)

Изучение динамики показателей ЭОМ через 3, 6 и 9 месяцев наблюдения позволило проследить достаточно уверенный достоверный рост показателей скорости распространения ультразвука в челюстных костях у пациентов по сравнению с замерами, сделанными ранее (до операции и через 1 месяц после операции по устранению периимплантатного дефекта челюсти). В основном, вышеприведенные данные касаются больных 1-ой и 2-ой групп, и не относятся к пациентам контрольной группы, где прирост скорости от срока к сроку оказался минимальным и на грани статистической погрешности. Что касается данных о быстром приросте скорости в основной группе, где использовали резорбируемую двухфазную смесь из 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата, с активатором склейки гранул Bio Linker, а также в комбинации с гиалуроновой кислотой, то на наш взгляд, это связано с достаточно быстрой биодegradацией биоматериала, последовательным формированием высокодифференцированной костной ткани и высокой скоростью минерализации регенерата. К концу наблюдения - через 12 месяцев

этот показатель приближался к значениям времени прохождения ультразвука костью на симметричной стороне (условная норма для верхней и нижней челюстей).

Результаты эхоостеометрических исследований указывают на то, что при заполнении периимплантанных дефектов челюстей исследуемым биоматериалом происходят активные процессы репаративного костеобразования по минерализации регенерата, поэтому скорость распространения ультразвуковой волны костью росла пропорционально с уменьшением пористости костной структуры и формированием зрелой кости.

Резюме

Таким образом, полученные результаты эхоостеометрических исследований позволяют сделать вывод о том, что установленные изменения интенсивности репаративной регенерации в области замещаемых биоматериалом периимплантатных дефектов, оцениваемой по динамике показателей скорости распространения ультразвука в челюстных костях как перед хирургическим вмешательством, так и в отдаленные сроки после операции, полностью коррелируют с клинико-рентгенологической характеристикой процессов остеорегенерации. При использовании для устранения периимплантатных дефектов челюсти резорбируемой двухфазной смеси из 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата, с активатором склейки гранул Bio Linker, а также в комбинации с гиалуроновой кислотой, ультразвуковая эхоостеометрия объективно подтверждает и дополняет клинико-рентгенологическую картину перестройки новообразованного регенерата в полноценную кость.

5.3. Результаты биохимических исследований

В процессе исследования всех основных проявлений репаративного остеогенеза в замещаемых биоматериалом периимплантатных дефектах челюстей важное значение имеют исследования специфических маркеров костных метаболических процессов. Главным структурным компонентом внеклеточного пространства костной ткани является коллагеновые волокна. Среди методов оценки состояния костной ткани, в частности интенсивности процессов биосинтеза и распада коллагена, одно из ведущих мест занимает метод определения фракций оксипролина в моче.

Известно, что органический матрикс челюстных костей на 95% состоит из фибриллярного белка соединительной ткани – коллагена. Остеогенез включает два уравновешенных и взаимосвязанных процесса: анаболизм и катаболизм коллагена, а также минерализацию и деминерализацию костной ткани. Почти треть всех аминокислот, входящих в состав костного коллагена, приходится на пролин и оксипролин, которые не встречаются в других белках и имеют непосредственное отношение к репаративного остеогенеза.

В этой связи определение содержания оксипролина в моче дает информацию о состоянии обмена основного белка кости – коллагена. Биохимическим маркером катаболизма коллагена является свободный 4-гидроксипролин (СГП), мкмоль/сутки, а биохимическим маркером биосинтеза коллагена - белково-связанный 4-гидроксипролин (БСГП), мкмоль/сутки.

Исследование содержания метаболитов коллагена в моче больных с периимплантатными дефектами челюстей обнаружили характерную динамику до и после операции по их замещению биоматериалом (таблица 5.1).

Перед операцией уровень СГП оказался повышенным по сравнению с нормой и составил $25,04 \pm 1,55$ мкмоль/сутки ($p < 0,05$), в то время, как уровень БСГП находился в пределах нормы ($8,25 \pm 0,17$ мкмоль/сутки). Через сутки после операции уровень СГП повысился до $37,52 \pm 1,86$ мкмоль/сутки ($p < 0,05$),

его концентрация оставалась достаточно высокой и на третьи сутки после операции - $32,14 \pm 1,53$ мкмоль/сутки ($p < 0,05$).

В то же время уровень БСП в первые трое суток, хотя и находился в пределах нормы, но оказался несколько ниже по сравнению с исходными данными - $6,97 \pm 0,48$ и $6,83 \pm 0,39$ мкмоль/сутки соответственно ($p < 0,05$). Данное обстоятельство определенным образом указывало на преобладание катаболических процессов в метаболизме коллагена как перед оперативным вмешательством, так и в первые трое суток после операции.

Таблица 5.1 – Содержание свободного и белково-связанного 4-гидроксипролина в моче ($M \pm m$) у пациентов основной группы

Сроки исследования	СП (мкмоль/сутки)	БСП (мкмоль/сутки)
Норма	18-22	8-12
До операции	$25,04 \pm 1,55^*$	$8,25 \pm 0,17$
Через 1 сутки	$37,52 \pm 1,86^{*\#}$	$6,97 \pm 0,48^\#$
Через 3 суток	$32,14 \pm 1,53^{*\#}$	$6,83 \pm 0,39^\#$
Через 7 суток	$26,41 \pm 1,78^{*\#}$	$7,06 \pm 0,94$
Через 14 суток	$20,62 \pm 0,98^{*\#}$	$7,49 \pm 0,56$
Через 30 суток	$17,62 \pm 1,75^\#$	$10,73 \pm 0,81^\#$
Через 60 суток	$15,43 \pm 1,27^\#$	$9,37 \pm 0,16^\#$
Через 90 суток	$15,95 \pm 0,55^*$	$9,44 \pm 0,47$

Примечание: * - значения достоверны при сравнении исследуемых показателей с нормой, $p < 0,05$; # - значения достоверны при сравнении исследуемых показателей с данными предыдущих сроков, $p < 0,05$

В последующем уровень СП в моче быстро снижался и на седьмые сутки оказался сопоставим с исходными данными - $26,41 \pm 1,78$ против $25,04 \pm 1,55$ мкмоль/сутки, а на 14 сутки приближался к показателям нормы - $20,62 \pm 0,98$ против 18-22 мкмоль/сутки. Начиная с 30-х суток после операции и вплоть до конца наблюдения уровень содержания свободного 4-гидроксипролина в моче находился в несколько ниже нормы - от $17,62 \pm 1,75$ на 30-е сутки до $15,95 \pm 0,55$ мкмоль/сутки – на 90-е сутки соответственно ($p < 0,05$).

При анализе показателей содержания БСГП в моче установлено, что его уровень, удерживаясь в пределах нормы, в дальнейшем все же рос и его пиковый показатель оказался выше нормы на 30-е сутки после операции по замещению периимплантатного дефекта биоматериалом - $10,73 \pm 0,81$ мкмоль/сутки ($p < 0,05$). К концу наблюдения (90-е сутки) уровень содержания БСГП в моче оказался в пределах нормы $9,44 \pm 0,47$ мкмоль/сутки ($p > 0,05$), что указывало на нормализацию метаболизма костной ткани.

Таким образом, результаты проведенных биохимических исследований метаболизма коллагена указывали на ранний срок (начиная с 3-х суток после операции) перехода от стадии резорбции в стадии биосинтеза коллагена. Применение для устранения периимплантатных дефектов челюсти резорбируемой двухфазной смеси из 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата, с активатором склейки гранул Bio Linker, а также в комбинации с гиалуроновой кислотой в основной группе пациентов положительно влияло на репарационный остеогенез в ранние сроки после операции и оптимизировало процессы репаративной регенерации челюстных костей. Нормализация биохимических показателей коррелировала с результатами клинико-рентгенологических и эхоостеометрических исследований.

Влияние исследуемого биоматериала на организм пациентов при устранении периимплантатных дефектов челюсти изучено путем определения активности внутриклеточных ферментов АСаТ (аспартатаминотрансферазы) и АлАТ (аланинаминотрансферазы) в сыворотке крови больных с периимплантитом.

Определение активности этих ключевых ферментов обмена веществ наиболее часто используют в наркологии и токсикологии для исследования влияния различных веществ на организм человека. Хорошо известно, что трансаминоферазы являются внутриклеточными ферментами, обладающими определенным влиянием на активность других ферментов и стимуляторов

метаболизма, регулирующих распределение метаболитов между тканями и системами органов.

АсАТ - маркер центральных (близких к циклу Кребса), а АлАТ - маркер периферических путей метаболизма. Повышение активности этих ферментов в крови свидетельствует о повреждении клеточных структур печени, мозга, сердечной мышцы и почек. Высвобождающиеся из поврежденных клеток ферменты быстро оказываются в плазме крови: известна тесная корреляция между размерами ячеек повреждения и показателями активности аминотрансфераз в сыворотке крови [70].

Результаты проведенных биохимических исследований показали, что активность аминотрансфераз в сыворотке крови больных до и после устранения периимплантатного дефекта и замещения последнего биоматериалом на протяжении всего периода наблюдения существенно не менялась и ее показатели находились в пределах нормы (таблица 5.2).

Таблица 5.2 – Активность АсАТ и АлАТ в сыворотке крови ($M \pm m$) у пациентов основной группы

Сроки исследования	АсАт (Ед/л)	АлАТ (Ед/л)
Норма	32-38	35-46
До операции	29,54±1,25	33,44±1,96
Через 1 сутки	27,92±2,54*	26,57±1,22 [#]
Через 3 суток	30,56±1,04* [#]	26,73±1,34
Через 7 суток	26,71±1,72* [#]	27,96±1,67
Через 14 суток	28,84±2,08	27,59±0,71
Через 30 суток	27,64±2,87	30,43±1,94 [#]
Через 60 суток	30,25±1,88	29,67±1,39
Через 90 суток	31,09±1,63	29,94±1,63

Примечание: * - значения достоверны при сравнении исследуемых показателей с нормой, $p < 0,05$; [#] - значения достоверны при сравнении исследуемых показателей с данными предыдущих сроков, $p < 0,05$

Перед операцией активность АсАТ составила 29,54±1,25 Ед/л, а активность АлАТ - 33,44±1,96 Ед/л. В первые трое суток после операции, эти

показатели незначительно снижались, причем активность АсАТ и АлАТ составили $27,92 \pm 2,54$ - $26,57 \pm 1,22$ Ед/л через 1 сутки соответственно ($p < 0,05$). В дальнейшем активность аминотрансфераз снижалась до и в течение всего срока наблюдения находилась в пределах исходных данных и нормы: АсАТ - $31,09 \pm 1,63$ - $29,94 \pm 1,63$ Ед/л соответственно ($p > 0,05$).

Резюме

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что использование в клинической практике для устранения периимплантатных дефектов челюсти резорбируемой двухфазной смеси из 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата, с активатором склейки гранул Bio Linker, а также в комбинации с гиалуроновой кислотой не влияет на ферментативную активность аминотрансфераз и, соответственно, не имеет токсического воздействия на организм пациентов.

5.4. Ближайшие и отдаленные результаты клинических исследований

Клинические наблюдения, проведенные в ближайшие сроки после оперативного вмешательства, показали, что у не у всех пациентов послеоперационный период перебежал гладко, без осложнений.

В основной группе на 2-е сутки после удаления зуба самопроизвольная боль исчезала у 78,8% пациентов, а боль при пальпации – только у 52,5% больных. Явления гиперемии слизистой и умеренный отек в области оперативного вмешательства исчезли в 38,8% случаев. На 4-е сутки после операции 91,3% пациентов основной группы чувствовали себя удовлетворительно, слизистая оболочка у них приобрела розовый цвет, болевые ощущения исчезли. При пальпации альвеолярного отростка в области оперированного периимплантатного дефекта незначительная боль удерживалась до 7-х суток в 3,75% случаев (таблица 5.3).

Таблица 5.3 – Непосредственные результаты после удаления зубов у пациентов основной группы по данным клинических наблюдений

Клинические показатели		Группы наблюдения			
		Контрольная		Основная	
		абс	%	абс	%
Исчезновение самопроизвольной боли в области операции					
	на 2 сутки	11	38,3	63	78,8
	на 4 сутки	17	60,7	73	91,3
	на 7 сутки	24	85,7	80	100
Отсутствие боли при пальпации					
	на 2 сутки	9	11,3	42	52,5
	на 4 сутки	14	50,0	73	91,3
	на 7 сутки	22	78,6	77	3,75
Исчезновение гиперемии и отека слизистой оболочки					
	на 2 сутки	10	35,7	31	38,8
	на 4 сутки	12	42,8	73	91,3
	на 7 сутки	24	85,7	80	100
Сроки эпителизации раны					
	на 7 сутки	-	-	4	5
	на 10 сутки	12	42,8	71	88,75
	на 14 сутки	13	46,4	5	6,25
	на 21 сутки	1	3,57	-	-
Частичное расхождение краев раны		2	7,14	-	-

В контрольной группе на 2-е сутки после удаления зуба самопроизвольная боль исчезала у только у 39,3% пациентов, а боль при пальпации – у 11,3% больных. Явления гиперемии слизистой и умеренный отек в области оперативного вмешательства исчезли лишь в 35,7% случаев. На 4-е сутки после операции 60,7% пациентов контрольной группы чувствовали себя удовлетворительно (без самопроизвольной боли в области оперативного вмешательства), отсутствие боли при пальпации отмечали только половина (50%) осмотренных, отек и гиперемию слизистой оболочки отметили у 42,8% больных. При пальпации альвеолярного отростка в области оперированного

периимплантатного дефекта боль удерживалась до 7-х суток в 78,6% случаев, а незначительный отек сохранился у 14,3% пациентов контрольной группы.

В основной группе в 88,75% случае заживление послеоперационной раны происходило первичным натяжением, швы сняты на 10 сутки, только у 6,25% больных эпителизация раны затянулась на три недели (у всех этих больных имелись значительные по протяженности периимплантатные дефекты в области нескольких дентальных имплантатов). Других осложнений, а также случаев отторжения остеопластического материала, введенного в периимплантатный дефект, не зарегистрировано.

В контрольной группе в основной массе больных у 42,8 и 46,4% заживление раны произошло в сроки 10 и 14 суток соответственно. У одного пациента эпителизация раны заняла 21 сутки, в 7,14% случаев имело место частичное расхождение краев раны без нагноения.

Неосложненное течение послеоперационного периода и отсутствие воспалительных осложнений после замещения периимплантатного дефекта резорбируемой двухфазной смесью из 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата, с активатором склейки гранул Bio Linker, а также в комбинации с гиалуроновой кислотой обусловлены, обусловлено, на наш взгляд, выраженным остеорепаративным эффектом биоматериала и его компонентов.

Исследование состояния альвеолярных отростков в зоне периимплантатного дефекта в отдаленные сроки наблюдения показали отсутствие выраженности атрофических процессов в альвеолярном отростке челюстей. При проведении рентгенологической оценки состояния заживления костной раны челюстей в основной группе в динамике оказалось, что уже через 1 месяц в заполненном исследуемым биоматериалом периимплантатном дефекте определялись признаки остеогенеза. На рентгенограммах визуализировалась нежная сетка новообразованной костной ткани, в которой прослеживались различной контрастности тени частиц имплантированного биоматериала. В этот период еще определялись контуры стенок дефекта с

признаками резорбции его краев. Через 3 месяца вокруг дентального имплантата рентгенологически выявлялся четкий крупнопетлистый рисунок костной ткани губчатого строения, который контурировался на всю глубину альвеолярного отростка. Контуры стенок периимплантатного дефекта на это время уже не прослеживались. Край альвеолярного отростка оставался ровным, высота его сохранена (рисунок 5.11).



Рисунок 5.11 – Контуры стенок периимплантатного дефекта в основной группе через 1 (а) и 3 (б) месяца после подсадки резорбируемой двухфазной смеси из 60% ГАП и 40% ТКФ с активатором склейки гранул Bio Linker

К исходу 6-го месяца наблюдения после операции перестройка новообразованной костной ткани усиливалась: периимплантатные дефекты заполнялись костной тканью однородной строения и рентгенологически уже не отличались от окружающей кости, отмечалось сохранение высоты гребня альвеолярного отростка (рисунок 5.12 – а). Через 12 месяцев после операции у всех пациентов основной группы рентгенологически выявлено сохранение высоты альвеолярного отростка в оперированной области, в проекции периимплантатного дефекта определялась однородно плотная, высокоминерализованная структура костной ткани, которая практически не отличалась от окружающей кости альвеолярного отростка (рисунок 5.13 – б).

В контрольной группе в вышеперечисленные сроки наблюдения 1, 3, 6 и 12 месяцев динамика костеобразования в периимплантатном дефекте, который заживал под кровяным сгустком, подобной динамикой не отличалась.

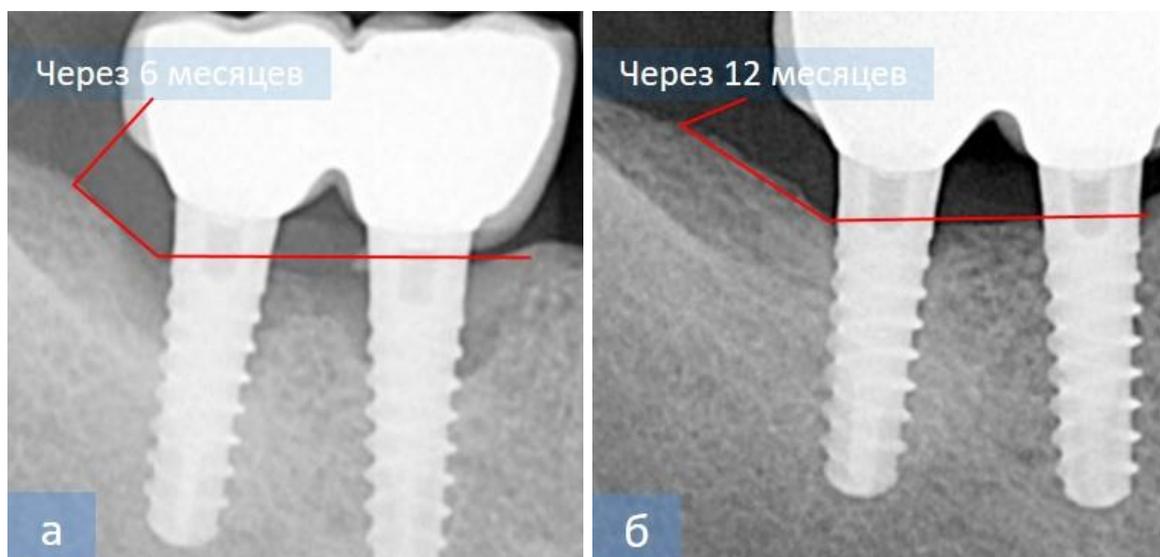


Рисунок 5.12 – Контуры стенок периимплантатного дефекта в основной группе через 1 (а) и 3 (б) месяца после подсадки резорбируемой двухфазной смеси из 60% ГАП и 40% ТКФ с активатором склейки гранул Bio Linker

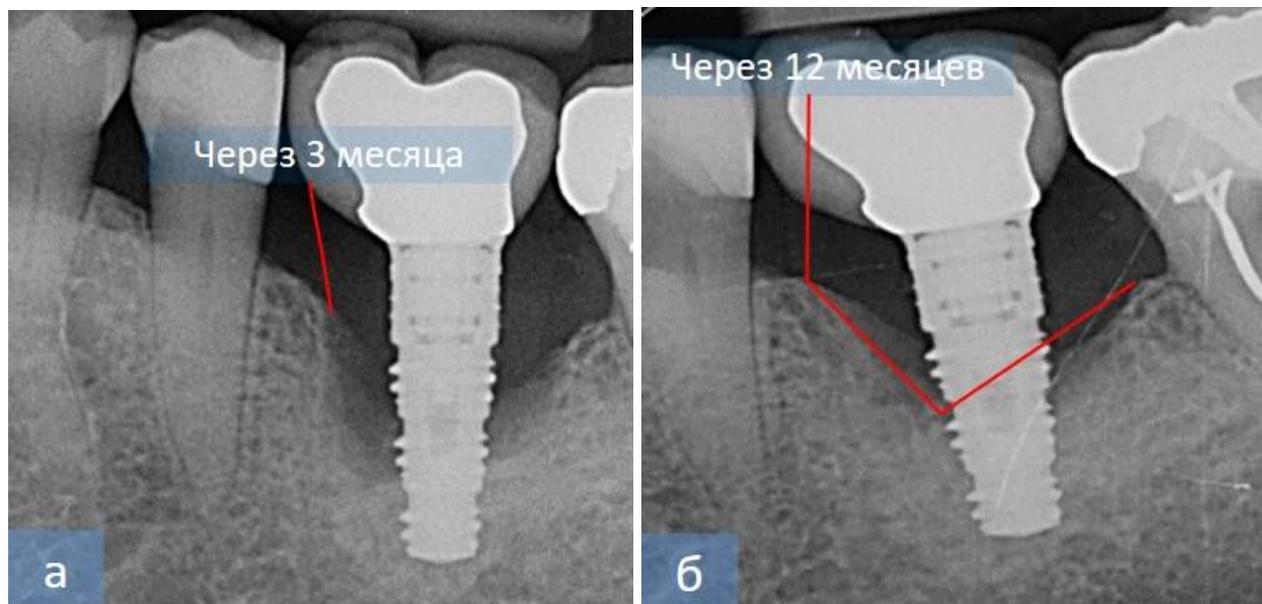


Рисунок 5.13 – Контуры стенок периимплантатного дефекта в котнрольной группе через 3 (а) и 12 (б) месяцев после операции

У пациентов контрольной группы прирост новообразованной костной ткани происходил крайне медленно, а рентгенологический ее рисунок мало

походил на петлистую трабекулярную структуру нативной кости челюсти. Даже к 12-и месяцам наблюдений ощутимого выполнения костной тканью периимплантатного дефекта не наблюдалось, а полного замещения оперированной области новообразованной костной тканью не зарегистрировано ни у одного пациента контрольной группы даже через 2 года после вмешательства.

Таким образом, результаты проведенного рентгенологического исследования у пациентов основной группы показали полное и качественное восстановление структуры костной ткани в области периимплантатного дефекта в течение 3-6 месяцев после операции. Эти данные объективно свидетельствуют, выраженном остеорепаративном эффекте использованного остеопластического биоматериала на основе ГАП, ТКФ и гиалуроновой кислоты.

Резюме

Полученные результаты клинических, рентгенологических, эхоостеометрических и биохимических исследований пациентов после оперативного лечения периимплантита с остеопластикой периимплантатных полостей резорбируемой двухфазной смесью из 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата, с активатором склейки гранул Bio Linker, а также в комбинации с гиалуроновой кислотой, позволяют сделать вывод о том, что использованный остеопластический биоматериал создает благоприятные условия для активизации восстановительных процессов в ранние сроки после операции. Он активно участвует в процессах остеорегенерации и способствует быстрому восстановлению структуры костной ткани, предотвращает возникновение атрофии и вторичной деформации альвеолярного отростка челюстей, улучшает условия для дальнейшего протезирования или дентальной имплантации. Будучи биологически активным остеопластическим материалом, он не вызывает негативных изменений в биохимическом балансе и не нарушает гомеостаз организма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как наглядно продемонстрировали полученные результаты экспериментального и клинического исследований, оперативное лечение периимплантита с остеопластикой периимплантатных дефектов челюстных костей резорбируемой двухфазной смесью из 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата, с активатором склейки гранул Bio Linker, а также в комбинации с гиалуроновой кислотой, способствует быстрой репаративной регенерации, причем образованная на базе регенерата костная ткань становится зрелой значительно быстрее, чем при заживлении раны под кровяным сгустком.

Как показали результаты проведенного экспериментального исследования гистологических и иммуногистохимических особенностей регенерации костной ткани в периимплантатных дефектах, замещаемых синтетическим биоматериалом по безмембранной технологии, имплантированный биоматериал для заполнения периимплантатного дефекта обладает не только биосовместимостью, но и остеоиндукцией. Установлено, что имплантация исследуемого биоматериала в сочетании с гиалуроновой кислотой непосредственно в периимплантатный дефект челюстной кости, помимо воздействия на костную дифференцировку, стимулирует аутогенный неоваскулогенез, что подтверждается активной пролиферацией клеток при реакции с антителом Ki67⁺, выявляющих клетки на стадии деления. Высокую репаративную активность тканей в замещаемом биоматериалом периимплантатном дефекте подтвердило обнаружение в костном регенерате CD34⁺ клеток, поскольку способностью к экспрессии данного белка обладают только зрелые клетки. Помимо этого, к 30-60-м суткам эксперимента отличительной чертой репаративного процесса в первой и второй группах стала выявляемая с помощью специфического маркера гамма-энолазы (NSE) нейроэндокринная дифференцировка клеток нейроэктодермального происхождения, что является, по нашему мнению, прямым подтверждением интенсификации процессов нео- и ангиогенеза в кости.

В процессе морфометрического исследования выявлены не только более быстрое, чем в контрольной группе формирование костной ткани, о чем указано выше, но и более качественная вторичная перестройка новообразованных костных структур, биодegradация самих гранул композитного материала. Следует отметить, что образование костных структур в регенерате через хрящевую стадию не проходило, наоборот, отмечалось формирование капсулы с клетками мезенхимального происхождения вокруг имплантированного остеопластического материала, что значительно ускорило процессы регенерации.

Иммуногистохимические исследования показали, что в исследуемых образцах отмечался активный аутогенный неоваскулогенез, наиболее выраженный в группе, где дополнительно вводили гиалуроновую кислоту, за счет присутствия стволовых клеток гемопоэтического происхождения, а также накопления в клетках стрессорного белка – виментина, повышенную выработку которого следует отнести к приспособительной реакции организма по повышению устойчивости окружающих клеток к патофизиологическим изменениям, происходящим вокруг имплантированного биоматериала.

На этом фоне в контрольной группе заживление искусственно воспроизведенных дефектов происходило с образованием патологических очагов гемопоэтической рыхлой соединительной ткани, что указывает на преждевременное перерождение костного мозга в жировое тело с ослизнением вследствие гипоксии тканей из-за отека, нарушения васкуляризации и истощения костного мозга и его декомпенсации. К 180-м суткам наблюдения в центре и по периферии периимплантатного дефекта наряду с репарацией тканей обнаруживалась желатинозная трансформация гемопоэтической соединительной ткани с образованием отеков, дезорганизацией волокон и вакуолизации аморфного вещества кости.

Результаты экспериментальных исследований дают основания утверждать о более активной регенерации в периимплантатных дефектах челюстей, заполненных исследуемым биоматериалом: на всех сроках

исследования, наблюдалась четкая интеграция композиции пластического материала в структурах костного регенерата с последующей их биodeградацией и постепенным замещением костной тканью, уже к 60-м суткам в основной группе установлено наличие сформированной органотипической структуры костной ткани во всех дефектах.

Таким образом, результаты экспериментального исследования позволили обоснованно использовать резорбируемую двухфазную смесь из 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата, с активатором склейки гранул и с гиалуроновой кислотой, как биосовместимый остеотропный материал, оптимально стимулирующий процессы репаративного остеогенеза, в клинических условиях.

Вышеназванный остеопластический биоматериал применялся у 80 пациентов (44 мужчин и 36 женщин) с периимплантатными дефектами (ПД). Контрольную группу составили 28 больных, у которых периимплантатный дефект вели под кровяным сгустком. В основной группе больных оперативные вмешательства проведены в периимплантатных дефектах в области 114 дентальных имплантатов, в контрольной группе – в области 40 дентальных имплантатов. Процессы остeорегенерации в ПД, протекающие в различные сроки после операции дентальной имплантации, оценивали по клиническому течению, по результатам рентгенологических, эхоостеометрических и биохимических исследований сразу при обращении, после операции и в отдаленные сроки.

По результатам динамического рентгенологического исследования, установлено, что из 40 обследованных пациентов первой основной группы у 65,8% полное восстановление костной ткани в области операции состоялось до 6-и месячного срока, у 24,3% - через 9 месяцев, у 8,9% - через 12 месяцев после операции. Из 40 больных 2-ой основной группы (где использовали комбинацию биоматериала с гиалуроновой кислотой) у 62,8% полное восстановление костной ткани в области операции состоялось до 6-и месячного срока, у 35,4% - через 9 месяцев, у 1,8% - через 12 месяцев после операции. Данные результаты

не обладают статистически значимым эффектом ($p > 0,05$) и зависят, по-нашему мнению, в основном, от размера периимплантатного дефекта, а также в меньшей степени – от возраста, пола и характера жевательных нагрузок и состояния жевательного аппарата в целом.

Следует отметить, что репарация костной ткани в области одиночных периимплантатных дефектов закончилась у всех пациентов основной группы к 6-и месяцам после проведенного оперативного вмешательства, причем у части из них основной прирост новообразованной кости пришелся на первых 3-и месяца после операции.

У пациентов с большими по протяженности периимплантатными дефектами челюстей (в области 2 и более дентальных имплантатов) регенерация костной ткани закончилась в сроки до 6 месяцев только у 15,4%, у остальных 84,6% пациентов – она завершилась в срок 12 месяцев.

Результаты эхоостеометрических исследований показали, что при заполнении периимплантатных дефектов челюстей исследуемым биоматериалом происходят активные процессы репаративного костеобразования по минерализации регенерата, поэтому скорость распространения ультразвуковой волны костью росла пропорционально с уменьшением пористости костной структуры и формированием зрелой кости. Таким образом, установленные изменения интенсивности репаративной регенерации в области замещаемых биоматериалом периимплантатных дефектов, оцениваемой по динамике показателей скорости распространения ультразвука в челюстных костях как перед хирургическим вмешательством, так и в отдаленные сроки после операции, полностью коррелируют с клинико-рентгенологической характеристикой процессов остеорегенерации.

Биохимическое исследование специфических маркеров костных метаболических процессов - свободного 4-гидроксипролина, как маркера катаболизма коллагена и белково-связанного 4-гидроксипролина, как маркера биосинтеза коллагена, показало, что уже в самые ранние сроки после использования резорбируемой смеси ГАП и ТКФ с активатором склейки и

гиалуроновой кислотой (начиная с 3-х суток после операции) наблюдается перехода от стадии резорбции в стадии биосинтеза коллагена.

Таким образом, использование в клинике резорбируемой двухфазной смеси из 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата, с активатором склейки гранул Bio Linker, а также в комбинации с гиалуроновой кислотой для устранения периимплантатных дефектов челюсти, положительно влияет на репаративный остеогенез и оптимизирует процессы репаративной регенерации челюстных костей уже в самые в ранние сроки после операции, а нормализация биохимических показателей коррелирует с результатами клинико-рентгенологических и эхоостеометрических исследований.

ВЫВОДЫ

1. Результаты экспериментальной апробации остеопластического материала, состоящего из резорбируемой двухфазной смеси 60% гидроксиапатита кальция, 40% β -трикальцийфосфата с активатором склейки гранул на модели стандартного дефекта нижней челюсти кролика, показали, что компоненты биоматериала не вызывают патологических реакций в окружающей костной ткани, рассасываются синхронно с построением костного репарата, чем обуславливается полное замещение костного дефекта мозолью, которая перестраивается в зрелую кость. Добавление в резорбируемую двухфазную смесь гидроксиапатита кальция и β -трикальцийфосфата с активатором склейки гранул Bio Linker гиалуроновой кислоты потенцирует остеостимулирующий эффект всей композиции и ускоряет репаративный остеогенез.

2. В результате проведения опытно-конструкторских и экспериментальных исследований разработана экспериментальная модель периимплантата на крупных животных (овцы), позволяющая исключить летальность подопытных субъектов, отличающаяся от прототипа коротким сроком формирования патологической модели (30 суток) с большим объемом окружающих тканей, доступных для исследования.

3. В результате исследования гистологических и иммуногистохимических особенностей регенерации костной ткани верхней и нижней челюстей в экспериментальных периимплантатных дефектах, замещаемых синтетическим биоматериалом, состоящем из резорбируемой двухфазной смеси 60% гидроксиапатита кальция, 40% β -трикальцийфосфата с активатором склейки гранул по безмембранной технологии установлено, что наиболее активный аутогенный неоваскулогенез, репарация тканей и нейроэндокринная дифференцировка клеток нейроэктодермального происхождения (подтвержденные с помощью антител Ki67⁺, CD34⁺ и NSE⁺ соответственно),

отмечена в препаратах 2-ой группы, где имплантированный животным биоматериал сочетали с гиалуроновой кислотой.

4. На основании анализа клинико-рентгенологических исследований установлено, что использование резорбируемой двухфазной смеси 60% гидроксиапатита кальция, 40% β -трикальцийфосфата с активатором склейки гранул отдельно и в сочетании с гиалуроновой кислотой приводит к полному восстановлению костной ткани в области периимплантатного дефекта до 6-и месячного срока у 65,8 и 62,8%, через 9 месяцев - у 24,3 и 35,4%, через 12 месяцев - у 8,9 и 1,8% больных соответственно.

Результаты эхоостеометрических исследований указывают на то, что при заполнении периимплантатных дефектов челюстей исследуемым биоматериалом основной прирост новообразованной кости приходится на первые 3 месяца, в дальнейшем при уменьшении пористости костных структур, скорость распространения ультразвуковой волны растет пропорционально увеличению степени минерализация регенерата.

5. Результаты биохимических исследований метаболизма коллагена показали, что применение для устранения периимплантатных дефектов челюсти резорбируемой двухфазной смеси из 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата, с активатором склейки гранул Bio Linker, а также в комбинации с гиалуроновой кислотой в основной группе пациентов положительно влияло на репарационный остеогенез в ранние сроки после операции и оптимизировало процессы репаративной регенерации челюстных костей, обеспечивая переход от стадии резорбции к стадии биосинтеза коллагена уже с 3-х суток после операции.

Установлено, что применение исследуемого биоматериала для пластики периимплантатного дефекта не влияет на ферментативную активность аминотрансфераз и, соответственно, не имеет токсического воздействия на организм пациентов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для пластики периимплантатных костных дефектов в области денальных имплантатов, установленных на верхней челюсти, рекомендуется применять резорбируемую двухфазную смесь из 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата, с активатором склейки гранул Bio Linker.
2. Для пластики периимплантатных костных дефектов в области денальных имплантатов, установленных на нижней челюсти, рекомендуется применять резорбируемую двухфазную смесь из 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата, с активатором склейки гранул Bio Linker в комбинации с гиалуроновой кислотой.
3. Рекомендуется применять резорбируемую двухфазную смесь из 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата, с активатором склейки гранул Bio Linker в комбинации с гиалуроновой кислотой по безмембранной технологии вне зависимости от глубины и протяженности периимплантатного дефекта костной ткани.
4. Исходя из полученных данных о скорости минерализации и уменьшения пористости костных структур в области замещаемого биоматериалом периимплантатного дефекта, рекомендуется ограничение жевательных нагрузок в течение 3-х месяцев после операции.
5. Процессы остеорегенерации в периимплантатных дефектах, замещаемых резорбируемой двухфазной смесью из 60% гидроксиапатита кальция и 40% β -трикальцийфосфата, с активатором склейки гранул Bio Linker в комбинации с гиалуроновой кислотой по безмембранной технологии, в различные сроки после операции денальной имплантации, рекомендуется оценивать по результатам рентгенологических, эхоостеометрических и биохимических исследований сразу при обращении, после операции и в отдаленные сроки – через 3, 6 и 12 месяцев.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АсАТ – аспаргатаминотрансфераза;
- АлАТ – аланинаминотрансфераза;
- БСГП – белково-связанный 4-гидроксипролин, мкмоль/л;
- ВЧ – верхняя челюсть;
- ГК – гиалуроновая кислота;
- ГАП – гидроксиапатит кальция;
- ЕМА – эпителиальный мембранный антиген (Е29);
- ИГХ – иммуногистохимическая реакция;
- КТ – компьютерная томография;
- КФ – кислая фосфатаза;
- КПА – кроличьи поликлональные антитела;
- ММА – моноклональные мышинные антитела;
- ОПА – общая протеолитическая активность;
- ПД – периимплантатный дефект;
- НЧ – нижняя челюсть;
- СГП – свободный 4-гидроксипролин, мкмоль/л;
- ЭООМ – ультразвуковая эхоостеометрия;
- β -ТКФ – бета-трикальцийфосфат;
- Ki-67 – маркер пролиферирующих клеток на стадии интерфазы;
- CD34 – маркер эндотелиальных и гемопоэтических стволовых клеток;
- V9 – маркер мезенхимальных клеток (виментин).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аверьянов С.В. Профилактика периимплантатного мукозита у пациентов группы риска путем оптимизации индивидуальной гигиены полости рта / Аверьянов С.В., Якупов Б.А., Гуляева О.А. // Dental Forum. - 2020. - № 4 (79). - С. 6-7.
2. Азарова, О.А. Современные аспекты применения остеопластических материалов в хирургической стоматологии / Азарова О.А., Азарова Е.А., Харитонов Д.Ю., Подопригора А.В., Шевченко Л.В. // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. - 2019. - Т. 42. - №2. - С. 215-223.
3. Акбаров, А.Н. Альтернативные биоматериалы, предназначенные для остеозамещения: получение и тестирование / Акбаров А.Н., Туляганов Ж.Ш., Туляганов Д.У. // Стоматология для всех. - 2016. - №3. - С. 40-44.
4. Архипенко, В.И. Эксперимент: влияние натурального кальций-фосфатного соединения на свойства биоинертных имплантационных материалов / Архипенко В.И., Сергеев К.С., Бычков В.Г., Игнатов В.П., Твердохлебов С.И. // Медицинская наука и образование Урала. - 2018. - Т. 19. - №1(93). - С. 63-67.
5. Балин, В.Н. Остеостимулирующее действие ксеногенного костного материала на репаративный остеогенез (экспериментально-морфологическое исследование) / Балин В.Н., Балин Д.В., Иорданишвили А.К., Музыкин М.И. // Стоматология. - 2015. - Т. 94. - №2. - С. 5-9.
6. Барабаш, Ю.А. Динамика цитокинового профиля в оценке эффективности разных методов стимуляции репаративного остеогенеза в эксперименте / Барабаш Ю.А., Барабаш А.П., Богомолова Н.В., Кауц О.А. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. - 2015. - №6-2. - С. 234-238.

7. Берченко, Г.Н. Использование композиционного материала коллапан в травматологии и ортопедии для активизации репаративного остеогенеза / Берченко Г.Н., Кесян Г.А. // Гены и Клетки. - 2017. - Т.12. - №3. - С. 42-43.
8. Блок Майкл С. Дентальная имплантология: хирургические аспекты. Перевод с английского, под общей редакцией М.В. Ломакина. Москва: МЕД пресс-информ, 2015 – 286 с.
9. Булкин, А.А. Применение регенеративных и остеоиндуктивных технологий в практической медицине / Булкин А.А., Боков А.Е., Олейник А.Я., Млявых С.Г. // Нейрохирургия. - 2017. - №2. - С. 88-95.
10. Бунев, А.А. Результаты непосредственной дентальной имплантации с немедленной нагрузкой и обоснование протокола методом математического моделирования / Бунев А.А., Мураев А.А., Гажва Ю.В., Мухаметшин Р.Ф., Иванов С.Ю., Тетерин А.И., Пенина Я.С., Старостин П.В. // Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. - 2018. - Т. 20. - №9. - С. 62-69.
11. Васильев, А.В. Сравнение кинетики высвобождения импрегнированного костного морфогенетического белка-2 из биополимерных матриц / Васильев А.В., Бухарова Т.Б., Кузнецова В.С., Загоскин Ю.Д., Минаева С.А., Григорьев Т.Е., Антонов Е.Н., Осидак Е.О., Галицына Е.В., Бабиченко И.И., Домогатский С.П., Попов В.К., Чвалун С.Н., Гольдштейн Д.В., Кулаков А.А. // Перспективные материалы. - 2019. - №4. - С. 13-27.
12. Ведяева, А.П. Исследование молекулярных механизмов репаративно-регенеративных процессов в ране при стимуляции хитозаном / Ведяева А.П., Булкина Н.В., Иванов П.В., Зюлькина Л.А., Зудина И.В. // Пародонтология. - 2017. - Т.22. - №4(85). - С. 35-39.
13. Виноградова, А.В. Эффективность применения тоннельной реваскуляризации пародонта как компонента комплексной терапии хронического генерализованного пародонтита / Виноградова А.В., Молоков В.Д., Кальк Е.А., Сучилина М.И. // European Journal of Technical and Natural Sciences. - 2018. - №6. - С. 24-27.

14. Гилев, М.В. Лабораторный мониторинг ремоделирования костной ткани при аугментировании импрессионного внутрисуставного перелома с использованием разных типов остеозамещающих материалов / Гилев М.В., Базарный В.В., Волокитина Е.А., Полушина Л.Г., Максимова А.Ю., Казакова Я.Е. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2019. - Т.167. - №5. - С. 626-630.
15. Годована, О.И. Аспекты применения остеопластических материалов в пародонтальной хирургии на фоне особенностей репаративного остеогенеза / Годована О.И. // Стоматология. Эстетика. Инновации. - 2018. - Т.2. - №1. - С. 136-151.
16. Головина, Е.С. Клинико-рентгенологическая диагностика периимплантного мукозита и дентального периимплантита хронического течения / Головина Е.С., Кузнецова Е.А., Глуштенко В.П., Садыков М.И. // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. - 2014. - Т.16 - № 6. - С. 330-335.
17. Гребнев, Г.А. Оценка костного регенерата после удаления радикулярной кисты нижней челюсти / Гребнев Г.А., Бородулина И.И., Ягубов Г.М., Чернегов В.В., Тегза Н.В. // Инфекции в хирургии. - 2015. - Т. 13. - №1. - С. 27-30.
18. Гребнев, Г.А. Профилактика инфекционно-воспалительных осложнений после операции удаления зуба у военнослужащих с применением антисептического гидрогеля / Гребнев Г.А., Иорданишвили А.К., Музыкин М.И., Лысков Н.В., Коровин Н.В. // Военно-медицинский журнал. - 2019. - Т.340. - №4. - С. 76-77.
19. Гребнев, Г.А. Оценка биосовместимости резорбируемых мембран на основе поливинилового спирта с добавлением фуллеренов C60 / Гребнев Г.А., Иванов А.С., Кабаньков А.В., Мнацаканов С.С., Берлин Ю.И. // Институт стоматологии. - 2019. - №1(82). - С. 120-121.
20. Профилактика воспалительных осложнений при дентальной имплантации у пациентов с заболеваниями пародонта / Гуляева О.А., Аверьянов С.В., Якупов Б.А. // Dental Forum. - 2021. - № 2 (81). - С. 42-49.

21. Деев, Р.В. Ранние стадии регенерационного гистогенеза в периостальной части костной мозоли у человека / Деев Р.В., Плакса И.Л., Мавликеев М.О., Бозо И.Я., Абызова М.С. // Морфология. - 2018. - Т.153. - №2. - С. 63-69.
22. Десятниченко, К.С. Увеличение объема костной ткани при дентальной имплантации с использованием остеопластических материалов / Десятниченко К.С., Грицаюк В.Б., Курдюмов С.Г., Тимонина Е.В. // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. - 2018. - Т.8. - №3. - С. 19-20.
23. Дубров, В.Э. Возможности получения и применения биоматериалов на основе гидрогелей для регенерации костной ткани человека / Дубров В.Э., Климашина Е.С., Щербаков И.М., Шипунов Г.А., Путляев В.И., Евдокимов П.В., Тихонов А.А., Гулько С.В., Зюзин Д.А. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. - 2019. - Т.21. - №3. - С. 141-150.
24. Егиазарян, К.А. Ранние результаты изучения репаративных особенностей различных костнопластических материалов в экспериментально созданных костных дефектах / Егиазарян К.А., Лазишвили Г.Д., Акматалиев К.И., Эттингер А.П., Ратьев А.П., Волков А.В., Коробушкин Г.В., Поливода М.Д. // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. - 2017. - №2. - С.40-47.
25. Ешиев, А.М. Оценка репаративного остеогенеза переломов нижней челюсти при помощи ультразвуковой эхоостеометрии / Ешиев А.М., Осумбеков Б.З., Мырзашева Н.А. // Вестник Ошского государственного университета. - 2019. - №3. - С.47-50.
26. Ефимов, Ю.В. Обоснование использования отечественного остеопластического материала bio-ost в клинике хирургической стоматологии / Ефимов Ю.В., Стоматов Д.В., Ефимова Е.Ю., Стоматов А.В., Смоленцев Д.В., Долгова И.В., Киреев П.В. // Медицинский алфавит. - 2019. - Т.2. - №11(386). - С.11-14.
27. Зорина, О.А. Диагностическая информативность определения остеомаркеров в сыворотке крови при хроническом генерализованном пародонтите средней и тяжелой степени / Зорина О.А., Абаев З.М., Магомедов

- Р.Н., Проходная В.А., Максюкова Е.С. // Стоматология. - 2019. - Т. 98. - №1. - С. 17-20.
28. Зюлькина, Л.А. Выбор способа функционального нагружения имплантата - немедленная, ранняя, отсроченная нагрузка / Зюлькина Л.А., Макарова Н.И., Грызункова Ю.Е., Патева Ю.Н., Криушин А.Е. // Авиценна. - 2018. - №20. - С.8-13.
29. Иванов, С.Ю. Исследование нового биокomпозиционного остеопластического материала на основе костного минерального компонента, гиалуроновой кислоты и сульфатированных гликозаминогликанов / Иванов С.Ю., Ларионов Е.В., Семенова Ю.А., Рябова В.М. // Российский вестник дентальной имплантологии. - 2015. - Т.31. - №1. - С. 14.
30. Иванов, С.Ю. Исследование влияния нового биокomпозиционного материала на основе гиалуроновой кислоты и недеминерализованного костного коллагена на восстановление костных дефектов / Иванов С.Ю. // Российский вестник дентальной имплантологии. - 2016. - Т.2. - №34. - С. 21.
31. Изосимова, А.Э. Морфологические изменения костной ткани в условиях репаративной регенерации при применении интрамедуллярных фиксаторов с покрытием нитридами титана и гафния / Изосимова А.Э. // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. - 2016. - №1(57). - С.59-61.
32. Иорданишвили, А.К. Опыт применения современного отечественного остеорепаративного материала в хирургической стоматологии / Иорданишвили А.К., Музыкин М.И., Шенгелия Е.В., Поплавский Д.В. // Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. - 2016. - №1. - С. 26-31.
33. Иорданишвили, А.К. Характеристика профессиональной подготовки стоматологов по увеличению объема альвеолярных отростков (частей) челюстей с целью последующей дентальной имплантации / Иорданишвили А.К., Музыкин М.И., Поплавский Д.В. // Кубанский научный медицинский вестник. - 2017. - №1(162). - С.48-53.

34. Ирьянов, Ю.М. Репаративный остеогенез при лечении полостного дефекта кости в условиях имплантации трехмерных сетчатых конструкций из никелида титана / Ирьянов Ю.М., Кирьянов Н.А., Дюрягина О.В. // Морфология. - 2016. - Т.150. - №5. - С.47-52.
35. Киселевский, М.В. Остеоиммунология и биосовместимость костных имплантатов / Киселевский М.В., Анисимова Н.Ю., Мартыненко Н.С., Ситдикова С.М., Добаткин С.В., Караулов А.В., Эстрин Ю.З. // Иммунология. - 2018. - Т.39. - №5-6. - С.305-311.
36. Кобзева, Ю.А. Тактивин, содержащий колапол, в репаративном остеогенезе / Кобзева Ю.А., Парфенова С.В. // Морфология. - 2018. - Т.153. - №3. - С.136-137.
37. Колин, М.Н. Применение остеопластического материала на основе ксеногенной костной ткани в челюстно-лицевой хирургии и его преимущества / Колин М.Н., Илюнина О.О., Бахтурин Н.А., Кузнецова Н.К. // Современные тенденции развития науки и технологий. - 2016. - №4-3. - С.22-24.
38. Корж, Н.А. Инновационные методы оптимизации регенерации кости: мезенхимальные стволовые клетки (сообщение 2) (обзор литературы) / Корж Н.А., Воронцов П.М., Вишнякова И.В., Самойлова Е.М. // Ортопедия, травматология и протезирование. - 2018. - №1(610). - С.105-116.
39. Крутько, В.К. Термические превращения в композитах на основе гидроксиапатита и диоксида циркония / Крутько В.К., Кулак А.И., Мусская О.Н. // Неорганические материалы. - 2017. - Т.53. - №4. - С.427-434.
40. Кулаков, А.А. Современные подходы к применению метода дентальной имплантации при атрофии и дефектах костной ткани челюстей / Кулаков А.А., Гветадзе Р.Ш., Брайловская Т.В., Харьковская А.А., Дзиковицкая Л.С. // Стоматология. - 2017. - Т. 96. - №1. - С. 43-45.
41. Кулаков, А.А. Факторы, влияющие на остеоинтеграцию и применение ранней функциональной нагрузки для сокращения сроков лечения при дентальной имплантации / Кулаков А.А., Каспаров А.С., Порфенчук Д.А. // Стоматология. - 2019. - Т. 98. - №4. - С. 107-115.

42. Курманбеков, Н.О. Современные аспекты оптимизации восстановления костных дефектов челюстей / Курманбеков Н.О., Ешиев А.М. // Новая наука: От идеи к результату. - 2016. - №4-2. - С.25-31.
43. Курманалина, М.А. Клинико-рентгенологическая эффективность лечения хронического периодонтита двухфазным кальций-фосфатным биоматериалом / Курманалина М.А., Ураз Р.М., Омарғали А.Е. // Вестник Казахского Национального медицинского университета. - 2019. - №1. - С.245-249.
44. Лабутова, А.В. Материалы к разработке модифицированной реконструктивной методики лечения хронического периимплантита / Лабутова А. В., Ломакин М. В., Солощанский И. И. // Пародонтология. - 2019. - Т.24. - №4. - С.294-300.
45. Лебедянцев, В.В. Морфофункциональная характеристика костной ткани альвеолярных отростков (частей) в условиях хронической одонтогенной инфекции / Лебедянцев В.В., Шевлюк Н.Н., Лебедянцева Т.В., Ханов И.А. // Журнал анатомии и гистопатологии. - 2018. - Т.7. - №2. - С.39-43.
46. Литвинов, Ю.Ю. Получение костных имплантатов и имплантационных препаратов с антимикробными свойствами на основе стерильного деминерализованного костного матрикса / Литвинов Ю.Ю. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. - 2019. - Т.22. - №3. - С.21-30.
47. Лузин, В.И. Применение медикаментозных препаратов для оптимизации репаративного остеогенеза / Лузин В.И., Кочьян А.Л. // Морфологический альманах имени В.Г. Ковешникова. - 2018. - Т.16. - №2. - С.83-89.
48. Лукин, А.В. Стимуляция остеогенной пластической функции в периодонте наноматериалом /Лукин А.В. // Международный студенческий научный вестник. - 2019. - № 5-2. - С. 27.
49. Лунева, С.Н. Изменение гематологических показателей кроликов после введения в искусственно созданный костный дефект имплантационных материалов на основе ксеноматрикса костной ткани лошади / Лунева С.Н.,

Шипицына И.В., Чепелева М.В., Дюрягина О.В., Ковинька М.А. // Современные проблемы науки и образования. - 2018. - №6. - С.88-90.

50. Майбородин, И.В. Морфологические результаты имплантации полигидроксиалканоата в состоянии ультратонких волокон с адсорбированными мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками / Майбородин И.В., Михеева Т.В., Хоменюк С.В., Ярин Г.Ю., Вильгельми И.А., Майбородина В.И., Шевела А.И. // Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. - 2019. - Т.22. - №2(69). - С.35-47.

51. Марков, А.Д. Современные рентгеновские методы изучения костной ткани в экспериментальных исследованиях на животных / Марков А.Д., Наумов М.М., Алекберов А.И., Хамитова И.Р., Козлов М.В., Мокин Е.Д., Лукашенко А.В., Тяпкин А.В., Фидоматова З.Ш. // Уральский медицинский журнал. - 2019. - №9(177). - С.142-150.

52. Матчин, А.А. О влиянии окситоцина на репаративный остеогенез нижней челюсти крыс / Матчин А.А., Стадников А.А., Носов Е.В., Кириакиди С.Х. // Морфология. - 2019. - Т.155. - №2. - С.192-193.

53. Матчин, А.А. Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика процессов заживления экспериментальных переломов нижней челюсти / Матчин А.А., Стадников А.А., Носов Е.В., Кириакиди С.Х. // Журнал анатомии и гистопатологии. - 2019. - Т.8. - №1. - С.44-48.

54. Мирзакулова, У.Р. Клинико-рентгенологическое обоснование использования нового композитного материала в хирургическом лечении экспериментального пародонтита / Мирзакулова У.Р., Русанов В.П., Борихан Е.А. // Вестник Казахского Национального медицинского университета. - 2019. - №1. - С. 254-259.

55. Митронин, А.В. Комплексное лечение пациентов с множественными очагами воспаления периапикальных тканей зубов / Митронин А.В., Робустова Т.Г., Манак Т.Н., Лебедев К.А., Понякина И.Д. // Современная стоматология. - 2018. - №4(73). - С.68-74.

56. Михальченко, Д.В. Проблема воспаления в периимплантитных тканях и факторы, влияющие на его течение / Михальченко Д.В. Яковлев А.Т., Бадрак Е.Ю., Михальченко А.В. // Волгоградский научно-медицинский журнал. - 2015. - № 4(48). - С. 15-17.
57. Москаленко, С.В. Система гемостаза у крыс при изолированном и сочетанном воздействии мексидола и гипоксической гипоксии с использованием метода тромбоэластографии / Москаленко С.В. // Фундаментальные и прикладные исследования: проблемы и результаты. - 2016. - №27. - С.34-43.
58. Мирсаева, Ф.З. Ближайшие и отдаленные результаты хирургического лечения хронического генерализованного пародонтита с применением трансплантационных технологий / Мирсаева Ф.З., Гилёва О.С., Мирсаев Т.Р., Либик Т.В., Губайдуллин Р.Д., Белиевская Р.Р. // Уральский медицинский журнал. - 2018. - №7(162). - С.35-38.
59. Мураев, А.А. Новый подход к объемной реконструкции сложных дефектов альвеолярной кости / Мураев А.А., Гажва Ю.В., Ивашкевич С.Г., Рябова В.М., Короткова Н.Л., Семенова Ю.А., Мецуку И.Н., Файзуллин Р.Л., Иванов С.Ю. // Современные технологии в медицине. - 2017. - Т. 9. - №2. - С. 37-45.
60. Мусиенко, А.И. Профилактические гигиенические мероприятия после репаративного остеогенеза у больных хроническим генерализованным пародонтитом / Мусиенко А.И., Нестерова К.И., Мусиенко А.А. // Пародонтология. - 2019. - Т.24. - №2. - С.179-183.
61. Нигматуллин, Р.Т. Эластиновый биоматериал как индуктор остеогенеза / Нигматуллин Р.Т., Кутушев Р.З., Мотыгуллин Б.Р. // Практическая медицина. - 2017. - Т.2. - №9(110). - С.149-151.
62. Нуритдинов, Р.М. Сокращение сроков регенерации костной ткани альвеолярного отростка челюстей с использованием наночастиц серебра / Нуритдинов Р.М., Юлдашев И.М. // Институт стоматологии. - 2017. - №3(76). - С.102-103.

63. Овчинников, Е.Н. Стимуляция остеогенеза постоянным электрическим током (обзор литературы) / Овчинников Е.Н., Стогов М.В. // Травматология и ортопедия России. - 2019. - Т.25. - №3. - С.185-191.
64. Оноприенко, Г.А. Регенерация костной ткани: теоретические и клинические аспекты / Оноприенко Г.А., Волошин В.П., Шевырев К.В. // Гены и Клетки. - 2017. - Т.12. - №3. - С.268-272.
65. Панахов, Н.А. Иммунологические маркеры остеоинтеграции дентальных имплантатов / Панахов Н.А., Махмудов Т.Г., Гусейнли Р.А. // Пародонтология. - 2017. - Т.22. - №4(85). - С.56-59.
66. Панкратов, А.С. Проблемы биоинтеграции микро-и нанокристаллического гидроксиапатита и подходы к их решению / Панкратов А.С., Фадеева И.С., Минайчев В.В., Кирсанова П.О., Сенотов А.С., Юрасова Ю.Б., Акатов В.С. // Гены и Клетки. - 2018. - Т.13. - №3. - С.46-51.
67. Петров, И.Ю. Морфогистохимические исследования остеопластического материала на основе гиалуроновой кислоты, хондроитинсульфата и недеминерализованного костного коллагена для восстановления костных дефектов в эксперименте / Петров И.Ю., Ларионов Е.В., Ипполитов Ю.А., Бут Л.В., Петров А.И. // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. - 2018. - №3. - С.41-46.
68. Плехова, Н.Г. Структурные особенности ремоделирования тканей, прилежащих к области остеорепарации, при использовании титановых имплантатов / Плехова Н.Г., Невзорова В.А., Кабалык М.А., Угай Л.Г., Костив Р.Е., Майстровская Ю.В., Гнеденков С.В., Синебрюхов С.Л., Пузь А.В. // Морфология. - 2019. - Т.155. - №3. - С.57-65.
69. Плюхин, Д.В. Экспериментальная модель периимплантита / Плюхин Д.В., Асташина Н.Б., Соснин Д.Ю., Мудрова О.А. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2019. - Т.63. - №2. - С.153-158.
70. Поворознюк, В.В. Влияние кальцитонина на репаративную регенерацию костной ткани / Поворознюк В.В., Дедух Н.В., Макогончук А.В. // Травма. - 2014. - Т.15. - №4. - С.30-34.

71. Походенько-Чудакова, И.О. Определение тяжести течения периимплантита на основании данных морфологического исследования в эксперименте / Походенько-Чудакова И.О., Шевела Т.Л., Кабак С.Л. // Медицинский журнал. - 2018. - №4(66). - С.77-81.
72. Рахимов, З.К. Совершенствование методов лечения радикулярных кист челюстей / Рахимов З.К., Чиргалиев М.Ж., Пулатова Ш.К. // Биология и интегративная медицина. - 2019. - №2(30). - С.5-15.
73. Рачков, А.А. Обоснование исследования микробной контаминации при направленной регенерации тканей челюстей / Рачков А.А. // Военная медицина. - 2018. - №4(49). - С.129-133.
74. Резник, Л.Б. Морфологическая оценка остеоинтеграции различных имплантов при замещении дефектов длинных костей (экспериментальное исследование) / Резник Л.Б., Ерофеев С.А., Стасенко И.В., Борзунов Д.Ю. // Гений ортопедии. - 2019. - Т.25. - №3. - С.318-323.
75. Розанов, В.В. Современное состояние и перспективные инновационные направления развития способов стерилизации биоимплантатов / Розанов В.В., Матвейчук И.В. // Альманах клинической медицины. - 2019. - Т.47. - №7. - С.634-646.
76. Сафарова, Я.Ю. Перспективные подходы лечения низкоэнергических травматических повреждений костной ткани с использованием методов биоинженерии и клеточной терапии / Сафарова Я.Ю., Олжаев Ф.С., Умбаев Б.А., Еркебаева А.С., Каренкина А.С., Котов И.В., Russell A.J., Аскарлова Ш.Н. // Наука и здравоохранение. - 2019. - Т.21. - №5. - С.68-80.
77. Сергеев, Ю.А. Применение остеопластического материала в сочетании с мембраной для регенерации костной ткани вследствие различных хирургических вмешательств в челюстно-лицевой области / Сергеев Ю.А. // Аллея науки. - 2018. - Т.3. - №8(24). - С.330-334.
78. Слугина, А.Г. Оптимизация репаративного остеогенеза челюсти при старении (доклиническое исследование) / Слугина А.Г., Иорданишвили А.К.,

- Сериков А.А., Самсонов В.В., Рыжак Г.А. // Успехи геронтологии. - 2016. - Т.29. - №1. - С.128-133.
79. Силантьева, Т.А. Экспериментальное моделирование и стимуляция заживления внутрисуставного повреждения у крыс / Силантьева Т.А., Краснов В.В., Кубрак Н.В. // Успехи современного естествознания. - 2015. - №9-3. - С. 471-475.
80. Силантьева, Т.А. Регенерация кости в области ортотопической алло- и ксенотрансплантации / Силантьева Т.А., Накоскин А.Н., Накоскина Н.В., Талашова И.А. // Практическая медицина. - 2019. - Т.17. - №1. - С.80-81.
81. Соломных, А.В. Osteопластические материалы, применение в клинической практике / Соломных А.В., Лазарева Ж.И., Мамчиц Е.В. // Университетская медицина Урала. - 2019. - Т.5. - №2(17). - С.39-41.
82. Султанов, А.А. Физико-химические свойства имплантатов и их взаимодействие с окружающими тканями и средами полости рта (обзор литературы) / Султанов А.А., Первов Ю.Ю., Яценко А.К. // Вятский медицинский вестник. - 2019. - №2(62). - С.80-86.
83. Сучков, Д.И. Морфологическая характеристика репаративного остеогенеза при использовании кораллово-кровяной смеси в эксперименте / Сучков Д.И., Юнеман О.А., Савельева М.В., Павлов А.В. // Наука молодых (Eruditio Juvenium). - 2018. - Т.6. - №4. - С.524-531.
84. Урузбаев, Р.М. Регенеративные свойства тканей и органов, факторы ускорения репаративных процессов (обзор литературы) / Урузбаев Р.М., Силантьева Т.А., Горбач Е.Н., Бычков В.Г., Южакова Е.А. // Медицинская наука и образование Урала. - 2017. - Т.18. - №1(89). - С.171-178.
85. Уша, Б.В. Морфологические изменения эритроцитов при репаративном остеогенезе у кроликов / Уша Б.В., Концевая С.Ю., Луцай В.И., Фатеева Е.И. // Международный вестник ветеринарии. - 2015. - №4. - С.62-67.
86. Фролова, Е.Н. Заживление костного дефекта в челюсти кроликов под влиянием ксено-генных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга, культивированных на титановых носителях / Фролова Е.Н., Мальгинов Н.И.,

- Григорьян А.С., Киселева Е.В., Докторов А.А., Матвеева В.Н., Воложин А.И. // Российский стоматологический журнал. - 2008. - №3. - С.12-14.
87. Цзяци, Л. Применение мезенхимальных стволовых клеток при внутрикостной имплантации. Особенности динамических морфологических изменений в эксперименте на животных / Цзяци Л., Чикунов С.О., Бовэнь Я. // Клиническая стоматология. - 2019. - №3(91). - С.50-55.
88. Чунихин, А.А. Морфологическая оценка влияния низкоэнергетического наносекундного лазерного излучения на репаративный остеогенез в эксперименте / Чунихин А.А., Базикян Э.А., Чобанян А.Г. // Российская стоматология. - 2018. - Т.11. - №1. - С.29-31.
89. Чунихин, А.А. Влияние лазерного излучения на репаративный остеогенез и ремоделирование костной ткани челюстно-лицевой области. Часть 2 / Чунихин А.А., Базикян Э.А. // Пародонтология. - 2018. - Т.23. - №4(89). - С.22-26.
90. Шищук, В.Д. Нарушения репаративного остеогенеза при дегидратации и их коррекция в эксперименте / Шищук В.Д., Редько С.И., Огиенко М.Н., Овечкин Д.В., Томин Л.В. // Новости хирургии. - 2018. - Т.26. - №5. - С.526-534.
91. Шудрик, А.В. Влияние стромально-васкулярной фракции жировой ткани на репаративный остеогенез у животных / Шудрик А.В., Киселев И.Г., Безин А.Н. // АПК России. - 2019. - Т.26. - №1. - С.105-110.
92. Шурыгина, Е.И. Морфофункциональные изменения в щитовидной и паращитовидных железах в ходе репаративного остеогенеза / Шурыгина Е.И., Полякова В.С., Миханов В.А. // Журнал анатомии и гистопатологии. - 2018. - Т.7. - №2. - С.90-94.
93. Щербовских, А.Е. Способ оперативного доступа к нижней челюсти в эксперименте на кролике / Щербовских А.Е. // Патент на изобретение RUS №2550128. Заявка №2014106369/14 от 21.02.2014. Оpubл. 10.05.2015.
94. Щетинин, Е.В. Оценка механизмов минерализации костной ткани в различные стадии репаративного остеогенеза в условиях лекарственного ультрафонофореза / Щетинин Е.В., Сирак С.В., Петросян Г.Г., Кочкарова З.М.,

Андреев А.А., Гарус Я.Н., Перикова М.Г. // Медицинский вестник Северного Кавказа. - 2019. - Т.14. - №1-2. - С.260-264.

95. Akhlaghi, F., Hesami, N., Rad, M.R., Nazeman, P., Fahimipour, F., Khojasteh, A. Improved bone regeneration through amniotic membrane loaded with buccal fat pad-derived MSCs as an adjuvant in maxillomandibular reconstruction. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2019; 47(8):1266-1273. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2019.03.030>.

96. Alayan, J., Ivanovski, S. Biological and technical outcomes of restored implants after maxillary sinus augmentation - Results at 1-year loading. *Clinical Oral Implants Research*. 2019;30(9):849-860. <https://doi.org/10.1111/clr.13489>.

97. Ali, I.H., Khalil, I.A., El-Sherbiny, I.M. Phenytoin/sildenafil loaded poly(lactic acid) bilayer nanofibrous scaffolds for efficient orthopedics regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019; 136: 154-164. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.048>.

98. Almohandes, A., Carcuac, O., Abrahamsson, I., Lund, H., Berglundh, T. Re-osseointegration following reconstructive surgical therapy of experimental peri-implantitis. A pre-clinical in vivo study. *Clinical Oral Implants Research*. 2019; 30(5), c. 447-456. <https://doi.org/10.1111/clr.13430>.

99. Acevedo, C.A., Olguín, Y., Briceño, M., Jaques, A., Ortiz, R. Design of a biodegradable UV-irradiated gelatin-chitosan/nanocomposed membrane with osteogenic ability for application in bone regeneration. *Materials Science and Engineering*. 2019;2(99):875-886. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.01.135>.

100. Baheiraei, N., Nourani, M.R., Mortazavi, S.M.J., Movahedin, M., Eyni, H., Bagheri, F., Norahan, M.H. Development of a bioactive porous collagen/ β -tricalcium phosphate bone graft assisting rapid vascularization for bone tissue engineering applications. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*. 2018; 106(1):73-85. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36207>.

101. Bastami, F., Paknejad, Z., Jafari, M., Salehi, M., Rezai Rad, M., Khojasteh, A. Fabrication of a three-dimensional β -tricalcium-phosphate/gelatin containing chitosan-based nanoparticles for sustained release of bone morphogenetic protein-2:

- Implication for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering*. 2017; 72:481-491. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.10.084>
102. Berglundh, T., Armitage, G., Araujo, M.G., Avila-Ortiz, G., Blanco, J., Camargo, P.M., Chen, S., Zitzmann, N. Peri-implant diseases and conditions: Consensus report of workgroup 4 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of Clinical Periodontology*. 2018; 45: S286-S291. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12957>.
103. Bierbaum, S., Mulansky, S., Bognár, E., Kientzl, I., Nagy, P., Vrana, N.E., Weszl, M., Wolf-Brandstetter, C. Osteogenic nanostructured titanium surfaces with antibacterial properties under conditions that mimic the dynamic situation in the oral cavity. *Biomaterials Science*. 2018; 6(6):1390-1402. <https://doi.org/10.1039/c8bm00177d>
104. Carral, C., Muñoz, F., Permuy, M., Liñares, A., Dard, M., Blanco, J. Mechanical and chemical implant decontamination in surgical peri-implantitis treatment: preclinical “in vivo” study. *Journal of Clinical Periodontology*. 2018; 43(8):694-701. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12566>.
105. Chavda, S., Levin, L. Human studies of vertical and horizontal alveolar ridge augmentation comparing different types of bone graft materials: A systematic review. *Journal of Oral Implantology*. 2018; 44 (1):74-84. <https://doi.org/10.1902/jop.2010.100235>.
106. Chen, C., Feng, P., Slots, J. Herpesvirus-bacteria synergistic interaction in periodontitis. *Periodontology* 2000. 2020; 82(1):42-64. <https://doi.org/10.1111/prd.12311>
107. Chourifa, H., Bouloussa, H., Migonney, V., Falentin-Daudré, C. Review of titanium surface modification techniques and coatings for antibacterial applications. *Acta Biomaterialia*. 2019; 83: 37-54. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.10.036>.
108. Christiaens, V., De Bruyn, H., Thevissen, E., Dierens, M., Cosyn, J. Assessment of periodontal bone level revisited: a controlled study on the diagnostic accuracy of clinical evaluation methods and intra-oral radiography. *Clinical Oral Investigations*. 2018; 22(1): 425-431. <https://doi.org/10.1007/s00784-017-2129-8>

109. Corbella, S., Taschieri, S., Francetti, L., Weinstein, R., del Fabbro, M. Histomorphometric results after postextraction socket healing with different biomaterials: A systematic review of the literature and meta-analysis. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 2017; 32(5):1001-1017. <https://doi.org/10.11607/jomi.5263>.
110. Datta, L.P., Manchineella, S., Govindaraju, T. Biomolecules-derived biomaterials. *Biomaterials*. 2020; 230:119633. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119633>.
111. Danesh-Sani, S.A., Engebretson, S.P., Janal, M.N. Histomorphometric results of different grafting materials and effect of healing time on bone maturation after sinus floor augmentation: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Periodontal Research*. 2017; 52(3):301-312. <https://doi.org/10.1111/jre.12402>.
112. Decco, O., Zuchuat, J., Farkas, N. Improvement of Cr-Co-Mo membrane surface used as barrier for bone regeneration through UV photofunctionalization: An in vitro study. *Materials*. 2017; 10(7): 825. <https://doi.org/10.3390/ma10070825>.
113. Delgado-Ruiz, R.A., Calvo Guirado, J.L., Romanos, G.E. Bone grafting materials in critical defects in rabbit calvariae. A systematic review and quality evaluation using ARRIVE guidelines. *Clinical Oral Implants Research*. 2018; 29(6): 620-634. <https://doi.org/10.1111/clr.12614>
114. Dereka, X., Calciolari, E., Donos, N., Mardas, N. Osseointegration in osteoporotic-like condition: A systematic review of preclinical studies. *Journal of Periodontal Research*. 2018;53(6):933-940. <https://doi.org/10.1111/jre.12566>.
115. Dey, R.E., Wimpenny, I., Gough, J.E., Watts, D.C., Budd, P.M. Polyvinylphosphonic acid-co-acrylic acid) hydrogels: The effect of copolymer composition on osteoblast adhesion and proliferation. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*. 2018; 106(1):255-264. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36234>
116. Ding, L., Zhang, P., Wang, X., Kasugai, S. A doxycycline-treated hydroxyapatite implant surface attenuates the progression of peri-implantitis: A

radiographic and histological study in mice. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. 2019; 21(1):154-159. <https://doi.org/10.1111/cid.12695>.

117. Dreyer, H., Grischke, J., Tiede, C., Eberhard, J., Schweitzer, A., Toikkanen, S.E., Glöckner, S., Stiesch, M. Epidemiology and risk factors of peri-implantitis: A systematic review. *Journal of Periodontal Research*. 2018; 53 (5): 657-681. <https://doi.org/10.1111/jre.12562>.

118. Efimov, Y.V., Stomatov D.V., Efimova E.Y., Dolgova I.V., Stomatova I.A. Treatment of patients with unilateral oblique fracture of the lower jaw. *Sciences of Europe*. 2018; 1(24): 38-42. <https://doi.org/10.1155/cic.8763>.

119. Eliaz, N., Metoki, N. Calcium phosphate bioceramics: A review of their history, structure, properties, coating technologies and biomedical applications. *Materials*. 2017; 10(4): 334. <https://doi.org/10.3390/ma10040334>

120. Fomin, I.V., Ivanov S.Yu., Dmitrienko S.V., Domenyuk D.A., Lepilin A.V. Efficiency of osseointegration properties manifestation in dental implants with hydroxyapatite plasma coating. *Archiv EuroMedica*. 2019; 2(9): 138-139. <https://doi.org/10.1139/675>

121. Fahimipour, F., Bastami, F., Khoshzaban, A., Dashtimoghadam, E., Tayebi, L. Critical-sized bone defects regeneration using a bone-inspired 3D bilayer collagen membrane in combination with leukocyte and platelet-rich fibrin membrane (L-PRF): An in vivo study. *Tissue and Cell*. 2020; 63: 154-166. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2019.101326>

122. Francolini, I., Vuotto, C., Piozzi, A., Donelli, G. Antifouling and antimicrobial biomaterials: an overview. *APMIS*. 2017; 125(4): 392-417. <https://doi.org/10.1111/apm.12675>.

123. Gellrich, N.-C., Rahlf, B., Zimmerer, R., Pott, P.-C., Rana, M. A new concept for implant-borne dental rehabilitation; how to overcome the biological weak-spot of conventional dental implants? *Head and Face Medicine*. 2017; 13(1): 17. <https://doi.org/10.1186/s13005-017-0151-3>

124. Gong, J., Yang, L., He, Q., Jiao, T. In vitro evaluation of the biological compatibility and antibacterial activity of a bone substitute material consisting of

silver-doped hydroxyapatite and Bio-Oss. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*. 2018; 106(1):410-420. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33843>.

125. Guler, B., Uraz, A., Yalim, M., Bozkaya, S. The Comparison of Porous Titanium Granule and Xenograft in the Surgical Treatment of Peri-Implantitis: A Prospective Clinical Study. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. 2017; 19(2): 316-327. <https://doi.org/10.1111/cid.12453>

126. Hanser, T., Khoury, F. Alveolar ridge contouring with free connective tissue graft at implant placement: A 5-year consecutive clinical study. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*. 2016; 36(4):465-473. <https://doi.org/10.11607/prd.2730>.

127. Huang, B., Zhang, L., Xu, L., Coelho, P.G., Meng, H. Effect of implant placement depth on the peri-implant bone defect configurations in ligature-induced peri-implantitis: An experimental study in dogs. *Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal*. 2018; 23(1): e30-e37. <https://doi.org/10.4317/medoral.22032>

128. Heitz-Mayfield, L.J.A., Salvi, G.E., Mombelli, A., Loup, P.-J., Heitz, F., Kruger, E., Lang, N.P. Supportive peri-implant therapy following anti-infective surgical peri-implantitis treatment: 5-year survival and success. *Clinical Oral Implants Research*. 2018; 29(1): 1-6.

129. Helgeland, E., Shanbhag, S., Pedersen, T.O., Mustafa, K., Rosén, A. Scaffold-Based Temporomandibular Joint Tissue Regeneration in Experimental Animal Models: A Systematic Review. *Tissue Engineering - Part B: Reviews*. 2018; 24(4): 300-316 <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2017.0429>

130. Hosseinpour, S., He, Y., Nanda, A., Ye, Q. MicroRNAs Involved in the Regulation of Angiogenesis in Bone Regeneration. *Calcified Tissue International*. 2019; 105(3): 223-238. <https://doi.org/10.1007/s00223-019-00571-8>

131. Iviglia, G., Kargozar, S., Baino, F. Biomaterials, current strategies, and novel nano-technological approaches for periodontal regeneration. *Journal of Functional Biomaterials*. 2019;10(1):3-10. <https://doi.org/10.3390/jfb10010003>

132. Ishack, S., Mediero, A., Wilder, T., Ricci, J.L., Cronstein, B.N. Bone regeneration in critical bone defects using three-dimensionally printed β -tricalcium phosphate/hydroxyapatite scaffolds is enhanced by coating scaffolds with either dipyridamole or BMP-2. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*. 2017; 105(2):366-375. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33561>.
133. Isler, S.C., Soysal, F., Ceyhanlı, T., Bakırarar, B., Unsal, B. Regenerative surgical treatment of peri-implantitis using either a collagen membrane or concentrated growth factor: A 12-month randomized clinical trial. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. 2018; 20(5): 703-712. <https://doi.org/10.1111/cid.12661>.
134. Jaber, H., Kovacs, T. Selective laser melting of Ti alloys and hydroxyapatite for tissue engineering: Progress and challenges. *Materials Research Express*. 2019; 6(8):082003. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/ab1dee>.
135. Jayasree, R., Sampath Kumar, T.S., Perumal, G., Doble, M. Drug and ion releasing tetracalcium phosphate based dual action cement for regenerative treatment of infected bone defects. *Ceramics International*. 2018; 44(8):9227-9235 <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.02.133>.
136. Jiao, P., Chen, F., Jin, Q. Comprehensive treatment of anterior esthetic zone in patient with loosening and falling of teeth induced by severe periodontitis: A case reeport and literature review. *Journal of Jilin University Medicine Edition*. 2018; 2(44): 421-424. <https://doi.org/10.13481/j.1671-587x.20180241>.
137. Jinno, Y., Johansson, K., Stocchero, M., Stavropoulos, A., Becktor, J.P. Impact of salivary contamination during placement of implants with simultaneous bony augmentation in iliac bone in sheep. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2019;57(10): 1131-1136. <https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2019.10.302>.
138. Johansson, K., Jimbo, R., Östlund, P., Tranæus, S., Becktor, J.P. Effects of bacterial contamination on dental implants during surgery: A systematic review. *Implant Dentistry*. 2017; 26(5):778-789. <https://doi.org/10.1097/ID.0000000000000660>

139. Klimecs, V., Grishulonoks, A., Salma, I., Saurina, E., Skagers, A. Bone Loss around Dental Implants 5 Years after Implantation of Biphasic Calcium Phosphate (HAp/ β TCP) Granules. *Journal of Healthcare Engineering*. 2018; 4(80):49-52. <https://doi.org/10.1155/2018/4804902>
140. Klinge, B., Klinge, A., Bertl, K., Stavropoulos, A. Peri-implant diseases. *European Journal of Oral Sciences*. 2019;126:88-94. <https://doi.org/10.1111/eos.12529>.
141. Kloss, F.R., Offermanns, V., Kloss-Brandstätter, A. Comparison of allogeneic and autogenous bone grafts for augmentation of alveolar ridge defects. A 12-month retrospective radiographic evaluation. *Clinical Oral Implants Research*. 2019; 29(11), c. 1163-1175 <https://doi.org/10.1111/clr.13380>.
142. Lai, Y., Li, Y., Cao, H., Long, J., Wang, X., Li, L., Li, C., Qin, L. Osteogenic magnesium incorporated into PLGA/TCP porous scaffold by 3D printing for repairing challenging bone defect. *Biomaterials*. 2019; 197:207-219. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.01.013>.
143. La Monaca, G., Pranno, N., Annibali, S., Cristalli, M.P., Polimeni, A. Clinical and radiographic outcomes of a surgical reconstructive approach in the treatment of peri-implantitis lesions: A 5-year prospective case series. *Clinical Oral Implants Research*. 2018; 29(10): 1025-1037. <https://doi.org/10.1111/clr.13369>
144. Larsson, L., Decker, A.M., Nibali, L., Pilipchuk, S.P., Berglundh, T., Giannobile, W.V. Regenerative Medicine for Periodontal and Peri-implant Diseases. *Journal of Dental Research*. 2016; 95(3):255-266. <https://doi.org/10.1177/0022034515618887>.
145. Li, T., Wang, N., Chen, S., Lu, R., Li, H., Zhang, Z. Antibacterial activity and cytocompatibility of an implant coating consisting of TiO₂ nanotubes combined with a GL13K antimicrobial peptide. *International Journal of Nanomedicine*. 2017; 12: 2995-3007. <https://doi.org/10.2147/IJN.S128775>.
146. Li, F., Jiang, X., Shao, Z., Zhu, D., Luo, Z. Research progress regarding interfacial characteristics and the strengthening mechanisms of titanium

- alloy/Hydroxyapatite composites. *Materials*. 2018; 11(8):1391. <https://doi.org/10.3390/ma11081391>
147. Madi, M., Zakaria O., Kasugai S. Coated vs uncoated implants: bone defect configurations after progressive peri-implantitis in dogs. *The Journal of oral implantology*. 2016; 6(40): 661-669.
148. Mandarino, D., Luz, D., Moraschini, V., Rodrigues, D.M., Barboza, E.S.P. Alveolar ridge preservation using a non-resorbable membrane: randomized clinical trial with biomolecular analysis. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2018; 47(11), c. 1465-1473. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2018.06.011>.
149. Murakami, S., Miyaji, H., Nishida, E., Kawamoto, K., Miyata, S., Takita, H., Akasaka, T., Kawanami, M. Dose effects of beta-tricalcium phosphate nanoparticles on biocompatibility and bone conductive ability of three-dimensional collagen scaffolds. *Dental Materials Journal*. 2017; 36(5):573-583. <https://doi.org/10.4012/dmj.2016-295>
150. Neugebauer J., Kistler F., Kistler S., Vizethum F., Scheer M. Current treatment strategies for peri-implant diseases with antimicrobial photodynamic therapy using the helbo system. *Implantologie*. 2015; 39(23): 273-285.
151. Nikpour, P., Salimi-Kenari, H., Fahimipour, F., Rabiee, S.M., Imani, M., Dashtimoghadam, E., Tayebi, L. Dextran hydrogels incorporated with bioactive glass-ceramic: Nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering. *Carbohydrate Polymers*. 2018; 190:281-294.
152. Onizuka, S., Iwata, T. Application of periodontal ligament-derived multipotent mesenchymal Stromal cell sheets for periodontal regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019; 20(11): 2796. <https://doi.org/10.3390/ijms20112796>.
153. Otto, S., Kleye, C., Burian, E., Ehrenfeld, M., Cornelius, C.-P. Custom-milled individual allogeneic bone grafts for alveolar cleft osteoplasty. A technical note. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2017; 45(12): 1955-1961. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2017.09.011>

154. Polyzois, I. Treatment Planning for Periimplant Mucositis and Periimplantitis. *Implant Dentistry*. 2019; 28(2), c. 150-154. <https://doi.org/10.1097/ID.0000000000000869>.
155. Poli, P.P., Cicciu, M., Beretta, M., Maiorana, C. Peri-Implant Mucositis and Peri-Implantitis: A Current Understanding of Their Diagnosis, Clinical Implications, and a Report of Treatment Using a Combined Therapy Approach. *Journal of Oral Implantology*. 2017; 43(1):45-50. <https://doi.org/10.1563/aaid-joi-D-16-00082>
156. Prezas, P.R., Melo B.M.G., Costa L.C., Valente M.A., Graça M.P.F., Lança M.C., Ventura J.M.G., Pinto L.F.V. Tsdc and impedance spectroscopy measurements on hydroxyapatite, β -tricalcium phosphate and hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate biphasic bioceramics. *Applied Surface Science*. 2017; 4(24): 28-38.
157. Ramos, U.D., Suaid, F.A., Wikesjö, U.M.E., Taba, M., Novaes, A.B. Comparison between two antimicrobial protocols with or without guided bone regeneration in the treatment of peri-implantitis. A histomorphometric study in dogs. *Clinical Oral Implants Research*. 2018; 28(11):1388-1395. <https://doi.org/10.1111/clr.12998>
158. Rasouli, R., Barhoum, A., Uludag, H. A review of nanostructured surfaces and materials for dental implants: Surface coating, patterning and functionalization for improved performance. *Biomaterials Science*. 2018; 6(6):1312-1338. <https://doi.org/10.1039/c8bm00021b>
159. Renvert, S, Polyzois I. Treatment of pathologic peri-implant pockets. *Periodontol 2000*. 2018;1(76):180-190. <https://doi.org/10.1111/prd.12149>
160. Rodríguez-Rodríguez, R., Espinosa-Andrews, H., Velasquillo-Martínez, C., García-Carvajal, Z.Y. Composite hydrogels based on gelatin, chitosan and polyvinyl alcohol to biomedical applications: a review. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. 2020; 69(1):1-20. <https://doi.org/10.1080/00914037.2019.1581780>.
161. Rocuzzo, M., Layton, D.M., Rocuzzo, A., Heitz-Mayfield, L.J. Clinical outcomes of peri-implantitis treatment and supportive care: A systematic review.

- Clinical Oral Implants Research. 2018; 29: 331-350.
<https://doi.org/10.1111/clr.13287>
162. Sakkas, A., Wilde, F., Heufelder, M., Winter, K., Schramm, A. Autogenous bone grafts in oral implantology-is it still a "gold standard"? A consecutive review of 279 patients with 456 clinical procedures. *International Journal of Implant Dentistry*. 2017; 3(1): 23. <https://doi.org/10.1186/s40729-017-0084-4>.
163. Salaria, S., Sharma, I., Brar, N., Kaur, S. Diode laser and periodontal regeneration-assisted management of implant complications in anterior maxilla. *Contemporary Clinical Dentistry*. 2018; 9(1):114-119. https://doi.org/10.4103/ccd.ccd_626_17.
164. Sam, G., Madhavan Pillai, B.R. Evolution of barrier membranes in periodontal regeneration-"are the third generation membranes really here?". *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2014; 8(12):ZE14-ZE17. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/9957.5272>
165. Sanz-Esporrin, J., Blanco, J., Sanz-Casado, J.V., Muñoz, F., Sanz, M. The adjunctive effect of rhBMP-2 on the regeneration of peri-implant bone defects after experimental peri-implantitis. *Clinical Oral Implants Research*. 2019; 30(12):1209-1219. <https://doi.org/10.1111/clr.13534>.
166. Schwarz, F., Becker, J., Civale, S., Hazar, D., Iglhaut, T., Iglhaut, G. Onset, progression and resolution of experimental peri-implant mucositis at different abutment surfaces: A randomized controlled two-centre study. *Journal of Clinical Periodontology*. 2018;45(4): 471-483. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12868>.
167. Sirak, S.W., Entschladen F., Shchetinin E.W., Grimm W.D. Low-level laser irradiation (810 nm) with toluidinblue photosensitizer promotes proliferation and differentiation of human oral fibroblasts evaluated in vitro. *Journal of Clinical Periodontology*. 2015; 42 (S17):328a-328. <https://doi.org/10.1015/j.mb.2015.02.051>
168. Song, Y., Wan, L., Zhang, S., Du, Y. Biological response to recombinant human bone morphogenetic protein-2 on bone-implant osseointegration in ovariectomized experimental design. *Journal of Craniofacial Surgery*. 2019. 30(1), c. 141-144. <https://doi.org/10.1097/SCS.00000000000004992>

169. Shanbhag, S., Pandis, N., Mustafa, K., Nyengaard, J.R., Stavropoulos, A. Bone tissue engineering in oral peri-implant defects in preclinical in vivo research: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2018;12(1):336-349. <https://doi.org/10.1002/term.2412>.
170. Stasic, J.N., Miletic, V. Surface Modification of Dental Materials and Hard Tissues Using Nonthermal Atmospheric Plasma. *Lecture Notes in Networks and Systems*. 2020; 90: 119-138. https://doi.org/10.1007/978-3-030-30853-7_8.
171. Stacchi, C., Berton, F., Perinetti, G. Risk factors for peri-implantitis: effect of history of periodontal disease and smoking habits. A systematic review and meta-analysis. *J Oral Maxillofac Res*. 2016. 7:154-159. <https://doi.org/10.1067/j.bbm.2016.08.027>
172. Starch-Jensen, T., Aludden, H., Hallman, M., Christensen, A.-E., Mordenfeld, A. A systematic review and meta-analysis of long-term studies (five or more years) assessing maxillary sinus floor augmentation. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2018; 47(1):103-116. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2017.05.001>
173. Struillou, X., Fruchet, A., Rakic, M., Weiss, P., Soueidan, A. Evaluation of a hydrogel membrane on bone regeneration in furcation periodontal defects in dogs. *Dental Materials Journal*. 2018; 37(5): 825-834. <https://doi.org/10.4012/dmj.2017-238>.
174. Sun, Y., Zhao, Y.-Q., Zeng, Q., Tang, Z., Xu, F.-J. Dual-Functional Implants with Antibacterial and Osteointegration-Promoting Performances. *ACS Applied Materials and Interfaces*. 2019; 11(40):36449-36457. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b14572>.
175. Swain, S., Rautray, T.R. Silver doped hydroxyapatite coatings by sacrificial anode deposition under magnetic field. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2018; 28(10):160. <https://doi.org/10.1007/s10856-017-5970-z>.
176. Tanaka, T., Komaki, H., Chazono, M., Kitasato, S., Kakuta, A., Akiyama, S., Marumo, K. Basic research and clinical application of beta-tricalcium phosphate (β -

- TCP). Morphologie. 2017; 101(334):164-172.
<https://doi.org/10.1016/j.morpho.2017.03.002>
177. Tang, Z., Li, X., Tan, Y., Fan, H., Zhang, X. The material and biological characteristics of osteoinductive calcium phosphate ceramics. *Regenerative Biomaterials*. 2018; 5(1): 43-59. <https://doi.org/10.1093/rb/rbx024>
178. Tomasi, C., Regidor, E., Ortiz-Vigón, A., Derks, J. Efficacy of reconstructive surgical therapy at peri-implantitis-related bone defects. A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*. 2019;46(S21):340-356. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13070>.
179. Tong, X., Shi, Z., Xu, L., Li, Y., Wen, C. Degradation behavior, cytotoxicity, hemolysis, and antibacterial properties of electro-deposited Zn–Cu metal foams as potential biodegradable bone implants. *Acta Biomaterialia*. 2020; 102: 481-492. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.11.031>
180. Turer, Ç.C., Ballı U., Güven B. Fetuin-a, serum amyloid a and tumor necrosis factor alpha levels in periodontal health and disease. *Oral Diseases*. 2017; 3(23): 379-386. <https://doi.org/10.2219/j.jmb.2017.03.055>
181. Trueba, P., Chicardi, E., Rodríguez-Ortiz, J.A., Torres, Y. Development and implementation of a sequential compaction device to obtain radial graded porosity cylinders. *Journal of Manufacturing Processes*. 2020; 50(1): 142-153. <https://doi.org/10.1016/j.jmapro.2019.12.011>
182. Mao, Z., Gu, Y., Zhang, J., Cui, Y., Xu, T. Superior biological performance and osteoinductive activity of Si-containing bioactive bone regeneration particles for alveolar bone reconstruction. *Ceramics International*. 2020; 46(1):353-364. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.08.269>.
183. Verket, A., Lyngstadaas, S.P., Tiainen, H., Ronold, H.J., Wohlfahrt, J.C. Impact of particulate deproteinized bovine bone mineral and porous titanium granules on early stability and osseointegration of dental implants in narrow marginal circumferential bone defects. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2018; 47(8):1086-1094. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2018.02.007>.

184. Warrer K.B., Lang D., Karring N.P. Plaque-induced peri-implantitis in the presence or absence of keratinized mucosa. An experimental study in monkeys. *Clin. Oral Implants Res.* 1995; 6 (3):131-138.
185. Yang, H.-W., Tang, X.-S., Tian, Z.-W., Yang, W.-Y., Hu, J.-Z. Effects of nano-hydroxyapatite/ polyetheretherketone-coated, sandblasted, large-grit, and acid-etched implants on inflammatory cytokines and osseointegration in a peri-implantitis model in beagle dogs. *Medical Science Monitor.* 2018; 23:4601-4611. <https://doi.org/10.12659/MSM.914241>.
186. Zeng, J.-H., Qiu, P., Xiong, L., Zhang, T. Bone repair scaffold coated with bone morphogenetic protein-2 for bone regeneration in murine calvarial defect model: Systematic review and quality evaluation. *International Journal of Artificial Organs.* 2019; 42(7):325-337. <https://doi.org/10.1177/0391398819834944>.
187. Zhang, K., Zhang, B., Huang, C., Yu, Z., Xie, X. Biocompatibility and antibacterial properties of pure titanium surfaces coated with yttrium-doped hydroxyapatite. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials.* 2019; 100:103363. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2019.07.021>.

ПРИЛОЖЕНИЯ

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2765850

ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ
РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ПЕРИИМПЛАНТНОЙ ЗОНЫ
ЧЕЛЮСТНОЙ КОСТИ

Патентообладатели: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ставропольский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России) (RU), Сирак Сергей Владимирович (RU), Перикова Мария Григорьевна (RU), Рубникович Сергей Петрович (BY)*

Авторы: *Сирак Сергей Владимирович (RU), Перикова Мария Григорьевна (RU), Рубникович Сергей Петрович (BY), Гатило Ирина Анатольевна (RU), Кочкарова Зухра Магомедовна (RU), Андреев Антон Александрович (RU), Сирак Екатерина Сергеевна (RU)*

Заявка № 2020135133

Приоритет изобретения 14 июля 2020 г.

Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений
Российской Федерации 03 февраля 2022 г.Срок действия исключительного права
на изобретение истекает 26 октября 2040 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Изrael



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 765 850**⁽¹³⁾ **C1**

(51) МПК
A61K 6/00 (2006.01)
A61K 31/728 (2006.01)
A61K 31/737 (2006.01)
A61K 33/06 (2006.01)
A61K 33/42 (2006.01)
A61K 35/74 (2015.01)
A61P 1/02 (2006.01)

(12) **ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(52) СПК

A61K 6/00 (2021.05); A61K 31/728 (2021.05); A61K 31/737 (2021.05); A61K 33/06 (2021.05); A61K 33/42 (2021.05); A61K 35/74 (2021.05); A61P 1/02 (2021.05)

(21)(22) Заявка: 2020135133, 26.10.2020
с присоединением заявки №2019139895

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
26.10.2020

Дата регистрации:
03.02.2022

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 26.10.2020

(23) Дата поступления дополнительных материалов
к ранее поданной заявке: 14.07.2020,
2019139895 05.12.2019

(45) Опубликовано: 03.02.2022 Бюл. № 4

Адрес для переписки:

355021, г. Ставрополь, ул. Узорная, 12, Сирак
Сергею Владимировичу

(72) Автор(ы):

Сирак Сергей Владимирович (RU),
Перикова Мария Григорьевна (RU),
Рубникович Сергей Петрович (BY),
Гатило Ирина Анатольевна (RU),
Кочкарова Зухра Магомедовна (RU),
Андреев Антон Александрович (RU),
Сирак Екатерина Сергеевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Ставропольский
государственный медицинский университет"
Министерства здравоохранения Российской
Федерации (ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава
России) (RU),
Сирак Сергей Владимирович (RU),
Перикова Мария Григорьевна (RU),
Рубникович Сергей Петрович (BY)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2624873 C1, 07.07.2017. RU
2510740 C1, 10.04.2014. RU 2645072 C2,
15.02.2018. RU 2317088 C1, 20.02.2008. DE
69633195 D1, 23.09.2004. US 2010/297210 A1,
25.11.2010.

(54) **ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ПЕРИИМПЛАНТНОЙ
ЗОНЫ ЧЕЛЮСТНОЙ КОСТИ**

(57) Формула изобретения

Остеопластическая композиция для ремоделирования периимплантной зоны челюстной кости, включающая натуральные костнозамещающие компоненты, отличающаяся смесью синтетических костных минералов - синтетического гидроксипатита и β-трикальцийфосфата, натуральных костнозамещающих компонентов - костного коллагена и сульфатированных гликозаминогликанов, с добавлением смеси высокомолекулярной гиалуроновой кислоты «Ревидент+», комплексного препарата бактериофагов «Фагодент» и 1% препарата органического кремния при следующем соотношении компонентов, мас. %:

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2729651

ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ СУБАНТРАЛЬНОЙ АУГМЕНТАЦИИ

Патентообладатели: *Сирак Сергей Владимирович (RU), Гатило Ирина Анатольевна (RU), Рубникович Сергей Петрович (BY), Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ставропольский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России) (RU)*

Авторы: *см. на обороте*

Заявка № 2019139733

Приоритет изобретения 04 декабря 2019 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 11 августа 2020 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 04 декабря 2039 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19) **RU** (11) **2 729 651** (13) **C1**
 (51) МПК
A61C 8/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(52) СПК
A61C 8/00 (2020.02)

(21)(22) Заявка: 2019139733, 04.12.2019

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 04.12.2019

Дата регистрации:
 11.08.2020

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 04.12.2019

(45) Опубликовано: 11.08.2020 Бюл. № 23

Адрес для переписки:
 355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310,
 Медуниверситет, Научно-аналитический отдел,
 Молдовановой Л.С.

(72) Автор(ы):

Сирак Сергей Владимирович (RU),
 Гатило Ирина Анатольевна (RU),
 Рубникович Сергей Петрович (BY),
 Перикова Мария Григорьевна (RU),
 Андреев Антон Александрович (RU),
 Сирак Екатерина Сергеевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Сирак Сергей Владимирович (RU),
 Гатило Ирина Анатольевна (RU),
 Рубникович Сергей Петрович (BY),
 Федеральное государственное бюджетное
 образовательное учреждение высшего
 образования "Ставропольский
 государственный медицинский университет"
 Министерства здравоохранения Российской
 Федерации (ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава
 России) (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
 о поиске: Ларина О.Е. Применение клеевой
 остеопластической композиции МК-9М в
 комплексном лечении перфоративных
 верхнечелюстных синуситов. Автореф. дис.
 канд. мед. наук, Москва, 2005. RU 2469675 C1,
 20.12.2012. RU 2544804 C1, 20.03.2015. RU
 2539372 C1, 20.01.2015. RU 2397719 C1,
 27.08.2010. RU 2266720 C2, 27.12.2005. US
 20070254041 A1, 01.11.2007. WO (см. прод.)

(54) **ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ СУБАНТРАЛЬНОЙ АУГМЕНТАЦИИ**

(57) **Формула изобретения**

Остеопластическая композиция для субантральной аугментации, включающая клеевую основу МК-9М, отличающаяся тем, что дополнительно содержит гранулы пористого титана размером 0,1-0,3 мм с пористостью 80%, высокомолекулярную гиалуроновую кислоту, трикальцийфосфат, гидроксиапатит, дезоксирибонуклеат, Полисорб МП и рентгенконтрастное вещество, в массовом соотношении 3:2:1:1:1:1:1.

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**ПАТЕНТ**

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2730970

СПОСОБ СОЗДАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ПЕРИИМПЛАНТИТА

Патентообладатели: *Сирак Сергей Владимирович (RU), Щетинин Евгений Вячеславович (RU), Сирак Алла Григорьевна (RU), Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ставропольский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России) (RU)*

Авторы: *см. на обороте*

Заявка № 2019137611

Приоритет изобретения 21 ноября 2019 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 26 августа 2020 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 21 ноября 2039 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) **RU** (11) **2 730 970** (13) **C1**(51) МПК
G09B 23/28 (2006.01)
A61C 8/00 (2006.01)ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**(12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**(52) СПК
G09B 23/28 (2020.02); A61C 8/00 (2020.02)

(21)(22) Заявка: 2019137611, 21.11.2019

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
21.11.2019Дата регистрации:
26.08.2020

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 21.11.2019

(45) Опубликовано: 26.08.2020 Бюл. № 24

Адрес для переписки:

355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310,
Медуниверситет, Научно-аналитический отдел,
Молдовановой Л.С.

(72) Автор(ы):

Сирак Сергей Владимирович (RU),
Щетинин Евгений Вячеславович (RU),
Сирак Алла Григорьевна (RU),
Рубникович Сергей Петрович (BY),
Диденко Мария Олеговна (RU),
Перикова Мария Григорьевна (RU),
Кочкарова Зухра Магомедовна (RU),
Гатило Ирина Анатольевна (RU),
Андреев Антон Александрович (RU),
Сирак Екатерина Сергеевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Сирак Сергей Владимирович (RU),
Щетинин Евгений Вячеславович (RU),
Сирак Алла Григорьевна (RU),
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Ставропольский
государственный медицинский университет
"Министерства здравоохранения Российской
Федерации (ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава
России) (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2676649 C1 09.01.2019. BY 18168
C1 30.04.2014. СИРАК С.В. и др.
Патофизиологические реакции пульпы и
пародонта аутотрансплантированных зубов
в эксперименте, Медицинский вестник
Северного Кавказа, 2015, т.10, 4, с.419-424.
ПЛЮХИН Д.В. и др. Экспериментальная
модель перимплантита, Патологическая
физиология и экспериментальная терапия,
2019, 63 (см. прод.)**(54) СПОСОБ СОЗДАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ПЕРИИМПЛАНТИТА****(57) Формула изобретения**

Способ создания экспериментальной модели перимплантита, включающий нестабильность винтового дентального имплантата и воспаление, отличающийся тем, что у взрослой овцы Северо-Кавказской породы производят перфорацию кортикальной

«УТВЕРЖДАЮ»

Первый проректор - проректор по учебной деятельности ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор Ходжаян Анна Борисовна



« _____ 2023 г

АКТ

о внедрении в учебный процесс

Выводы и полученные результаты диссертационного исследования старшего лаборанта кафедры стоматологии А.А.Андреева на тему: «Эффективность регенерации костной ткани в периимплантатных дефектах челюстей (клинико-экспериментальное исследование)» внедрены в курс лекций и семинарских занятий кафедры патологической физиологии Ставропольского государственного медицинского университета Минздрава России.

Заведующий кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор

Е.В. Щетинин

Доцент кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, кандидат медицинских наук

Г.Г. Петросян



Щетинин Е.В., Петросян Г.Г.
 Отдел кадров
 ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России
 01 20 23 г.

«УТВЕРЖДАЮ»

Первый проректор - проректор по учебной
деятельности ФГБОУ ВО «Ставропольский
государственный медицинский университет»
Минздрава России, доктор медицинских
наук, профессор Ходжаян Анна Борисовна

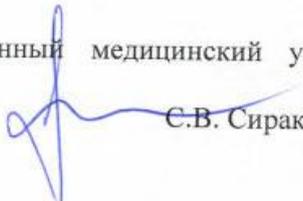
« _____ » 2023 г

АКТ

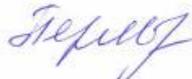
о внедрении в учебный процесс

Выводы и полученные результаты диссертационного исследования старшего лаборанта кафедры стоматологии А.А.Андреева на тему: «Эффективность регенерации костной ткани в периимплантатных дефектах челюстей (клинико-экспериментальное исследование)» внедрены в курс лекций и семинарских занятий кафедры стоматологии Ставропольского государственного медицинского университета Минздрава России.

Заведующий кафедрой стоматологии
ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет»
Минздрава России, доктор медицинских наук,
профессор

 С.В. Сирак

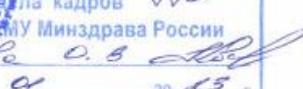
Доцент кафедры стоматологии
ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет»
Минздрава России,
кандидат медицинских наук

 М.Г.Перикова

Доцент кафедры стоматологии
ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет»
Минздрава России,
кандидат медицинских наук

 Н.Э. Будзинский



Сирак С.В., Перикова М.Г.,
Будзинский Н.Э.
Министерство кадров
ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет»
Минздрава России

20 15 г.



«УТВЕРЖДАЮ»
 Генеральный директор
 научно-производственного объединения
 «ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ
 И НОВЫХ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ»,
 доктор медицинских наук, профессор
 _____ С.В.Сирак
 «12» января 2023 г.

АКТ
о внедрении в учебный процесс

Выводы и полученные результаты диссертационного исследования Андреева Антона Александровича на тему: «Эффективность регенерации костной ткани в периимплантатных дефектах челюстей (клинико-экспериментальное исследование)» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.7. Стоматология внедрены в курс лекций и семинарских занятий кафедры стоматологии ООО НПО «Институт экспериментальной медицины и новых образовательных технологий».

Заведующая учебной частью кафедрой стоматологии
 ООО НПО «Институт экспериментальной медицины
 и новых образовательных технологий,
 кандидат медицинских наук, доцент

М.Г.Перикова

Доцент кафедры стоматологии
 ООО НПО «Институт экспериментальной медицины
 и новых образовательных технологий,
 кандидат медицинских наук, доцент

В.Н.Ленёв

Начальник управления
 правового обеспечения и кадровой политики
 ООО НПО «Институт экспериментальной медицины
 и новых образовательных технологий,
 кандидат медицинских наук

О.В.Мосенцова

«12» января 2023 г.

«УТВЕРЖДАЮ»
 Генеральный директор
 научно-производственного объединения
 «ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И
 НОВЫХ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ»,
 доктор медицинских наук, профессор

С.В. Сирак

«10» января 2023 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ в лечебную работу

1. Наименование предложения для внедрения «Эффективность регенерации костной ткани в периимплантатных дефектах челюстей (клинико-экспериментальное исследование)».
 2. Кем и когда предложено: ООО НПО "НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ "ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И НОВЫХ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ», А.А.Андреев, 2017-2022 гг.
 3. Источники информации:
 - ✓ Гистологический и иммуногистохимический профиль регенерации костной ткани в условиях ультрафонофореза гиалуроновой кислоты / С.В.Сирак, З.М.Кочкарова, А.А.Андреев, А.В.Баландина, Е.В.Щетинин // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2019. - 14(1.2). – С.242-247. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14025>.
 - ✓ Оценка механизмов минерализации костной ткани в различные стадии репаративного остеогенеза в условиях лекарственного ультрафонофореза / Е.В.Щетинин, С.В.Сирак, Г.Г.Петросян, З.М.Кочкарова, А.А.Андреев, Я.Н.Гарус, М.Г.Перикова // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2019. - 14(1.2). – С.260-264. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14029>.
 - ✓ Влияние гидроксиапатита кальция и β -трикальцийфосфата, модифицированных гиалуроновой кислотой на регенерацию костной ткани альвеолярного отростка челюсти при экспериментальном периимплантите / С.В.Сирак, С.П.Рубникович, Л.А.Григорьянц, М.М.Гарунов, Е.В.Щетинин, З.М.Кочкарова, А.А.Андреев // Клиническая стоматология. – 2019. - №4(92). – С.61-65.
 4. Где и когда внедрено: Научно-производственное объединение «ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И НОВЫХ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ» г. Ставрополь, ул. Узорная, 12.
 Общее количество наблюдений 25
 5. Результаты применения за период с января 2017 г. до февраля 2022 г.
 Положительные – 25, неопределенные – 0, отрицательные – 0.
 6. Эффективность внедрения: На основании исследования особенностей формирования костного регенерата и новообразования кости в периимплантатном дефекте, замещаемом резорбируемой двухфазной смесью ГАП и ТКФ с активатором склейки гранул и гиалуроновой кислотой, практическому здравоохранению предложен новый метод лечения, создающий благоприятные условия для активизации восстановительных процессов в ранние сроки после операции. Разработанный метод лечения позволяет ускорить процессы остеорегенерации и быстрого восстановления структуры костной ткани, предотвращает возникновение атрофии и вторичной деформации альвеолярного отростка челюстей, улучшает условия для дальнейшего протезирования или дентальной имплантации. Предложенный способ остеопластики позволяет получить качественно новые результаты лечения, добиться активизации и оптимизации остеогенеза при лечении периимплантита с полноценным восстановлением поврежденной костной ткани.
 7. Замечания, предложения: Методика заслуживает положительной оценки и может быть внедрена в практику.
- Ответственные за внедрение: Ур /А.Н. Урсова/ Рой /С.В. Рой/