

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

На правах рукописи

Мальчикова Дарья Вячеславовна

**Клинико-экспериментальное обоснование использования комбинированного
трансплантата для устранения костных дефектов альвеолярного отростка
верхней челюсти**

3.1.7. — Стоматология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, доцент
Слесарев Олег Валентинович

Самара, 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	16
1.1. Анатомо-физиологические особенности челюстей при устранении костных дефектов	16
1.2. Основные направления регенеративной медицины.....	20
1.3. Особенности регенерации костной ткани при использовании костнопластических материалов.....	24
1.4. Гранулированные костнопластические материалы и их свойства.....	34
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	38
2.1. Дизайн исследования.....	38
2.2. Клинический этап исследования пациентов с дефектами кости альвеолярного отростка верхней челюсти.....	40
2.3. Дизайн экспериментального этапа исследования.....	51
2.4. Статистический анализ полученных данных.....	65
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	67
3.1. Топографо-анатомический анализ дефектов кости верхней челюсти и морфологическая оценка мягкотканых компонентов, выстилающих дефект кости	67

3.2. Теоретическое обоснование использования оценочного инструментария при 3D-моделировании скульптуры комбинированного трансплантата.....	73
3.3. Морфологический анализ подготовленной методом дегазации и экстракции пыли фракции ГМ в эксперименте	83
3.4. Клиническое обоснование разработки и использования комбинированного трансплантата для устранения дефектов кости верхней челюсти.....	88
ГЛАВА 4. Клинико-статистическая характеристика результатов применения комбинированного трансплантата в клинической практике.....	109
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	123
ВЫВОДЫ.....	134
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	135
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	137

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ДКЧ – дефекты кости альвеолярного отростка верхней челюсти

КЛКТ – конусно-лучевая компьютерная томография

K_y – коэффициента естественного уплотнения

НКР – направленная костная регенерация

ГМ – гранулированный костнопластический материал

ИЗ – известняк

АЁ – адсорбционная ёмкость

МСК – мезенхимальные стромальные клетки

СЭМ – сканирующая электронная микроскопия

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

По данным исследований приобретенные дефекты кости альвеолярного отростка верхней челюсти (ДКЧ) в 82% формируются в результате осложнений одонтогенных воспалительных заболеваний [Василюк В.П. и др., 2020; Курманбеков, Н.О. и др., 2020; Фархшатова Р.Р. и др., 2020]. После удаления зуба на этапах репаративного остеогенеза происходят объёмные изменения в виде трехмерной регрессионной трансформации альвеолярного отростка верхней челюсти как в вертикальном, так и в горизонтальном направлениях на 40%-60% соответственно в течение 2-3 лет [Ashman A., 2000]. Большая часть потери костной массы происходит в первые 3–6 месяцев после удаления при ведении лунки под сгустком и составляет 11-22% от изначальной высоты, а в горизонтальном направлении потеря — от 29 до 63% [Van der Weijden F. et al., 2009; Saleh R.N. et al., 2024]. В последующие пять лет теряется в среднем ещё 11% костного объема [Van der Weijden F. et al., 2009; Naenni N. et al., 2018].

Для устранения ДКЧ в современной клинической практике широко используется метод направленной костной регенерации с использованием гранулированных костнопластических материалов (ГМ), которые могут использоваться отдельно или быть составной частью трансплантата [Никольский В.Ю. и др., 2014; Центроев З.С., 2019; Курманбеков Н.О. и др., 2020; Дробышев А.Ю. и др., 2021; Бозо И.Я. и др., 2023; Киреев П.В., 2023; Носова М.А. и др., 2023; Mendoza-Azpur G. et al., 2019; Hamdan H.A. et al., 2021; Kumar Y. et al., 2021; Li Z. et al., 2023; Lotfazar M. et al., 2024]. Однако их использование сопровождается трудностями, начиная с этапа планирования. Существующие программы 3D - планирования (SMOP Volume Designer (Швейцария), Ez3D – Plus™, Vatech (Корея), Nobel Clinician (Швейцария), Авантис 3Д (Россия), ViSurgery (Россия)

позволяют рассчитать объём костного дефекта, данные которого не являются корректной мерой для выбора требуемого объёма ГМ.

Подготовка к использованию *ex tempore*, укладка в костный дефект челюсти и воздействие биологической среды реципиентного ложа на фракцию ГМ после имплантации в костный дефект изменяют физические свойства фракции ГМ [Benic G. et al., 2017]. Предыдущие исследования физико-химических свойств ГМ были сосредоточены на характеристике размера гранул, пористости, плотности, удельной площади поверхности, химических свойств и кристалличности. Однако вышеупомянутые физические характеристики ГМ в недостаточной степени позволяют прогнозировать поведение всей фракции ГМ в составе трансплантата в послеоперационном периоде. Это является причиной неконтролируемого уплотнения гранул фракции в реципиентном ложе и снижения запланированного объёма трансплантата [Lindström M.J. et al., 2019; Blume O. et al., 2023].

Для сохранения стабильности трансплантата в реципиентном ложе необходимо усовершенствование планирования хирургического протокола устранения костного дефекта с использованием ГМ. В связи с этим, целесообразно разработать программный продукт 3D - планирования устранения ДКЧ, который позволит моделировать скульптуру трансплантата с учетом прогностических показателей, характеризующих динамику изменения физических свойств фракции ГМ в реципиентном ложе, что позволит повысить эффективность лечения пациентов с ДКЧ.

Степень разработанности темы

Для устранения дефектов кости альвеолярного отростка верхней челюсти метод направленной костной регенерации является одним из наиболее часто используемых методов в хирургической стоматологии. Для создания стабильного остеогенного пространства и фибринового сгустка в качестве каркаса широко применяются ГМ, размер и консистенция гранул которых позволяют заполнять внутренние полости дефектов кости сложной геометрической формы по сравнению с трансплантатами в виде блока. До настоящего времени изучены физико-

химические свойства отдельных гранул ГМ. Однако отсутствуют данные о поведении в целом всей фракции ГМ в составе трансплантата в послеоперационном периоде в реципиентном ложе.

Необходимо разработать новые способы изучения прогностических показателей, характеризующих изменения физических свойств ГМ в реципиентном ложе, и экстраполировать полученные данные в программный продукт 3D - планирования устранения дефектов кости альвеолярного отростка верхней челюсти. Это позволит снизить осложнения в виде неконтролируемого уменьшения запланированного объёма трансплантата в послеоперационном периоде при устранении дефектов кости альвеолярного отростка верхней челюсти гранулированными костнопластическими материалами в составе комбинированного трансплантата.

Цель исследования

Повысить эффективность лечения пациентов с дефектами кости альвеолярного отростка верхней челюсти на основе разработки и клинического использования комбинированного трансплантата.

Задачи исследования

1. Разработать состав и обосновать метод подготовки компонентов комбинированного трансплантата для использования при устранении дефектов кости альвеолярного отростка верхней челюсти.
2. Разработать способ определения требуемого объёма комбинированного трансплантата для размещения в дефекте кости альвеолярного отростка верхней челюсти с учётом динамики изменения физических свойств его компонентов в послеоперационном периоде.
3. Для предотвращения неконтролируемого изменения объёма комбинированного трансплантата в послеоперационном периоде разработать

способ укладки и стабилизации комбинированного трансплантата в дефекте кости альвеолярного отростка верхней челюсти.

4. Провести анализ экспериментальных и клинических данных об использовании комбинированного трансплантата.

Научная новизна

➤ Впервые разработана теоретическая модель и введены показатели коэффициента естественного уплотнения (K_y) и адсорбционной ёмкости (АЁ), характеризующие динамику изменения физических свойств фракции гранулированного костнопластического материала в послеоперационном периоде (Патент на изобретение 2754190 С1).

➤ Впервые выявлено, что повышение адсорбционной ёмкости фракции гранулированного костнопластического материала на 32% оптимизирует дренажные свойства комбинированного трансплантата, а показатель коэффициента естественного уплотнения (K_y) позволяет прогнозировать процесс конгломерации сыпучей гранулированной фракции в стабильный конгломерат в пределах 1,17.

➤ В условиях экспериментальной модели теоретически обоснованы условия оптимизации процесса биотрансформации и биodeградации фракции гранулированного костнопластического материала, повышающие площадь свободных поверхностей фракции на 61,67%, что оптимизирует размещение факторов роста кости и активирует дистантный остеогенез в теле комбинированного трансплантата в послеоперационном периоде (Патент на изобретение 2758570 С1).

➤ На основании морфологического анализа мягкотканого окружения, выстилающего дефект кости альвеолярного отростка верхней челюсти, определён его тканевой состав и выявлена доминирующая роль эпителиально-соединительнотканного комплекса в снижении репаративных возможностей элементов кости.

Теоретическая и практическая значимость работы

➤ Предлагаемый нами способ подготовки фракции гранулированного костнопластического материала повышает чистоту поверхностей гранул и сквозных пор, увеличивает объём пространств, доступных для факторов роста кости, что в целом позволяет оптимизировать адсорбционные и дренажные свойства комбинированного трансплантата на 32%.

➤ Разработанная нами программа прогностического расчёта требуемого объёма фракции гранулированного костнопластического материала позволяет проектировать скульптуру комбинированного трансплантата с учётом динамики изменения физических показателей фракции гранулированного костнопластического материала в послеоперационном периоде и в 95 % клинических случаев сохранить объём скульптуры трансплантата в проектных границах.

➤ Использование разработанного нами способа укладки и стабилизации гранулированного костнопластического материала в реципиентном ложе, позволяет оптимизировать биотрансформацию и биодеградацию компонентов комбинированного трансплантата и снизить вероятность возникновения осложнений в виде неконтролируемого уменьшения запланированного объёма скульптуры трансплантата в послеоперационном периоде (Патент на изобретение 2766977 С1).

➤ Использование разработанной нами теоретической модели для изучения изменения физических свойств гранулированных костнопластических материалов позволяет внедрить её использование для обучения студентов, ординаторов, аспирантов и врачей навыкам применения метода направленной костной регенерации при устранении дефектов кости альвеолярного отростка верхней челюсти.

Методология и методы исследования

Основой диссертационной работы является методология системного подхода. Разработан дизайн исследования для решения задач диссертации.

В клинической части исследования была проведена выборка из 91 пациента с дефектами кости альвеолярного отростка верхней челюсти. В основную группу вошли 37 пациентов, которым устранение дефекта кости альвеолярного отростка верхней челюсти проводили методом направленной костной регенерации с использованием разработанного нами комбинированного трансплантата. В группе сравнения 54 пациентам устранение дефекта кости альвеолярного отростка верхней челюсти проводили методом направленной костной регенерации с использованием гранулированного костнопластического материала Cerabone (Botiss biomaterials GmbH, Германия, номер регистрационного удостоверения ФСЗ 2011/09299).

Для планирования устранения дефекта кости альвеолярного отростка верхней челюсти использовали данные визуализации методом конусно-лучевой компьютерной томографии, которые загружались в программный комплекс «DentDir», где осуществляли диагностику дефектов кости, построение скульптуры костного дефекта, планирование объёма трансплантата и площади мембраны (свидетельство РФ о регистрации программы для ЭВМ № 2021666327).

Экспериментальное исследование *in vitro* трёх фракций гранулированных костнопластических материалов Bio-Oss® 0,25-1 мм (Geistlich, Швейцария), Cerabone® 0,5-1 мм (Botiss biomaterials GmbH, Германия) и Xenograft Collagen® 0,25-1 мм (BioOST, Россия) проводили методами дегазации и экстракции пыли, сканирующей электронной микроскопии.

Экспериментальное исследование *in vivo* выполнено на 54 лабораторных крысах Wistar. Для устранения дефектов кости челюсти животным использовали ксеногенные гранулированные костнопластические материалы: Bio-Oss (Geistlich, Швейцария), Cerabone (Botiss biomaterials GmbH, Германия), Xenograft Collagen (BioOST, Россия). В основной группе дефект кости заполняли гранулированными костнопластическими материалами, подготовленными по разработанному нами

способу дегазации и экстракции пыли. В группе сравнения дефект кости заполняли гранулированными костнопластическими материалами без подготовки. Для морфологического анализа результатов был выбран метод световой микроскопии.

Проведен статистический анализ полученных данных.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Применение комбинированного трансплантата для устранения дефектов кости альвеолярного отростка верхней челюсти позволяет снизить риск осложнений в послеоперационном периоде в 91% клинических случаев.
2. Определение требуемого объёма комбинированного трансплантата, размещаемого в дефекте кости альвеолярного отростка верхней челюсти, необходимо проводить с учётом динамики изменения физических свойств его компонентов в послеоперационном периоде.
3. Предварительная подготовка и размещение компонентов комбинированного трансплантата в реципиентное ложе нашим способом повышают на 32% адсорбционную ёмкость комбинированного трансплантата, оптимизируют процесс размещения факторов роста кости в теле комбинированного трансплантата и предотвращают неконтролируемое изменение реконструкции в послеоперационном периоде.

Степень достоверности результатов исследования

Достаточное количество клинических и экспериментальных наблюдений в работе, применение современных методов исследований, проведенных на сертифицированном оборудовании, наличие полной первичной документации, использование адекватных методов статистики и лицензионных статистических компьютерных программ определяют достоверность полученных результатов.

Апробация работы

Актуальность и научная новизна выбранной темы кандидатской диссертации обсуждена и одобрена на межкафедральном заседании института стоматологии Самарского государственного медицинского университета протокол № 6 от 25.04.2024 г. Основные результаты диссертационного исследования были доложены и обсуждены на международных и российских научных конференциях: Студенческая наука и медицина XXI века: традиции, инновации и приоритеты. XIII Всероссийская (87-я Итоговая) студенческая научная конференция СНО с международным участием, посвященная празднованию 100-летия СамГМУ (10 апреля 2019, г. Самара, Россия); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Аспирантские чтения – 2021: молодые ученые - медицине» SIMS - 2021: Samara International Medical Science (13 октября 2021, г. Самара, Россия); Международный молодёжный форум «Неделя науки – 2021», V Международная научно практическая конференция «Регенеративная медицина, аддитивные и цифровые технологии в России: реальность и тренды» (22 - 26 ноября 2021, г. Ставрополь, Россия); 64-й научно-практическая конференция обучающихся с международным участием «Студенческая наука и здоровье», посвященной Дню науки Республики Казахстан (12 -13 апреля 2022, г. Семей, Казахстан); LXXXIII Научно-практическая конференция с международным участием, посвященная 125-летнему юбилею ПСПбГМУ им. акад. И.П. ПАВЛОВА «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины–2022». Всероссийский уровень (19 апреля 2022, г. Санкт-Петербург, Россия); IX Международный молодежный медицинский форум «медицина будущего – Арктике». Международный уровень (21-22 апреля 2022, г. Архангельск, Россия); XI Научно-практическая конференция с международным участием «Путь в науку». Всероссийский уровень (28-29 апреля 2022, г. Москва, Россия); Мечниковские чтения-2022. 95-я Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием. Всероссийский уровень (28 - 29 апреля 2022, г. Санкт-Петербург, Россия); VII Международная научно-практическая конференция молодых ученых и студентов "Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения" (17-18 мая 2022, г.

Екатеринбург, Россия); V Национальный конгресс по регенеративной медицине (23-25 ноября 2022, г. Москва, Россия); Международный молодежный форум «неделя науки – 2022». VI международная конференция «Актуальные проблемы регенеративной медицины и имплантологии. 3D-принтинг и 3D-биопринтинг» (28 ноября-2 декабря 2022; г. Ставрополь, Россия); Всероссийская научно - практическая конференция с международным участием «Аспирантские чтения – 2022: молодые ученые – медицине. Технологическое предпринимательство как будущее медицины» SIMS – 2022: Samara International Medical Science (23 ноября 2022, г. Самара, Россия); IX Международного молодежного медицинского конгресса, посвященного 125-летию юбилею ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова «Санкт-Петербургские научные чтения» (7-9 декабря 2022, г. Санкт-Петербург, Россия); IADR General Session virtual experience, 99th General Session & exhibition of the IADR (21-24 July 2021, Boston, USA); Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2022: сборник тезисов докладов LXXVI Международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных (2022, Минск); 20th International Congress of Medical Sciences, ICMS 2022. International Congress. (12-15 May 2022, Sofia, Bulgaria).

Диссертационное исследование было выполнено за счет средств гранта от Фонда содействия инновациям в рамках программы «Умник» (Договор 15586ГУ/2020 от 06.07.2020 в размере 500 тысяч рублей), «Студенческий стартап» (Договор 680ГССС15-L/81123 от 28.11.2022 в размере 1 миллион рублей) и Губернского гранта в области науки и техники (Распоряжение Губернатора Самарской области от 13.07.2022 № 153-р в размере 100 тысяч рублей).

Внедрение результатов исследования

Предложенные в данном исследовании разработки внедрены в лечебную работу кафедры челюстно-лицевой хирургии и стоматологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Клиник «Самарский государственный медицинский университет», в лечебную работу ООО «Медлайн Компани» и ООО «Аполлония». Результаты

работы используют в учебном процессе на кафедре челюстно-лицевой хирургии и стоматологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Результаты работы внедрены в научную, педагогическую и лечебную работу кафедры хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Частного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский медико-социальный институт», кафедры челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации.

Личный вклад автора

Автор установил цель и определил задачи исследования, провел подробный анализ российских и зарубежных современных научных литературных данных согласно основной теме. Автор принимал активное участие в планировании исследования: выборе релевантных экспериментальных моделей *in vitro* и *in vivo*, методов оценки результатов. Автор лично выполнил лабораторные исследования по изучению динамики изменений физических свойств гранулированных костнопластических материалов, участвовал в организации и выполнении экспериментальных исследований на культурах клеток, лично прооперировал всех лабораторных животных, осуществлял их послеоперационное наблюдение, последующее выведение из эксперимента. Автором лично был выполнен отбор пациентов с дефектами кости альвеолярного отростка верхней челюсти, которые методом рандомизации были распределены на две группы: основную и группу сравнения. Автором было проведено обследование 91 пациента с дефектами кости альвеолярного отростка верхней челюсти, проанализированы данные специальных методов исследований. Диссертант непосредственно участвовал в хирургических вмешательствах, послеоперационном лечении пациентов. Автор провел оценку данных компьютерной томографии, гистологических препаратов, выполнил статистический обработку полученных результатов, участвовал в их интерпретации, написал тезисы научных работ, научные статьи, заявки на выдачу патентов на изобретения.

Связь исследования с проблемными планами

Исследование выполнено по плану научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России в соответствии с комплексной темой «Этиология, патогенез, эпидемиология, особенности клинического течения стоматологических заболеваний. Профилактика, диагностика, разработка методов лечения и реабилитации». Номер государственной темы №121051700039-5 от 17.05.2021.

Соответствие диссертации паспорту заявленной специальности

Диссертационное исследование соответствует паспорту научной специальности 3.1.7. Стоматология; п.п. 3 (Изучение проблем хирургической стоматологии с разработкой методов диагностики и лечения заболеваний челюстно-лицевой области), п.п. 4 (Изучение этиологии и патогенеза врожденных и приобретенных аномалий развития, дефектов и деформаций челюстно-лицевой области).

Список опубликованных работ по теме диссертационного исследования

По теме диссертации опубликовано 22 научные работы, 2 работы в изданиях, входящих в перечень научных журналов, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации, 3 патента РФ на изобретения; 1 свидетельство о регистрации программы для ЭВМ.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа представлена на 159 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, 4 глав собственных наблюдений, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, который включает 187 литературных источников, из них 69 отечественных авторов и 118 зарубежных. Диссертация иллюстрирована 16 таблицами и 54 рисунками.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Анатомо-физиологические особенности челюстей при устранении костных дефектов

Исследования репаративной регенерации костной ткани, оптимизации и стимуляции восстановительного процесса являются актуальными задачами клинических областей медицины [Иванов С.Ю., 2016; Бозо И.Я., 2017; Волков А.В., 2018; Карпюк В.Б., 2019].

В изучение репаративного остеогенеза внесли вклад отечественные и зарубежные учёные: Трунин Д.А., Волова Л.Т., Никольский В.Ю., Федяев И.М., А.В. Румянцев, А.А. Максимов, А.А. Заварзин, Н.Г. Хлопин, И.А. Одинцова, В.Г. Гололобов, Р.В. Деев, Р.К. Данилов и другие [Никольский В. Ю., 2007; Федяев И.М. и др., 2008; Данилов Р.К. и др. 2009; Гололобов В.Г. и др., 2011; Волова Л.Т. и др., 2022]. В основу современной концепции остеогенеза были положены остеобластическая теория остеогенеза и мезенхимальная теория, а также роль динамической нагрузки на формирование и ремоделирование костной ткани.

Альвеолярный отросток/часть челюсти являются зависимыми от зубов структурами. Они развиваются вместе с формированием и прорезыванием зубов и являются их опорной структурой. Альвеолярный отросток/ часть челюсти состоит из двух частей: собственно альвеолярная кость (стенка альвеолы) и поддерживающая альвеолярная кость. Собственно альвеолярная кость представлена компактной пластинчатой костной тканью, именуемая также пучковой костной тканью, так как к стенке альвеолы прикрепляются и частично пронизывают пучки шарпеевских волокон, связанные непрерывно с волокнами периодонтальной связки. Пучковая кость сформирована тонкими костными пластинками в параллельной ориентации коронально-апикальному направлению корня зуба. Поддерживающая альвеолярная кость состоит из компактной и губчатой кости. Компактная кость образует наружную и внутренние стенки альвеолярного отростка/части челюсти. Губчатая кость заполняет пространство между стенками кортикальной пластинки и собственно альвеолярной костью.

Костная ткань альвеолярного отростка верхней челюсти имеет более пористую структуру и обильную васкуляризацию, чем альвеолярная часть нижней челюсти, что способствует снабжению ее клетками и остеогенным свойствами [Amaral Valladão, J., 2020].

Уникальная способность костной ткани — перманентное физиологическое ремоделирование на всех этапах онтогенеза, в том числе в условиях репаративного остеогенеза [Salhotra A. et al., 2020]. Костная ткань альвеолярного отростка/части челюсти находится в состоянии постоянного ремоделирования ввиду позиционной адаптации зубов в ответ на биомеханические воздействия, возникающие в результате формирования пищевого комка. Высоко скоординированный процесс ремоделирования костной ткани основан на совместном функционировании остеолитических и формирующих костную ткань клеточных популяций [Tan W.L. et al., 2012]. Соотношение между процессами резорбции и формирования костной ткани осуществляется сложным взаимодействием местных и системных регулирующих факторов [Воложин А.И. и др., 2005].

При повреждении запускаются процессы репаративной регенерации, направленные на восстановление структурно-функциональной единицы кости. Ответная реакция костной ткани на патологические воздействия характеризуется фазностью происходящих процессов. Первая фаза определяется как морфолаксис — перестройка путём реорганизации. Вторая фаза ближе по механизму развития к эпиморфозу — за счёт камбиальных свойств специализированной ткани, дифференцировки и адаптивных изменений. Репаративный остеогенез может двигаться по двум путям: интрамембранозной или эндохондральной оссификации. Интрамембранозный остеогенез характерен для репаративного остеогенеза прежде всего для костей черепа: лобной, теменных, височных и носовых, верхней и нижней челюстей и протекает в условиях адекватного кровоснабжения костного регенерата. Функциональная сосудистая система является не только источником кислорода и питательных веществ, необходимых для остеогенной дифференцировки, но и несет с собой мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, способные дифференцироваться в ангиогенные клетки

[Волков А.В., 2018; Ansari M., 2019]. Ангиогенные источники клеток, такие как эндотелиальные клетки или остеопрогениторные клетки являются центральным и основным источником неоваскуляризации, участвуют в васкулогенезе и могут стимулировать ангиогенез [Gupta A. et al., 2022; Yao L. et al., 2023]. В условиях гипоксии остеопрогениторные клетки дифференцируются в хондробласты. Таким образом, в глубоких слоях регенерата с низким парциальным давлением кислорода образуется хрящевая или хрящеподобная ткань с последующим замещением костной тканью [Thompson E. M., 2015].

Морфологическая структура кости челюстей отличается от таковой у скелетных костей и костей мозгового отдела черепа. Эти различия формируются в эмбриогенезе и реализуются в онтогенезе [Murphy M.P. et al., 2017]. Во время эмбриогенеза нижняя и верхняя челюсти развиваются из первой жаберной дуги и формируются путем интрамембранозной оссификации [Bertol J.W. et al., 2022]. Клеточные компоненты черепно-лицевого скелета происходят из клеток нервного гребня, которые возникают в эмбриональном эктодермальном зародышевом слое на границе нервной пластинки во время гаструляции. Клетки нервного гребня являются мультипотентными предшественниками, которые образуют мигрирующие мезенхимальные клетки. Они заселяют глоточные дуги с последующей их непосредственной дифференцировкой в остеобласты и формированием большей части черепно-лицевого скелета [McKinney M.C. et al., 2020].

Кости лица и черепа человека ввиду филогенетической специфики обладают слабыми регенераторными возможностями из-за малого содержания остеобластических элементов надкостницы [Подлужный П.С. и др., 2021; Friedman S.D., 2007]. В результате осложнений одонтогенных воспалительных заболеваний область повреждения костной ткани бывает не в состоянии полностью реализовать процесс остеорепарации, несмотря на устранение одонтогенных причин деструкции кости. Это приводит к нарушению органной структуры и функциональных возможностей кости. На результат регенерации влияет морфологический состав тканей, окружающих этот дефект. Одонтогенные

поражения костной ткани челюстей инициируют частичную или полную потерю кортикальной кости с одномоментной деструкцией надкостницы и потерей остеогенитических свойств [Jafri Z. et al., 2019; Hathaway-Schrader J.D. et al., 2021]. Как известно, морфология костной ткани альвеолярного отростка/части челюсти, а также покрывающие её надкостница и слизистая оболочка взаимосвязаны [Khoury F. et al., 2022]. Трёхмерная стабильная основа кости с надкостницей участвует в процессах физиологического ремоделирования. Внутренний остеогенный (камбиальный) слой надкостницы содержит скелетогенные клетки (преостеобласты, остеобласты, мезенхимальные стволовые клетки, в том числе покоящиеся клетки), которые являются одним из естественных источников регенерации костной ткани [Иорданишвили, А. К., 2022; Мураев А. А. и др., 2023]. Патологическое воздействие эпителиально-соединительнотканного комплекса, возникший вследствие дентоальвеолярных поражений и приводящий к деструкции надкостницы и подлежащей кости, приводит к снижению источников камбиальных элементов кости, факторов роста кости [Слесарев О.В. и др., 2023]. Ряд авторов характеризуют подобные состояния, обусловленные разрушением или несостоятельностью камбиальных клеточных элементов костной ткани, как «остеогенную недостаточность» [Гололобов В.Г. и др., 2011; Бозо, И.Я., 2017].

В объёмных (протяженных) костных дефектах наблюдается медленный рост сосудов. Было показано, что миграция эндотелиальных клеток и физиологический рост новых кровеносных сосудов не превышают ~5 мкм/ч [Pattanaik S. et al., 2019]. Как известно, ангиогенез и остеогенез взаимосвязаны, причем ангиогенез должен предшествовать остеогенезу [Таиров У. Т., 2022]. Образование кровеносных сосудов является ключевым требованием для регенерации, где ангиогенные факторы могут взаимодействовать со стромальными клетками кости, способствуя формированию костей [Huang L. et al., 2021]. Парциальное давление кислорода является одним из важнейших остеоиндуцирующих факторов. Повышение парциального давления кислорода приводит к повышению функциональной активности клеток остеобластического ряда, что сопровождается более интенсивным остеогенезом [Helder M. et al., 2019; Júnior L. et al., 2020]. Однако

предел диффузного расстояния для клеток, чтобы получить эффективную питательную поддержку и кислород от питающего кровеносного сосуда, находится в пределах 150-200 мкм [Fernandez G. et al., 2018].

Таким образом, в костных дефектах с остеогенной недостаточностью, объемных костных дефектах регенерация кости отклоняется от органотипической в сторону заместительной, то есть естественный ход репаративного остеогенеза не обеспечивает полного ее гисто- и органотипического восстановления [Бозо, И.Я., 2017].

1.2. Основные направления регенеративной медицины

- **Методы костной реконструкции**

Биологическое окружение костного дефекта, анатомическая область, степень морфофункциональных нарушений, соматический статус пациента существенно влияют на выбор метода костной реконструкции и перспективы репаративного остеогенеза [Maia F.R. et al., 2022].

Для устранения костных дефектов челюстей были внедрены различные методы костной реконструкции, такие как расщепление гребня, сэндвич-пластика, альвеолярный дистракционный остеогенез, направленная костная регенерация [Дробышев А. Ю. и др., 2022; Меликов Э. А. и др., 2022; Полупан П. В. и др., 2022; Named M. et al., 2019; Chehata, I. et al., 2021; Hamdan H.A. et al., 2021; Kumar, Y. et al., 2021; Anilkumar R. et al., 2022].

Метод направленной костной регенерации (НКР) является одним из наиболее часто используемых методов в хирургической стоматологии. Основным принцип НКР заключается в использовании барьерных мембран для искусственного создания биологического и механического барьера, который защищает фибриновый сгусток и предотвращает миграцию клеток эпителия и фибробластов в остеогенное пространство, тем самым благоприятствуя заселению этой области клетками остеогенного происхождения для образования новой кости [Полупан П. В. и др., 2021; Amaral Valladão CA J. et. al., 2020]. Беккер и др. описали, что костная регенерация с помощью НКР зависит от миграции плюрипотентных и остеогенных

клеток (например, остеобластов, происходящих из надкостницы и/или прилегающей кости и/или костного мозга) к месту костного дефекта и исключения клеток, препятствующих формированию кости (например, эпителиальных клетки и фибробласты). По мнению Schenk и др. для обеспечения успешной НКР необходимо соблюдение четырех принципов: исключение эпителия и соединительной ткани, сохранение остеогенного пространства и стабильности фибринового сгустка, ангиогенез и первичное закрытие раны [Scarano A. et al., 2016]. Барьерные мембраны разделяют на 2 типа: нерезорбируемые и резорбируемые [Волков Л. А. и др., 2021; Налчаджян А. М. и др., 2023]. Мембрана может быть синтетической, с титановым армированием или без него (Zakaria O. et al., 2020; De Santis D. et al., 2021]. Использование нерезорбируемых мембран позволяет сохранить остеогенное пространство [Choi I. et al., 2021]. Однако их необходимо удалять, что создает необходимость в проведении повторной хирургической процедуры [Scarano A. et al., 2016; Friedmann A. et al., 2020]. Наиболее широко применяются резорбируемые мембраны, которые получают из коллагена типа I или из комбинации коллагенов типов I и III, а источниками этого коллагена являются сухожилия крупного рогатого скота, дерма крупного рогатого скота, овечья кожа или дерма свиньи [Amaral Valladão CA J. et. al., 2020; Neto A.M.D. et. al., 2020]. Резорбируемая коллагеновая мембрана предпочтительнее в качестве барьерной мембраны, поскольку она обеспечивает лучшую перфузию крови и кислородный обмен, способствует пролиферации и дифференцировке клеток и исключает необходимость повторной операции по удалению [Yu L. et al., 2021]. После размещения мембраны локальный рост кровеносных сосудов позволяет рекрутировать мигрирующие мезенхимальные стволовые клетки (МСК) на хирургическое место и поверхность мембраны. Затем эти клетки размножаются и дифференцируются в зрелые остеобласты, ответственные за формирование костного матрикса, что необходимо в процессе регенерации [Amaral Valladão CA J. et. al., 2020]. Однако во время закрытия раны и в период заживления возникают сжимающие силы, которые могут привести к коллапсу коллагеновых мембран. Коллапс мембраны будет препятствовать остеогенезу [Налчаджян А. М. и др., 2023;

Abedi M et al., 2023]. Таким образом, необходимо достаточное пространство под мембраной для миграции клеток и врастания новых кровеносных сосудов. Для создания стабильного остеогенного пространства и фибринового сгустка в качестве каркаса используются аутогенная кость или её аллогенные, ксеногенные или аллопластические аналоги, которые оказывают многостороннее влияние на репаративный остеогенез [Брайловская Т. В. и др., 2021; Aprile P. et. al., 2020; Zhao R. et al., 2021].

- **Стимуляция регенерации костной ткани**

Основная функция гранулированных костнопластических материалов (ГМ) заключается в обеспечении механической поддержки и стимуляции остеорегенерации, которые заложены в четырёх фундаментальных биологических свойствах: остеокондукции, остеоиндукции, остеогенеза и остеointegrации [Шайхалиев А. И. и др., 2022; Zhao R. et al., 2021]. Остеоиндукция - способность материала рекрутировать клетки-предшественники в место заживления и способствовать их остеогенной дифференцировке посредством биомолекулярной передачи сигналов. На этот процесс влияют факторы роста кости, включая костные морфогенетические белки, факторы роста тромбоцитов, факторы роста фибробластов и трансформирующие факторы роста- β [Sheikh Z. et al., 2019; Fraile-Martínez O. et al., 2021]. Остеокондукция – способность имплантированного материала служить носителем или матрицей для прорастания сосудов, позволяя остеобластам и остеопрогениторным клеткам фиксироваться, размножаться, дифференцироваться и колонизировать доступные поверхности и внутренние пространства материала, с последующей биотрансформацией в нативную кость [Lutzweiler G. et al., 2020; Guerrero J. et. al., 2023]. В основе остеогенеза лежит стимуляция регенерации жизнеспособными остеобластами или остеопрогениторными клетками, присутствующие как в составе аутотрансплантата, так и в виде клеточной культуры, которая может вноситься отдельно или быть составной частью биоинженерной конструкции [Фриденштейн А. Я., 1973; Zhao R. et al., 2021]. Остеointegrация определяется как способность

материала химически связываться с поверхностью кости в отсутствие фиброзной ткани.

Основные требования, предъявляемые к ГМ – биосовместимость; контролируемая биоразлагаемость со скоростью элиминации, соответствующей темпу формирования новой костной ткани в месте дефекта; отсутствие цитотоксичности; способность инициировать процессы регенерации костной ткани. ГМ должны легко адаптироваться и точно прилегать к поверхностям дефекта, сохранять запланированный объём в течение необходимого времени, поддерживать пространство для пролиферации и дифференциации остеобластов, миграции и дифференциации клеток-предшественников [Bing W. et al., 2022].

- **Классификации костнопластических материалов**

Описаны различные варианты классификации костнопластических материалов: по происхождению, химическому составу, физическим свойствам, хронологии, на основе выраженности индуктивного потенциала, механизма действия, биологических функций ГМ [Андриадзе Е. О. и др., 2022].

По происхождению костнопластические материалы подразделяются на биологические, к которым относятся ауто- и алломатериалы, ксеноматериалы, биологически активные молекулы белковой и небелковой природы, обладающие свойствами факторов роста); искусственные (синтетические) материалы и композиционные материалы [Панкратов А.С. и др., 2011]. Были предложены классификации на основе групп материалов [Ansari M., 2019; Wickramasinghe M.L. et al., 2022].

Современная классификация ГМ, основанная на источнике ткани и группе материалов, разделяет их на пять категорий: 1) материалы природного происхождения, которые подразделяются на 4 подкатегории: аутотрансплантаты, аллотрансплантаты, ксенотрансплантаты и фитогенные материалы; 2) синтетические костнопластические материалы включают керамические кальций-фосфатные материалы, полимеры, металлы; 3) композиционные материалы; 4) костнопластические материалы на основе факторов роста кости; 5) костнопластические материалы, заселенные живыми остеогенными клетками

[Zhao R. et al., 2021]. Предложена классификация на основе биологических функций костнопластических материалов, включая адгезию, миграцию, пролиферацию и дифференциацию остеобластов, остеопрогениторных клеток или эндотелиальных клеток [Bing W. et al., 2022]. Согласно современной классификации, предложенной отечественными учеными, костнопластические материалы разделяются на две категории: ординарные и активированные. Первые не содержат в своем составе биологически активные компоненты, а вторые – содержат ординарный матрикс-носитель и биологически активные компоненты: факторы роста или клетки (тканеинженерные конструкции) или генные конструкции, кодирующие факторы роста [Деев Р.В. и др., 2015].

1.3. Особенности регенерации костной ткани при использовании костнопластических материалов

Свободные костные трансплантаты в виде аутологичных костных блоков, полученные из внутриротовых и внеротовых донорских зон в челюстно-лицевой хирургии в литературных источниках представлены в качестве «золотого стандарта» в лечении костных дефектов челюстей [Швырков М. Б. и др., 2018; Волков А. В. и др., 2020; Janjua O.S. et al., 2022]. При этом многие авторы отмечают высокий процент резорбции неваскуляризированного (свободного) костного блока [Волков А.В., 2018; Barreda Hale M. et al., 2021; Ferraz M.P. et al., 2023]. Кроме того, недостатками этого типа трансплантата являются осложнения, которые могут возникать в 8–39% случаев; необходимость нанесения дополнительной травмы пациенту в донорской зоне; ограниченный объем трансплантата; затруднительность моделирования костных дефектов сложной геометрической формы; двухэтапный протокол с увеличенным временем хирургического вмешательства [Буцан С. Б. и др., 2019; Иванов С. Ю. и др., 2020; Локтионова М. В. и др., 2022; Al-Moraissi E. et. al., 2020; Falacho R.I. et. al., 2021]. Основным механизмом интеграции трансплантированного блока считают остеокондуктивные свойства губчатой кости, сохраняющей жизнеспособность. При морфометрическом исследовании авторами были выявлены через 4 месяца после

трансплантации свободного блока признаки некроза, как отдельных участков трансплантата, так и, в некоторых случаях большей, его части, что требует их удаления [Волков А.В., 2018; Acocella A. et al., 2010]. Неуклонная резорбция возникает из-за ишемии остецитов свободного костного трансплантата, которые достаточно чувствительны к гипоксии, что приводит их к гибели с формированием пустых лакун [Polykandriotis E. et al., 2007]. Репаративный остеогенез протекает как на поверхности жизнеспособной, так и некротизированной костной ткани. Некротизированная часть костного трансплантата незначительно активирует процесс репаративного остеогенеза за счет выделения костной тканью биологически активных молекул. Таким образом, аутотрансплантация невааскуляризированного (свободного) костного блока сопровождается медленной заместительной перестройкой трансплантата новообразованной костной тканью с сохранением на высоком уровне процессов его резорбции, даже в условиях адекватного кровоснабжения, что приведёт к неудовлетворительным клиническим результатам в виде уменьшения объема костной ткани, снижения прочностных характеристик регенерата [Волков А.В., 2018].

Аутотрансплантация фрагментированной костной ткани (костной стружки) по результатам гистоморфометрического исследования демонстрирует высокую эффективность репаративного остеогенеза, характеризующаяся высокой долей новообразованной костной ткани, но при условии максимального сохранения источников кровоснабжения трансплантата [Hanser T. et al., 2014]. В условиях достаточного кровоснабжения индуктором репаративного остеогенеза является как сохранившая жизнеспособность часть трансплантата, так и некротизированные фрагменты кости. При измельчении костной ткани в костной мельнице формируются микропереломы, что приводит к активации остеобластов, покоящихся клеток эндоста с выбросом цитокинов и морфогенетических белков. Таким образом, дополнительная активация трансплантата обеспечивает прирост и сохранение объема костной ткани в зоне трансплантации [Волков А.В., 2018].

Аллогенные костные трансплантаты находят широкое применение в хирургии челюстно-лицевой области [Трунин Д.А. и др., 2008; Редько Н.А. и др., 2020;

Волова Л.Т. и др., 2021; Попов Н.В. и др., 2021; Mishra A.K. et al., 2017; Blume O. et al., 2019]. Свежезамороженные аллотрансплантаты обеспечивают самый высокий остеокондуктивный и остеоиндуктивный потенциал среди материалов аллотрансплантата, доступных для использования. Однако из-за высокой иммуногенности начальная фаза остеоиндукции разрушается иммунным ответом и воспалительными клетками, что вызывает некроз остеопрогениторных клеток [Wang W. et al., 2017]. Другой проблемой является повышенный риск передачи заболевания, который был значительно улучшен за счет развития современных банков тканей и совершенствование технологии обработки. Таким образом, применение такого типа аллотрансплантата всегда ограничено, и в клинической практике в настоящее время не используются. Дальнейшая обработка материала аллотрансплантата путем лиофилизации, деминерализации и облучения снижает иммуногенность, увеличивает срок хранения материала, но при этом уменьшается остеоиндуктивный потенциал, структурная прочность и остеоинтеграция [Valamvanos TF. et al., 2024]. Деминерализованная костная матрица является производным аллотрансплантата, при котором не менее 40% минерального содержания костной матрицы удаляется кислотой, а органический матрикс и факторы роста остаются, способные стимулировать дифференциацию мезенхимальных стволовых клеток в остеобласты. Тем не менее, использование аллогенного деминерализованного костного матрикса ограничено плохими механическими свойствами и высокой скоростью резорбции [Dong J. et al., 2024].

В качестве альтернативы костным аутогенным и аллогенным трансплантатам были разработаны костнопластические материалы природного и синтетического происхождения.

К натуральным остеозамещающим материалам относятся ксеногенные костнопластические материалы, наиболее распространенным источником которых является депротеинизированная кость бычьего происхождения, которая обладает биосовместимостью, низкой скоростью резорбции или ее отсутствием, а также сходством с человеческой костью за счет сохраненной микроструктуры костного каркаса [Lukina Y. et al., 2023]. Коммерчески доступный ксеногенный

гранулированный костнопластический материал Cerabone (Botiss biomaterials GmbH, Германия) производится путем трехступенчатой температурной обработки, включая окончательное спекание при температуре $>1200^{\circ}\text{C}$, в результате чего удаляются все органические соединения и потенциальные прионы, бактерии и вирусы, что приводит к продукту с низкой иммуногенностью. Кроме того, высокая температура спекания повышает кристалличность и стабильность объема. Сообщалось, что спеченный при высокой температуре Cerabone показал лучшую жизнеспособность клеток остеобластов человека и их метаболическую активность по сравнению с другими гранулированными костнопластическими материалами бычьего происхождения, приготовленными при более низких температурах [Кууак S. et al., 2021]. Также доступны другие коммерчески доступные продукты на основе бычьей кости, такие как Bio-Oss (Geistlich, Швейцария) и Xenograft Collagen (BioOST, Россия). Bio-Oss имеет волокнистую поверхность с гораздо меньшим размером кристаллов и наличием остаточных белков. Он производится поэтапным процессом отжига при более низкой температуре (300°C) с последующей химической обработкой гидроксидом натрия. Технология сверхкритической флюидной экстракции Xenograft Collagen позволяет сохранить коллаген 1 типа в нативном виде, что наделяет гранулы высокой гидрофильностью. На этапе очистки отсутствуют агрессивные химические агенты и высокие температуры, что не перестраивает гидроксиапатит и не оставляет компоненты токсичных химических растворителей. Таким образом, ксеногенные гранулированные костнопластические материалы бычьего происхождения объединяет достаточная osteoconдуктивность, высокая кристалличность, что обуславливает малое время резорбции и может обеспечить хорошую механическую поддержку [Degidi M. et al., 2013]. Эти продукты обладают очень похожими структурными и биохимическими свойствами на кости человека. Пористая структура демонстрирует большую площадь поверхности и способствует росту новых кровеносных сосудов посредством ангиогенеза. Однако гранулированные костнопластические материалы ксеногенного происхождения характеризуются недостаточным osteoиндуктивным потенциалом, что ограничивает показания к их

применению. Исследования показали, что в области постцистэктомических дефектов челюсти размерами более 10 мм, заполненных ксеногенным гранулированным костнопластическим материалом (Bio-Oss, Швейцария), восстановление кости протекало неполноценно. В сроки наблюдения (от 4 до 6 мес.) в гистологических образцах регенерат представлен рыхлой волокнистой соединительной тканью с участками грубоволокнистой кости и хондронидной ткани. В отдаленные сроки наблюдения (12–24 мес.) зрелая кость выявляется только по периферии, в то время как в центре – умеренно васкуляризованная волокнистая соединительная ткань. Таким образом, остеогистогенез характеризуется незавершенностью. Причинами неполноценной остеорепаляции таких дефектов является неполноценное кровоснабжение центральных участков имплантированного материала в условиях недостаточной скорости неоваскуляризации, а также длительно текущий процесс воспалительной резорбции, приводящий к локальному дефициту остеопрогениторных клеток, дистрофическим изменениям в костной ткани, прилегающей к кисте. Таким образом, в объемных костных дефектах особенно в условиях «остеогенной недостаточности» репаративный процесс в костной ткани не заканчивается полным гистотипическим восстановлением кости даже при использовании костнопластических материалов [Карпюк В.Б., 2019].

Перспективными натуральными костнопластическими материалами являются биоразлагаемые биополимеры: крахмал, альгинат, хитозан, шелк. Хитозан – природный полимер, полученный из экзоскелетов ракообразных, состоящий из глюкозамина и N-ацетилглюкозамина [Гуменюк А.С. и др., 2020]. Материалы на основе хитозана обладают низкой иммуногенностью, структурной универсальностью и гидрофильной поверхностью, которая способствует адгезии и пролиферации клеток, способны стимулировать регенерацию костей, поддерживать остеобластическую активность, индуцировать дифференциацию мезенхимальных стволовых клеток в остеобласты в различных средах *in vitro* [Aguilar A. et al., 2019]. Однако из-за плохих механических свойств хитозана возникает необходимость сочетаться с другими материалами, такими как желатин,

фосфаты кальция и биостекло [Nie L. et al., 2020]. Шелк - это натуральный биополимер, полученный из шелкопряда *Bombyx mori*. Использование шелка в составе скаффолда демонстрирует биосовместимость, разлагаемость, интеграцию тканей, проницаемость кислорода и воды [Haugen H.J. et al., 2019; Sartika D. et al., 2020].

К костнопластическим материалам природного происхождения, источником которых являются растения, относят морские водоросли, материалы на основе кораллов и *Gusuibu*. Было показано, что *Gusuibu*, интегрированный с коллагеновым носителем, показал объём новообразованной костной ткани, сопоставимый с аутотрансплантатом, что говорит о его перспективном использовании [Sheikh Z. et al., 2019]. *AlgiPore* - это природный гидроксиапатит, полученный из морских водорослей, который обладает биосовместимостью, низкой иммуногенностью, биоразлагаемостью, большой площадью поверхности для адгезии белка [Galindo-Moreno P. et al., 2020]. Костнопластические материалы на основе кораллов изготавливаются из морских кораллов путём воздействия высокой температуры под давлением в присутствии водных фосфатных растворов, что преобразует его в кристаллический гидроксиапатит, сохраняя при этом высокоорганизованную и взаимосвязанную структуру пор, демонстрируя высокую прочность на сжатие, низкую иммуногенность. Однако эти материалы имеют относительно низкую прочность на растяжение, хрупкость и длительную резорбцию [Titsinides S. et al., 2019].

Применяющиеся в клинической практике традиционные костнопластические материалы, не содержащие биологически активных компонентов, способны только оптимизировать естественный ход репаративного остеогенеза, что делает их неэффективными для устранения костных дефектов с остеогенной недостаточностью. С целью стимуляции и поддержания на высоком уровне репаративного процесса до полного гистотипического восстановления кости возникает необходимость в создании комбинированных материалов на основе принципов тканевой инженерии, содержащих в своем составе остеокондуктивный матрикс-носитель и биологически активные компоненты, влияющие на

гистогенетические процессы в реципиентном ложе [Бозо, И.Я., 2017; Vjelić D. et al., 2021].

Факторы роста кости, применяемые в тканевой инженерии, характеризуются как стимуляторы остеогенеза: костные морфогенетические белки (BMP), трансформирующий фактор роста β , фактор роста фибробластов, инсулиноподобный фактор роста, тромбоцитарный фактор роста, фактор роста эндотелия сосудов [Rodríguez-Merchán E. S., 2022]. BMP обладают остеоиндуктивными свойствами, что оказывает решающую роль в ремоделировании костей [Oliveira É. et al., 2021]. Наиболее часто используемыми и исследуемыми BMP для применения в области регенерации костей являются BMP-2 и BMP-7. BMP-2 способен индуцировать остеобластическую дифференциацию из мезенхимальных стволовых клеток на ранних и поздних стадиях формирования костей, а BMP-7 может напрямую способствовать ангиогенезу. Использование BMP-2 показало многообещающие результаты во время аугментации верхнечелюстного синуса и альвеолярного гребня [Мухаметов У. Ф. и др., 2023]. Несмотря на многообещающие результаты, всё ещё существуют некоторые споры по поводу клинической эффективности и безопасности BMP. Необходимы дальнейшие углубленные исследования для разработки систем доставки BMP, которые могут позволить длительно контролировать и точно высвобождать с течением времени BMP.

К другим подходам использования факторов роста кости, полученных из аутологичной крови пациента, является плазма, обогащенная тромбоцитами (PRP), плазма, обогащенная факторами роста (PRGF), фибрин, обогащенный тромбоцитами (PRF) и концентрированные факторы роста (CGF). Полученная группа аутогенных факторов роста после конкретного протокола объединяется с костнопластическим материалом с дальнейшим размещением в дефект кости. PRP и PRGF относятся к первому поколению концентратов тромбоцитов, так как требуют химических добавок, таких как антикоагулянты и тромбин или хлорид кальция для полимеризации фибрина перед внесением в область костного дефекта [Dragonas P. et al., 2019]. PRP является аутологичной концентрацией тромбоцитов

в небольшом объеме плазмы с содержанием факторов роста кости: фактора роста тромбоцитов (PDGF), фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), инсулиноподобного фактора роста (IGF), фактора роста фибробластов (FGF) и трансформирующего фактора роста бета (TGF- β) [Solakoglu Ö. et al., 2020]. Продемонстрированы положительные доклинические результаты о биологическом потенциале обогащенной тромбоцитами плазмы, способствующем восстановлению костной ткани [Ле Х.Т. и др., 2022; Roffi A. et al., 2017]. Тем не менее, костно-регенеративный потенциал PRP остается спорным. Некоторые результаты исследований с использованием PRP в сочетании с костнопластическими материалами в лечении пародонтальных костных дефектов, устранении постэкстракционных лунок, аугментации альвеолярного гребня, верхнечелюстного синуса показали больший объем новообразованной кости по сравнению с остеозамещающими материалами, используемыми отдельно [Shah S.A. et al., 2021; Dewan H. et al., 2023]. Однако другие исследования ставят под сомнения преимущества использования PRP с костнопластическими материалами при устранении костных дефектов. PRF и CGF относятся ко второму поколению концентрата тромбоцитов. Для активации тромбоцитов и полимеризации фибрина достаточно использования только аутологичной венозной крови пациента. В отличие от PRF, использующих постоянную скорость центрифугирования, CGF использует измененную скорость центрифугирования для получения гораздо большей, плотной и более богатой матрицы фибрина, содержащей факторы роста [Batas L. et al., 2019; Amaral Valladão J. et al., 2020]. Недавно разработанная концепция, известная как «липкая кость», в которой используется гранулированный костнопластический материал, обогащенный аутологичными концентрированными факторами роста с использованием аутологичного фибринового геля [Lokwani B.V. et al., 2020]. Механические свойства этого материала облегчают его размещение и стабилизацию в костном дефекте, что позволяет ускорить регенерацию костей и свести к минимуму потерю костной ткани [Литвинов Р.И. и др., 2018; Brouwers J. et al., 2020; Mu Z. et al., 2020]. Преимущества «липкой кости» включают в себя высокий биологический

потенциал, основанный на постепенном и устойчивом высвобождении факторов роста во время ремоделирование фибринового матрикса; хорошую формовочную способность; трехмерную фибриновую сеть, участвующей в регуляции ангиогенеза, поддержании миграции клеток внутрь каркаса и их жизнедеятельности [Zhang Y. et al., 2022; Giannotti L. et al., 2023]. Использование гранулированного ксеногенного костнопластического материала, обогащенного CGF для горизонтальной аугментации альвеолярного гребня, привело к достаточному трехмерному увеличению гребня в течение 6-месячного периода наблюдения [Al-Named F.S. et al., 2019; Barbu H.M. et al., 2021].

Внедрение регенеративных и тканеинженерных технологий является одним из перспективных направлений развития восстановительно-реконструктивной хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии [Байдик О.Д. и др., 2015; Мирошниченко В.В. и др., 2018; Liu Y. et al., 2020]. Тканевая инженерия – создание трехмерных тканевых структур в соответствии с принципами биомиметики [Uradhyay A. et al., 2020]. Тканеинженерные костнопластические материалы состоят из биоразлагаемого скаффолда, стромальных/стволовых клеток, полученных из разных тканевых источников, и биоактивных молекул [Frenz-Wiessner S. et al., 2024; Zayed HM et al., 2024].

Механизм действия трансплантированных клеток тканеинженерного костнопластического материала заключается в пролиферации и дифференцировке мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) в специализированные клетки поврежденных тканей, а также их паракринная активность за счет продукции биологически активных веществ - костные морфогенетические белки (BMP), сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) и фактор стромальных клеток (SDF-1). Исследования показали, что тканеинженерные остеозамещающие материалы с применением ММСК могут значительно улучшить восстановление костной ткани по сравнению с использованием только ММСК или костнопластического материала в отсутствие ММСК [Zhu C. et al., 2019]. Несмотря на многочисленные преимущества использования тканеинженерных костнопластических материалов, остаются

нерешенные вопросы, связанные с биобезопасностью полученных вне организма человека клеточных линий, низкой выживаемостью трансплантированных клеток, потребностями в специальных условиях хранения, а также с нормативно-правовым регулированием. Таким образом, ограничение внедрения результатов тканеинженерных разработок в рутинную клиническую практику создает предпосылки к развитию альтернативных подходов [Деев Р.В. и др., 2015].

К некультивированным клеточным популяциям относятся клетки стромально-васкулярной фракции жировой ткани (СВФ-ЖТ) [Saralaya S. et al., 2020]. СВФ-ЖТ считается перспективным источником клеток с остеогенным и ангиогенным потенциалом и представляет собой гетерогенный комплекс аутологичных клеток, лишенный зрелых адипоцитов в состав которого входят ММСК-ЖТ, гладкомышечные клетки, эндотелиоциты, эндотелиальные прогениторные клетки, фибробласты, преадипоциты, макрофаги и лимфоциты [Adeyemo W.L. et al., 2019]. Было обнаружено, что ММСК-ЖТ обладают мультидифференциационными потенциалами, способностью к самообновлению и размножению. Клетки СВФ-ЖТ стимулируют неоваскуляризацию, уменьшает экспрессию иммунокомпетентными клетками провоспалительных факторов [Tozawa K. et al., 2019; Ferroni L. et al., 2022]. Продемонстрирована долгосрочная биобезопасность и эффективность применения СВФ-ЖТ при устранении костных дефектов черепно-челюстно-лицевой области тканеинженерными костнопластическими материалами, включающими свежевыделенную СВФ-ЖТ [Ferroni L. et al., 2022]. Исследования показали, что применение СВФ-ЖТ в комбинации с гранулированными костнопластическими материалами при устранении постцистэктомических костных дефектов челюсти размерами более 10 мм, аугментации значительно атрофированного альвеолярного гребня челюстей, аугментации дна верхнечелюстной пазухи по результатам гистоморфометрии демонстрирует большую площадь новообразованной кости по всему объёму регенерата с проангиогенным эффектом по сравнению с тем же костнопластическим материалом, но без клеточного сопровождения, где остеогистогенез характеризуется незавершенностью [Карпюк В.Б., 2019; Kizu Y. et al., 2024].

Использование СВФ-ЖТ позволяет значительно снизить частоту осложнений в послеоперационном периоде, улучшает регенерацию мягких тканей. Таким образом, стромально-васкулярная фракция жировой ткани является доступным биобезопасным персонифицированным регенеративным ресурсом, применение которого повышает основные показатели эффективности хирургического лечения больных с костными дефектами челюстей [Wu V. et al., 2023].

Таким образом, анализ литературы показал, что существует высокий и растущий спрос на новые костнопластические материалы для эффективного восстановления костной ткани челюстно-лицевой области. По мере развития исследований в области тканевой инженерии в экспериментах *in vitro* и *in vivo* убедительно показана возможность регенерации кости путем применения гибридных трансплантатов, состоящих из биоматериалов, факторов роста кости, стволовых и/или остеопрогениторных клеток, способных стимулировать репаративный остеогенез [Shi R. et al., 2019; Nayak V.V. et al., 2023].

1.4. Гранулированные костнопластические материалы и их свойства

Биологические и физические свойства гранулированных костнопластических материалов (ГМ) оказывают решающее влияние на стабильность объёма и характер биотрансформации ГМ в реципиентном ложе [Hegarty-Cremer S.G.D. et al., 2021].

Высокопористая структура ГМ с сообщающейся системой пор, размер пор, сквозные каналы, геометрия пор и топографические характеристики, влияют на биологические свойства, такие как клеточная адгезия, пролиферация и распределение клеток, остеогенная дифференцировка стволовых клеток и клеток-предшественников, а также образование кровеносных сосудов. Макропоры - это критически важный фактор в регенерации и восстановлении костей, поскольку поры с большими размерами в диаметре улучшают диффузию кислорода во внутренние пространства ГМ, что повышает эффективность посева клеток, их жизнеспособность и пролиферацию. Необходимым условием для обеспечения развития васкуляризации ГМ является развитая система пор [Abbasi N. et al., 2020]. Взаимосвязанные поры позволяют создать условия для поддержания

пролиферации и дифференцировки клеток, обеспечивая возможность газообмена и циркуляции жидкостей [Bing W. et al., 2022].

Локальная геометрия поверхностей и трёхмерная архитектура гранул ГМ создают биологическую среду, которая, по сравнению с плоскими поверхностями, влияет на генетическую экспрессию и форму клеток, мигрирующих на имплантированный биоматериал. Искривление поверхности пористых материалов, асимметрия и наличие вогнутостей на их поверхностях повышают клеточную адгезию и выживание [Hegarty-Cremer S.G.D. et al., 2021]. Скорость образования клеточного пула зависит от локального искривления тканевого субстрата, а искривление поверхности влияет на пространственно-временную организацию клеток и тканей. Геометрия поверхности модулирует как индивидуальное поведение клеток, так и коллективную колонизацию клеточных популяций через доступные клеткам высвобождающиеся пространства в скаффолде [Buenzli P.R. et al., 2020].

В зависимости от метода изготовления могут быть получены ГМ с различными физическими показателями пористости и шероховатости, механическим свойствам и композиционным градиентам [Pires T.H.V. et al., 2022; Omar A.M. et al., 2022]. Различия поверхности, даже в наноразмерных диапазонах, могут влиять на поведение клеток. Они оказывают регуляторное действие на несколько остеобластических функций, таких как адгезия клеток, миграция, пролиферация, клеточная сигнализация, генетическая экспрессия и судьба стволовых клеток. Шероховатость поверхностей и внутренних стенок пор гранул оказывает значительное влияние на гидродинамические свойства скаффолда. Пропорциональное повышение шероховатости стенок пор выявило зависимое снижение напряжения потока жидкости внутри сквозных пор и проницаемости скаффолда [Tang Z. et al., 2023].

При производстве ГМ образуется мелкодисперсная пыль, которая покрывает поверхности гранул, включая поверхности пор и устья каналов. Мелкодисперсная пыль изменяет геометрию пор и герметизирует отверстия каналов. Блокирование пространств каналов воздушными пробками и пылью уменьшает площадь

доступных поверхностей ГМ, предотвращает соединение пор в единую дренажную систему и препятствует миграции факторов роста кости (ФРК) и продвижению внутрь фракции ГМ сосудов и волокнистых структур из реципиентного ложа и мягкотканого окружения [Мальчикова Д.В., 2023; Hu Y. et al., 2022]. Это является физической причиной снижения адсорбционной ёмкости ГМ. Адсорбционная ёмкость фракции ГМ — это показатель способности фракции ГМ размещать максимально возможное количество ФРК на свободных поверхностях гранул и в межгранулярных пространствах, во внутренних пространствах пор.

В сравнении с имплантатами в виде блока сыпучие фракции ГМ легко моделируются в реципиентном ложе и позволяют устранять костные дефекты сложной геометрической формы [Zhou W.N. et al., 2019]. Для клинического использования производятся сыпучие фракции ГМ неоднородного гранулометрического состава. Сыпучая фракция ГМ имеет физические свойства, характерные для сыпучих смесей. Подготовка к использованию *ex tempore*, укладка в костный дефект и воздействие биологической среды реципиентного ложа на фракцию ГМ после имплантации в костный дефект изменяют физические свойства фракции ГМ. Воздействие биологического окружения инициирует сближение гранул ГМ [Матвеева В.Г. и др., 2020]. Это сопровождается конгломерацией гранул сыпучей фракции в стабильный конгломерат, финалом которого является неконтролируемое уплотнение гранул фракции в реципиентном ложе. Физическое влияние тромбоцитарно-фибринового комплекса уменьшает межгранулярные пространства скаффолда, что может вызвать послеоперационные осложнения, такие как изменение запланированного объёма каркаса и потеря свойств носителя ФРК. Сближение гранул фракции приводит к их чрезмерной упаковке, которые могут действовать как блоки, препятствующие клеточной адгезии, сосудистой инвазии в скаффолде, что может замедлить способность скаффолда поддерживать начальную реакцию роста кости [Литвинов Р.И. и др., 2018; Sun Y. et al., 2021; Borden M. et al., 2022].

Таким образом, для регулирования стабильности формы биоинженерной конструкции, сохранения межгранулярного пространства, оптимизации

биотрансформации в нативную кость необходимо выявить физические показатели, характеризующие динамику изменения физических свойств фракции ГМ в реципиентном ложе, а также определить условия повышения адсорбционных и дренажных возможностей ГМ, что позволит оптимизировать массоперенос питательных веществ и кислорода, удаление отходов, образующихся клетками.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Дизайн исследования

Структура дизайна исследования (Рисунок 1) включает экспериментальный (Рисунок 8) и клинический (Рисунок 2) этапы. Для реализации цели исследования в период с 2019–2023 г. проведён анализ клинических случаев 177 пациентов, направленных в клинику врачом - ортопедом-стоматологом для подготовки к ортопедическому лечению с использованием несъёмных ортопедических конструкций с опорой на дентальные имплантаты. В соответствии с целью исследования сформирована общая группа пациентов (n 91), которым для восстановления целостности зубного ряда несъёмными ортопедическими конструкциями, наряду с операцией дентальной имплантации, требовалось восстановление объёма кости альвеолярного отростка верхней челюсти методом направленной костной регенерации (НКР). Общую группу разделили на две клинические группы - основную группу (n 37) и группу сравнения (n 54). В основной группе устранение дефекта кости альвеолярного отростка верхней челюсти проводили методом НКР с использованием разработанного нами комбинированного трансплантата. В группе сравнения устранение ДКЧ проводили методом НКР по общепринятому способу. Для выполнения операции НКР в обеих группах использовали гранулированный костнопластический материал Cerabone (Botiss biomaterials GmbH, Германия, номер регистрационного удостоверения ФСЗ 2011/09299). Проведён статистический анализ полученных данных, сформулированы выводы и предложены практические рекомендации.

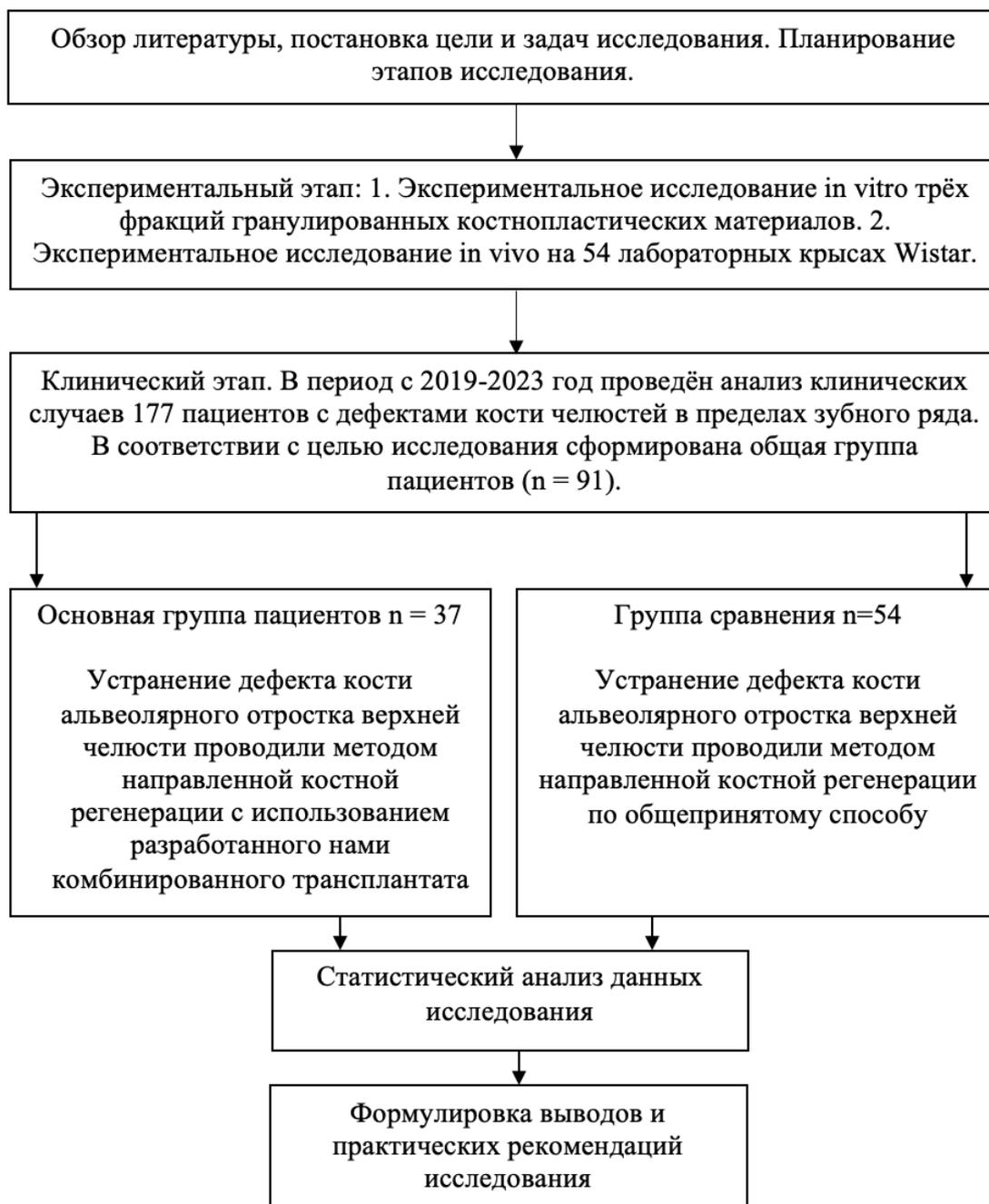


Рисунок 1 – Общий дизайн исследования. Структура дизайна клинического и экспериментального этапов исследования представлена в разделе 2.2 и разделе 2.3 соответственно.

2.2. Клинический этап исследования пациентов с дефектами кости альвеолярного отростка верхней челюсти

В период с 2019–2023 годы наблюдали 177 пациентов с дефектами кости челюстей в пределах зубного ряда, курация которых проходила согласно дизайну клинического этапа исследования (Рисунок 2).

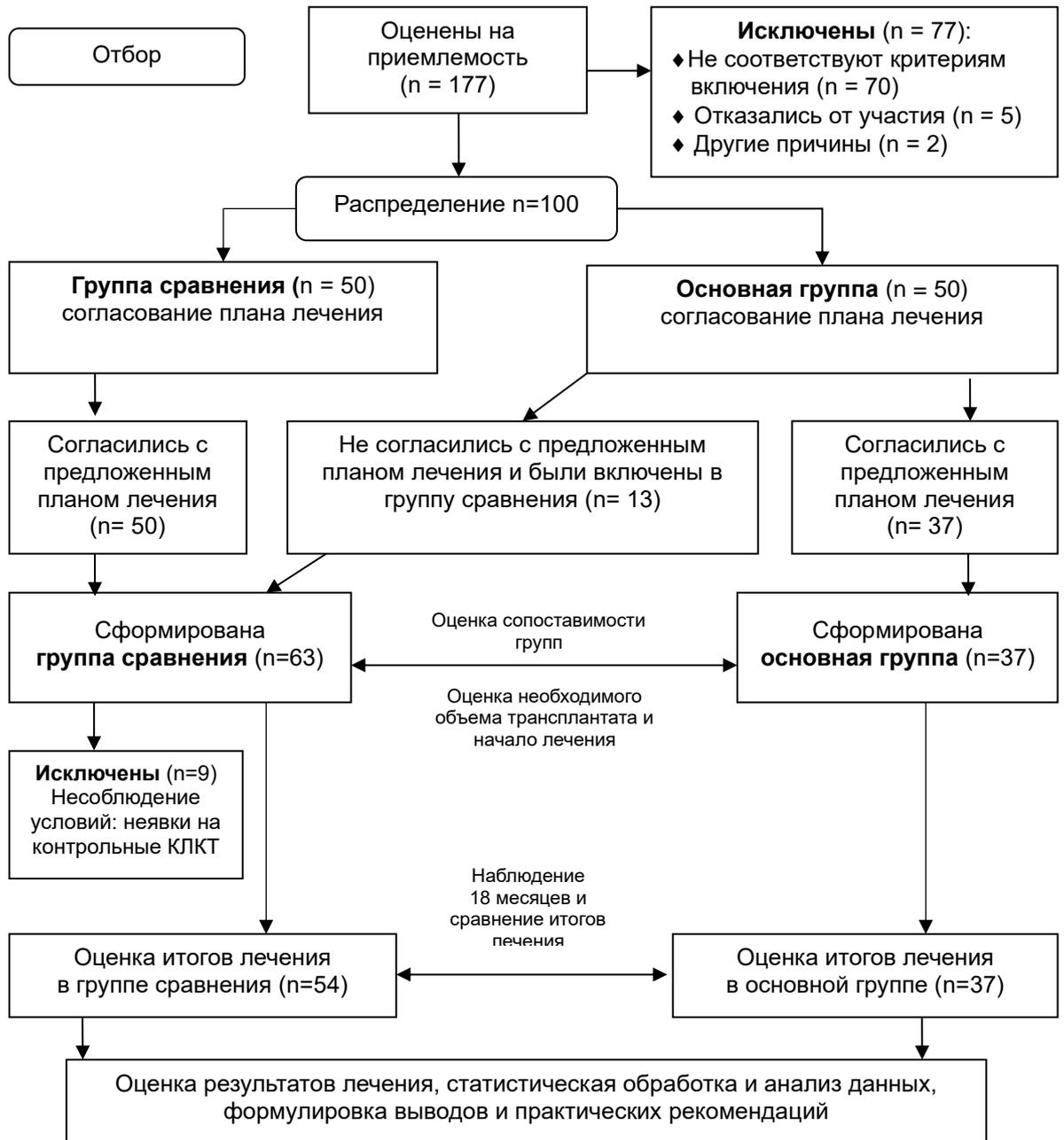


Рисунок 2 – Дизайн клинического этапа исследования пациентов с дефектами кости альвеолярного отростка верхней челюсти

Обследовано: мужчин - 71 (40,1%), и женщин – 106 (59,9%). Для обеспечения равномерного и случайного распределения пациентов по группам, отбор осуществляли случайным образом по номеру реестра пациентов, включённых в исследование. Пациентам с нечётным номером реестра предлагали общепринятый способ лечения (группа сравнения), а с чётным номером способ лечения с использованием комбинированного трансплантата (основная группа). На этапе распределения по группам 13 пациентов выразили несогласие с планом лечения основной группы и были включены в группу сравнения. Таким образом, в группу сравнения было включено 63 пациента, а в основную – 37 (Рисунок 2). Пациенты основной группы выполняли условия плана лечения и в рекомендованные сроки являлись на периодические осмотры. В группе сравнения девять пациентов самостоятельно прекратили приходить на периодические осмотры и были выведены из группы. Закончили наблюдение, согласно плану лечения, 54 пациента группы сравнения и 37 пациентов основной группы, которые были обследованы в намеченные сроки. Распределение пациентов обеих групп по полу и возрасту приведено в таблицах 1 и 2.

Таблица 1 – Распределение пациентов по полу на группы: основную и сравнения

Пол	Группа сравнения		Основная группа		P - значение
	абс*	%	абс*	%	
Мужчины	17	31%	11	30%	1,000
Женщины	37	69%	26	70%	
Итого	54	100%	37	100%	–

Примечание *: абс. – абсолютное число

Согласно данным, приведённым в таблицах 1 и 2, следует, что в обеих группах проведено комплексное лечение ДКЧ 91 пациенту в возрасте от 20 до 79 лет. Среди пациентов преобладают женщины – 69%, в то время как мужчин — 31%. Пациентов по возрасту распределяли в группы по мере их обращения. Пациенты в возрасте от 40 до 49 лет составили 31,9%, в возрасте от 50 до 59 лет – 28,6%.

Таблица 2 – Распределение пациентов по возрасту на группы: основную и сравнения

Возраст	Группа сравнения		Основная группа	
	абс*	%	абс*	%
20-29 лет	2	4%	2	5%
30-39 лет	12	22%	6	16%
40-49 лет	16	30%	13	35%
50-59 лет	15	28%	11	30%
60-69 лет	7	13%	5	14%
70-79 лет	2	4%	0	0%
Итого	54	100%	37	100%

Распределение частот мужчин и женщин в зависимости от возрастной группы:
критерий Хи-квадрат =2,2; df=5; p=0,827.
Различия не имеют статистической значимости (p>0,05)

Примечание *: абс. – абсолютное число

Оценка необходимого объема выборок пациентов клинической части исследования выполнялась по результатам предварительного исследования и вычисленных по нему средних и стандартных отклонений, а также по заданным клинически значимым различиям в средних. Для вычисления объема выборки использовали калькулятор: <http://powerandsamplesize.com/Calculators/Compare-2-Means/2-Sample-Equality>. Вероятности ошибок 1-го и 2-го рода принимали равными $\alpha=0,05$ и $\beta=0,2$. Данная величина β , отражающая ошибку 2-го рода (ненахождение отличий, когда они на самом деле есть), характеризует мощность исследования в 80%, что соответствует рекомендациям большинства авторов по медицинской статистике. Данные объемов выборок больше минимально необходимых для нашего исследования и обеспечивают заданный уровень значимости 5% и мощность 80%.

2.2.1. Клинические методы исследования

Клиническое обследование пациентов с ДКЧ включало сбор жалоб и анамнеза заболевания, объективных данных: осмотр пациента, оценка локального статуса. Полученные данные заносили в «Медицинскую карту стоматологического больного формы № 043/у» и в «Медицинскую карту стационарного больного

формы № 003/у». Все пациенты, включённые в исследование, подписали добровольное информированное согласие на проведение устранения ДКЧ методом НКР с использованием комбинированного трансплантата и общепринятым способом. Клиническое исследование было проведено в соответствии с Хельсинкским соглашением об исследованиях на людях, а план исследования был одобрен комитетом по биоэтике при Самарском государственном медицинском университете (Разрешение Комитета по биоэтике при СамГМУ из протокола № 235 от 29.01.2021).

Критерии включения пациентов в клинический этап исследования:

- 1) приобретённые ДКЧ, сформировавшиеся в результате одонтогенных воспалительных заболеваний;
- 2) наличие письменного согласия пациента с планом лечения в течение всего периода наблюдения;
- 3) пациенты обоего пола в возрасте от 18 до 79 лет;
- 4) размер дефекта от 0,5 см³ до 2,5 см³.

Критерии невключения в клинический этап исследования:

- 1) дефекты кости альвеолярной части нижней челюсти;
- 2) врожденные дефекты кости челюстей;
- 3) дефекты кости челюстей, сформированные злокачественным новообразованием;
- 4) дефекты кости челюстей, сформировавшиеся в результате заболевания пародонта;
- 5) дефекты кости челюстей, сформировавшиеся вокруг ранее установленных дентальных имплантатов;
- 6) несогласие пациента на участие в исследовании.

При осмотре полости рта определяли уровень интенсивности кариеса и его осложнений, анализировали состояние слизистой оболочки полости рта, биотип десны, уровень и толщину прикрепления тяжёлой слизистой оболочки преддверия полости рта, характер окклюзии зубов, состояние височно-нижнечелюстных суставов и тонус жевательной мускулатуры, проводили внутриротовую пальпацию

альвеолярного гребня в области дефекта зубного ряда. Визуальный осмотр и промер ДКЧ осуществляли с помощью штангенциркуля, определяли размеры наружной части дефекта кости: высоту, длину и ширину в вестибулярно-нёбном направлении, оценивали топографию рельефа. Определяли линию демаркации ороговевающего и неороговевающего многослойного плоского эпителия слизистой оболочки полости рта (Рисунок 3).

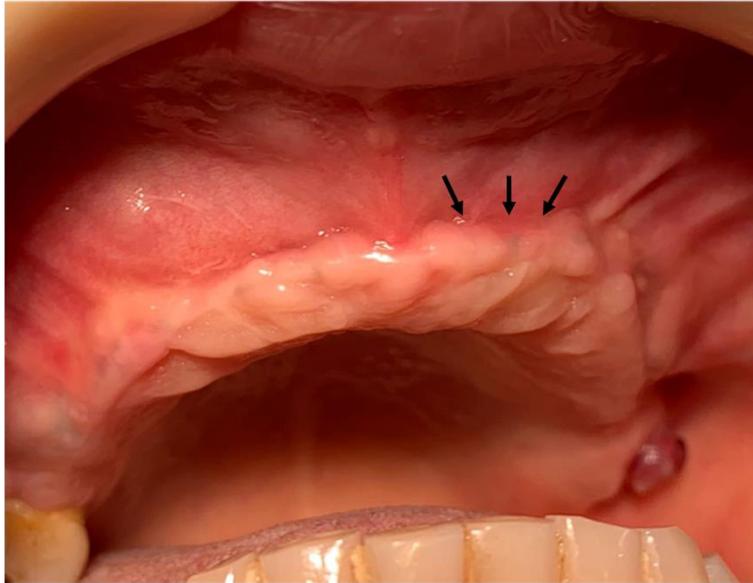


Рисунок 3 – Визуальный осмотр дефекта кости в полости рта. Определение линии демаркации ороговевающего и неороговевающего многослойного плоского эпителия (указано стрелками)

Перед проведением хирургического лечения методом НКР проводили санацию полости рта. Согласно цели исследования, после завершения хирургического вмешательства и снятия швов, пациентам был предложен план периодических осмотров: через 14 дней, 6 месяцев, 12 месяцев и 18 месяцев. Периодический осмотр пациентов включал:

1. опрос пациента и осмотр области хирургического вмешательства: состояние слизистой оболочки, уровень прикрепления десны к зубам и расположение линии демаркации ороговевающего и неороговевающего эпителия; сосудистый рисунок линии разреза и слизисто-надкостничного лоскута, укрывающего трансплантат, и его податливость; объём преддверия полости рта после устранения дефекта кости;

2. анализ объёма скульптуры трансплантата по данным КЛКТ в обеих группах в разработанном нами программном комплексе «DentDir» (свидетельство РФ о регистрации программы для ЭВМ № 2021666327)» (описание Способа анализа дано в главе 3, пункт 3.1).

2.2.2. Визуализация дефекта кости верхней челюсти методом конусно-лучевой компьютерной томографии

Диагностическое исследование ДКЧ и анализ динамики биотрансформации трансплантата в обеих группах осуществляли начиная с предварительного клинического осмотра и промера области интереса в полости рта с использованием данных, полученных методом конусно-лучевой компьютерной томографии (КЛКТ) верхней челюсти. КЛКТ верхней челюсти проводили на аппарате Vatech (Корея) Модель «PaX-i 3D», рентгеновская трубка Toshiba «D-052SB») 91 пациенту. Для всех исследуемых использовали следующие технические параметры: 90 пиковых кВ, 10 пиковых мА, размер пикселя 100 мкм, 5,9 x 230,4 мм активной области датчика, и частотой 200 кадров в секунду. Для соблюдения репрезентативности исследования в обеих группах КЛКТ выполнялась только в одном лицензированном учреждении («Пикассо») сертифицированными специалистами при однотипных условиях съёмки с использованием программного обеспечения «DICOM VIEWER» для просмотра и анализа медицинских изображений стандарта DICOM. Доза облучения пациента соответствовала Правилам обеспечения радиационной безопасности (Основные санитарные правила обеспечения радиационной безопасности (ОСПОРБ-99). СП 2.6.1.799–99. Издание официальное. Минздрав России. 2000. — 98 с. пункт 4). КЛКТ верхней челюсти проводили пациентам обеих групп с периодичностью, установленной дизайном исследования: до операции НКР и после - через 14 дней, 6, 12 и 18 месяцев (Рисунок 4).

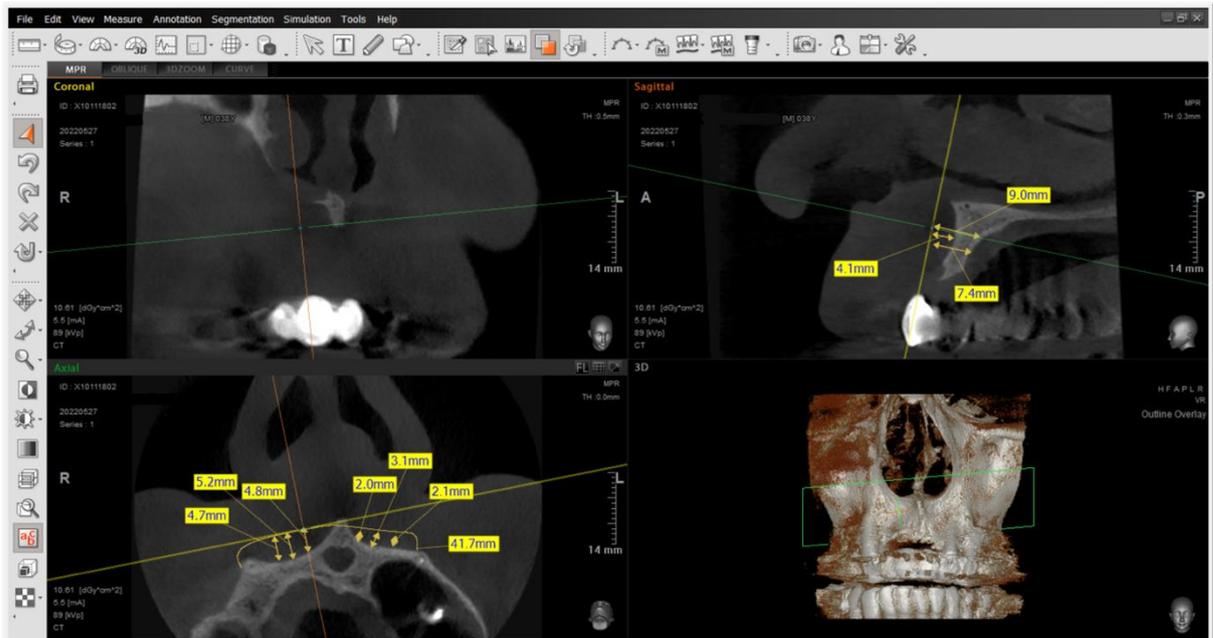


Рисунок 4 – Окно программы КЛКТ верхней челюсти пациента Д. (история болезни № 1987) в аксиальной, коронарной и фронтальной проекциях. Промер дефекта кости

В момент съёмки пациент находился в положении стоя, руки вытянуты вдоль туловища, голова стабилизирована ограничивающими опорами и подставкой для подбородка для минимизации движения во время процесса сканирования. Рентгеноанатомию дефекта анализировали в 3-х проекциях: аксиальной, коронарной и сагиттальной.

2.2.3. 3D-планирование устранения дефекта кости альвеолярного отростка верхней челюсти

В соответствии с дизайном исследования устранение ДКЧ в обеих группах осуществляли методом НКР по хирургическим протоколам, согласованными с пациентами основной группы и группы сравнения.

Последовательность действий 3D-планирования устранения дефекта кости верхней челюсти методом НКР в группе сравнения включала:

1. анализ КЛКТ верхней челюсти: выявление топографии и характера дефекта кости в соответствии с нашей рабочей классификацией; определение границ

дефекта и его взаимосвязи с располагающимися рядом или включёнными в него анатомическими структурами;

2. определение объёма дефекта кости проводили в программном комплексе «DentDir»;
3. требуемый объём ГМ определяли в программном комплексе «DentDir» по фактическим границам дефекта кости без учёта коэффициента естественного уплотнения ГМ и принимали его как равный объёму дефекта кости;
4. проводили подбор размера изолирующей коллагеновой мембраны по промерам в полости рта и данным КЛКТ по фактическим границам дефекта кости.

Последовательность действий 3D-планирования устранения дефекта кости верхней челюсти методом НКР в основной группе включала:

1. анализ КЛКТ верхней челюсти: выявление топографии и характера дефекта кости в соответствии с нашей рабочей классификацией; определение границ дефекта и его взаимосвязи с рядом располагающимися или включёнными в него анатомическими структурами;
2. Диагностику и расчёт объёма дефекта кости проводили в программном комплексе «DentDir»;
3. 3D-планирование скульптуры комбинированного трансплантата и раскрой лекала изолирующей мембраны в программном комплексе «DentDir» (Рисунок 5);

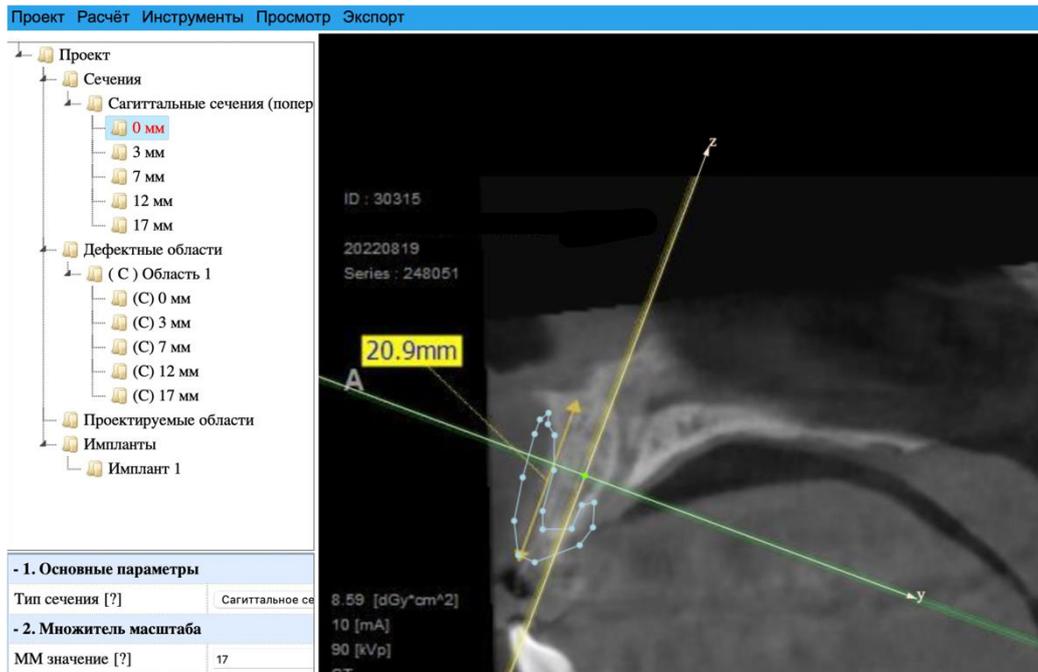


Рисунок 5 – Вид окна программы для ЭВМ. 3D-моделирование скульптуры комбинированного трансплантата

- расчёт требуемого объёма комбинированного трансплантата проводили по границам запланированной 3D-скульптуры трансплантата в программном комплексе «DentDir» с учётом коэффициента естественного уплотнения ГМ по разработанному нами способу (Патент на изобретение 2754190 С1) (описание способа планирования НКР и результатов расчётов с использованием программного комплекса будет приведено в главе 3 – результаты собственных исследований).

Клинический протокол операции НКР в основной группе

В основной группе устранение дефекта кости проводили методом НКР с использованием комбинированного трансплантата. Хирургический протокол метода НКР дополнительно включал применение разработанных нами способов: способа подготовки комбинированного трансплантата; способа укладки и способа фиксации комбинированного трансплантата в реципиентном ложе (пропись трансплантата, способ изготовления и способ использования комбинированного трансплантата описаны в главе 3).

Клинический протокол операции НКР в группе сравнения

В группе сравнения устранение дефекта кости осуществляли методом НКР. Для чего использовали трансплантат, содержащий ГМ Cerabone® (Botiss biomaterials GmbH, номер регистрационного удостоверения ФСЗ 2011/09299), и изолирующую коллагеновую мембрану Collprotect® (Botiss biomaterials GmbH, номер регистрационного удостоверения ФСЗ 2012/12812). После проведения проводниковой и инфильтрационной анестезии раскрывали дефект путём рассечения слизистой оболочки и надкостницы в проекции дефекта. Проводили его визуальный осмотр и экстирпацию эпителиально-соединительнотканых структур, заполняющих дефект. Затем промывали полость дефекта кости 3% водным раствором перекиси водорода и вносили в неё ГМ, подготовленный *ex tempore* по протоколу производителя, с последующим наложением поверх него резорбируемой коллагеновой мембраны. Все действия выполнялись согласно вышеописанному протоколу планирования операции НКР для группы сравнения (Рисунок 6).

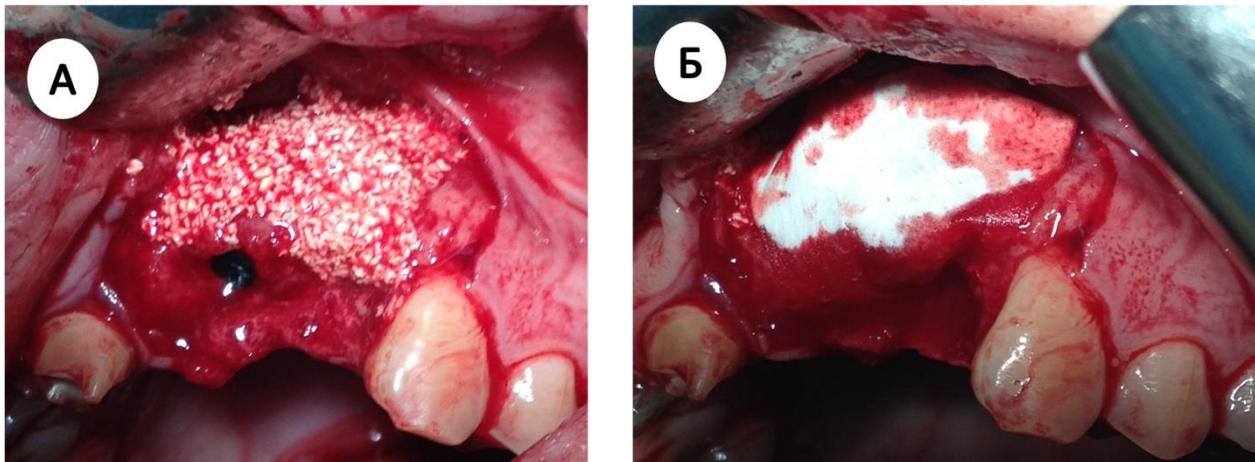


Рисунок 6 – Фото этапов устранения дефекта кости в группе сравнения. А – трансплантат уложен в полость дефекта по внешним границам; Б – резорбируемая коллагеновая мембрана зафиксирована над трансплантатом

После завершения хирургического вмешательства и снятия швов, пациенты обеих групп наблюдались в согласованные сроки в соответствии с планом периодических осмотров, отражённых в дизайне исследования: через 14 дней, 6, 12 и 18 месяцев. Для оценки динамики изменения объёма трансплантата в послеоперационном периоде в эти же сроки направляли пациентов обеих групп на КЛКТ верхней челюсти. Данные КЛКТ загружали в программный комплекс «DentDir» (Рисунок 7).

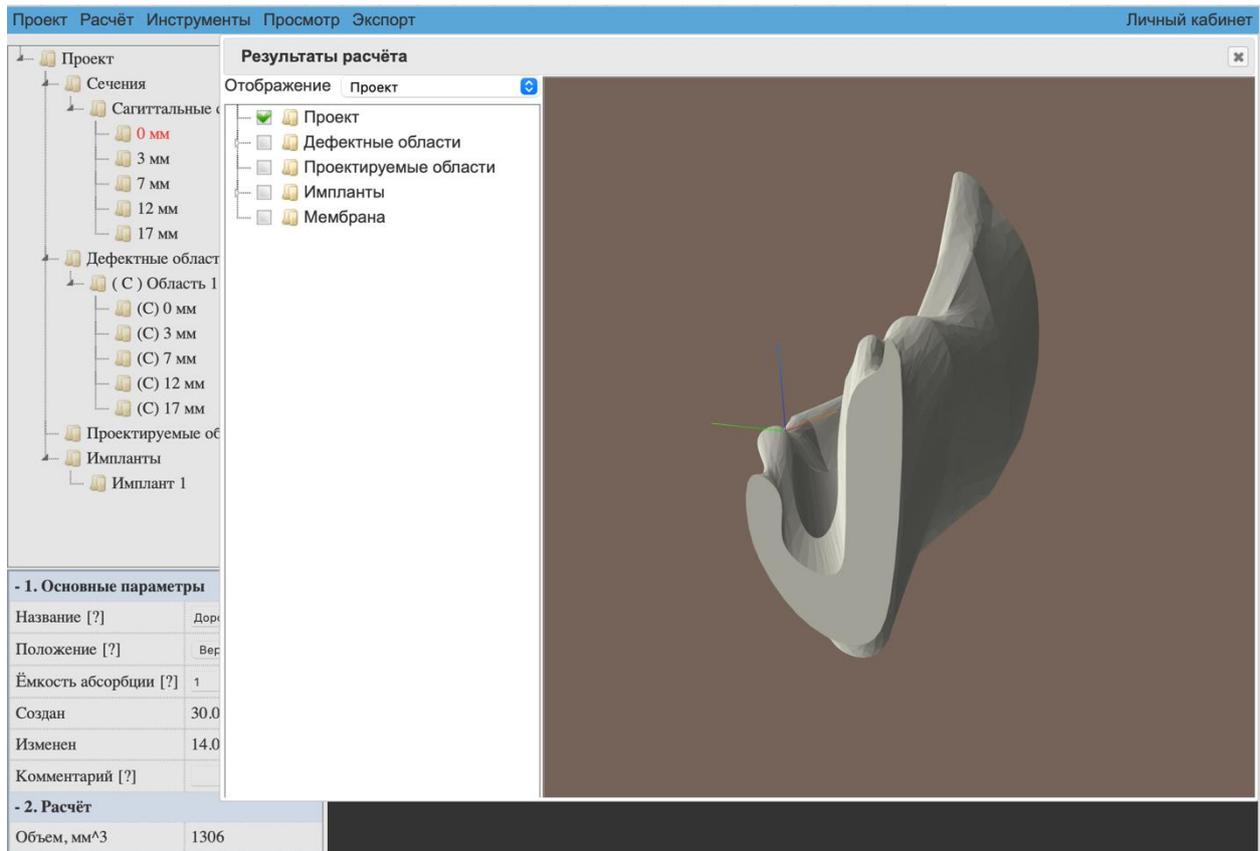


Рисунок 7 – Вид окна программы «DentDir». 3D модель комбинированного трансплантата

В программном комплексе «DentDir» проводили сравнительную оценку изменения запланированного объёма трансплантата с его фактическим объёмом, просчитанным в послеоперационном периоде в согласованные сроки наблюдения. Определяли разности требуемого объёма костнопластического материала в мм³ относительно снижения объёма трансплантата от фактически запланированного.

Ортопедическое лечение пациентов в обеих группах проводилось несъёмными конструкциями с опорой на имплантаты врачом-стоматологом-

ортопедом. Клинические протоколы лечения исследуемых групп изложены в главе 3.

2.3. Дизайн экспериментального этапа исследования

Дизайн экспериментального этапа исследования представлен на Рисунке 8. На первом этапе исследования с целью разработки комбинированного трансплантата в условиях *in vitro* были изучены особенности динамики изменений физических свойств трёх фракций гранулированных костнопластических материалов (ГМ): Bio-Oss[®] 0,25–1 мм (Geistlich, Швейцария), Cerabone[®] 0,5-1 мм (Botiss biomaterials GmbH, Германия) и Xenograft Collagen[®] 0,25-1 мм (BioOST, Россия). На втором этапе для апробации полученных результатов *in vitro* выполнено экспериментальное исследование *in vivo* на 54 лабораторных крысах Wistar. Животных случайным образом разделили на две группы. В группе сравнения и основной группе использовали гранулированные костнопластические материалы (ГМ): Bio-Oss (Geistlich, Швейцария) – ГМ 1, Cerabone (Botiss biomaterials GmbH, Германия) – ГМ 2, Xenograft Collagen (BioOST, Россия) – ГМ 3. В группе сравнения дефект кости заполнен ГМ 1, ГМ 2, ГМ 3 без подготовки. В основной группе дефект кости заполнен ГМ, подготовленный по методу дегазации и экстракции пыли (ГМ1*, ГМ2*, ГМ3*).

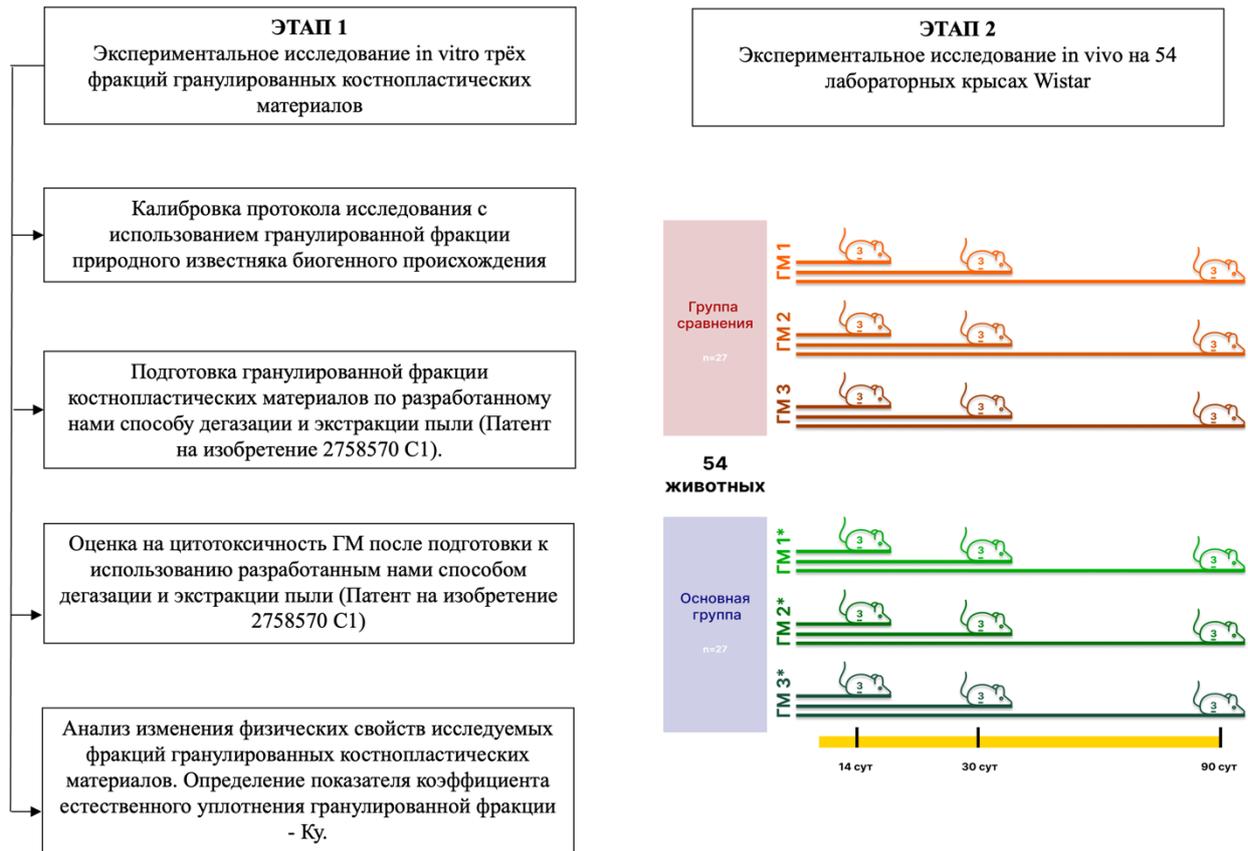


Рисунок 8 – Дизайн экспериментального этапа исследования

2.3.1. Этап экспериментального исследования in vitro трёх фракций ГМ

Для обоснования способов подготовки и использования в клинической практике трансплантатов, содержащих фракцию ГМ, мы использовали разработанную нами теоретическую модель для изучения в условиях in vitro динамики изменения физических свойств ГМ, сопоставимых с условиями in vivo. Экспериментальное исследование проведено в институте экспериментальной медицины и биотехнологий (ИЭМБ) ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (директор – д.м.н., профессор Л.Т. Волова) и на кафедре химии «Самарского университета» (доцент кафедры химии, к.х.н. В.И. Платонов). Для этого были отобраны образцы трёх фракций гранулированных КППМ, наиболее часто используемых на территории России: Bio-Oss® 0,25-1 мм (Geistlich, Швейцария), Cerabone® 0,5-1 мм (Botiss biomaterials GmbH, Германия) и Xenograft Collagen® 0,25-1 мм (BioOST, Россия). Все фракции ГМ имели примеси в виде крупнодисперсной крошки, мелкодисперсной пыли и воздушных пробок в порах гранул.

1. Теоретическая модель для изучения в условиях *in vitro* динамики изменения физических свойств ГМ, сопоставимых с условиями *in vivo*.

Разработка и применение представленной теоретической модели позволила нам в условиях *in vitro* моделировать динамику изменения физических свойств ГМ, максимально сопоставимых условиям *in vivo*. Для характеристики физических процессов биотрансформации и биodeградации ГМ в реципиентном ложе в теоретическую модель введены разработанные нами параметры аналитического инструментария (Патент на изобретение 2754190 С1), используемые при прогностическом 3D-моделировании скульптуры трансплантата (свидетельство РФ о регистрации программы для ЭВМ № 2021666327).

Калибровка протокола исследования

С целью калибровки протокола исследования в разработанной нами теоретической модели использовали гранулированную фракцию природного известняка (ИЗ) биогенного происхождения с модулем гранул 0,5–1 мм. Использование в условиях *in vitro* ИЗ для калибровки протокола исследования целесообразно с экономической, биологической и этической точек зрения. Известняк — осадочная горная порода, в большей степени органического (биогенного) происхождения, состоящая из кальцита или кальцитовых скелетных остатков раковин моллюсков [Shixaliyev K. S. et al., 2020]. ИЗ имеет схожий физико-химический состав с биodeградируемыми материалами, которые получены из экзоскелетов ракообразных и применяются для устранения дефектов кости челюстей [Гуменюк А.С. и др., 2020; Sheikh Z. et al., 2019; Titsinides S. et al., 2019; Galindo-Moreno P. et al., 2020]. Входящий в состав известняка карбонат кальция способен медленно растворяться в воде, разлагаться на углекислый газ и соответствующий основной оксид. Объёмная масса известняка ракушечника - около 800 кг/м³; предел прочности при сжатии - 0,4 Мпа; водопоглощение – от 0,1% до 2,1%; пористость – от 0,5% до 35%.

- ***Изготовление гранулированной фракции известняка заданного гранулометрического состава***
- Известняк измельчали под прессом и в мельнице до получения гранулированной фракции.
- Проводили гранулометрическую калибровку гранул фракции: полученную гранулированную фракцию загружали в сито с калибром ячеек сита 2 мм и просеивали на шейкере S 30 (ВИБРОТЕХНИК, Российская Федерация) в течение 1 минуты. Амплитуда колебаний сит шейкера 0,5 мм, частота вибрации 1500 колебаний в минуту.
- Фракцию гранул с модулем ≤ 2 мм помещали в сито с калибром ячеек сита до 1 мм, просеивали в аналогичных условиях.
- Для получения модуля гранул 0,5 мм, фракцию гранул известняка с модулем ≤ 1 мм помещали в сито с размером ячеек сетки 0,5 мм и просеивали в аналогичных условиях. Остаточную фракцию ИЗ удаляли просеиванием через ячейки сита 0,4 мм.
- Фракцию ИЗ с модулем гранул 1 мм смешивали с равным количеством фракции гранул с модулем 0,5 мм.
- Полученную фракцию известняка с модулем гранул 0,5-1 мм освобождали от мелкодисперсной пыли слабым потоком сухого воздуха.
- ***Подготовка гранулированной фракции ИЗ для моделирования in vitro динамики изменения физических свойств фракции ГМ в реципиентном ложе по разработанному нами способу дегазации и экстракции пыли (Патент на изобретение 2758570 С1)***
- Фракцию ИЗ насыпали в пробирку без уплотнения и отмечали высоту столба - h_1 . Далее пробирку устанавливали на вибростол (ВИБРОПРИВОД ВД 30, ВИБРОТЕХНИК, Российская Федерация) и уплотняли с амплитудой колебаний 0,25 мм в течение 10 минут. Получали высоту столба фракции ГМ h_2 после уплотнения.
- Удаление из фракции ИЗ крупнодисперсной и мелкодисперсной пыли, воздушных пузырей осуществляли методом дегазации и экстракции пыли, который

реализуется в две стадии. На этапах дегазации и экстракции пыли определяли показатели водопоглощения фракции ГМ по массе - W_{mE} и по объёму - W_{vE} , водопоглощения фракции ГМ по массе после дегазации - W_{mY} и по объёму после дегазации - W_{vY} (Таблица 3).

Первую стадию дегазации и экстракции пыли осуществляли в термостате. Температуру физиологического раствора доводили до $+37^{\circ}\text{C}$, в пробирку засыпали фракцию ИЗ (масса сухой фракции ИЗ - m_1), заливали её физиологическим раствором в соотношении 1:2, где на 1 мл ИЗ добавляли 2 мл физиологического раствора (V_1). Через 20 минут отделяли фракцию ИЗ от физиологического раствора, определяли объём (V_2) извлечённого физиологического раствора с помощью пипеточного дозатора (Дозатор механический одноканальный с переменным объёмом 20–200 мкл) и определяли массу ИЗ (m_2) на аналитических весах.

Во второй стадии дегазации и экстракции пыли фракцию ИЗ заливали раствором лимонной кислоты (рН1) в объёме V_2 при $+37^{\circ}\text{C}$ на 10 минут. Насыщенный раствор кислоты готовили путем медленного добавления безводной лимонной кислоты к 50 мл дистиллированной воды с использованием магнитной мешалки (Microfix, JP Selecta) для перемешивания раствора. Добавление кристаллов лимонной кислоты проводили до получения рН1, который определяли с помощью рН-метра. К каждому мл ИЗ добавляли 2 мл лимонной кислоты с рН 1 и инкубировали при 37°C в течение 10 минут. После десяти минут нахождения ИЗ в растворе лимонной кислоты запускали ультразвуковые генераторы и проводили активную дегазацию и экстракцию пыли в ультразвуковой ванне (УЗУ - 0,25, Россия) с частотой 18 кГц, мощностью 250 Вт и временем экспонирования 60 сек. После обработки ультразвуком лимонную кислоту отделяли от ИЗ для определения объёма (V_3) извлеченной жидкости с помощью пипеточного дозатора в эппендорфе. Определяли массу ИЗ на аналитических весах после воздействия на него двух стадий дегазации - m_3 . Для удаления остатков кислоты фракцию ИЗ помещали в физиологический раствор при температуре $+37^{\circ}\text{C}$ и ультразвуковую ванну (УЗУ - 0,25, Россия) с частотой 18 кГц, мощностью 250 Вт и временем экспонирования 60 сек.

- **Определение показателя коэффициента естественного уплотнения (K_y) гранулированной фракции известняка, подготовленной нашим способом дегазации и экстракции пыли (Таблица 3)**

Показатели физических свойств рассчитывали после удаления с поверхностей, из пор и каналов воздушных пузырей, крупнодисперсной крошки и мелкодисперсной пыли. Расчёт исследуемых физических свойств и динамики их изменений проводили по формулам, приведённым в таблице 3, согласно рекомендациям [Гриценко В.А. и др., 2008].

Таблица 3 – Определение коэффициента естественного уплотнения ГМ

Показатель	Формула
Реальный объем фракции ГМ в естественном виде	$V_E = (\pi \cdot r^2 \cdot h_1) / 4$
Средняя плотность	$\rho_{cp} = m_1 / V_E$
Водопоглощение фракции ГМ по массе	$W_{mE} = [(m_2 - m_1) / m_1] \cdot 100\%$
Водопоглощение фракции ГМ по объёму	$W_{vE} = [(m_2 - m_1) / V_E] \cdot 100\%$
Коэффициент зависимости	$d = W_{vE} / W_{mE}$
Объём фракции ГМ после уплотнения	$V_y = (\pi \cdot r^2 \cdot h_2) / 4$
Водопоглощение фракции ГМ по массе после дегазации	$W_{my} = [(m_3 - m_1) / m_1] \cdot 100\%$
Водопоглощение фракции ГМ по объёму после дегазации	$W_{vy} = [(m_3 - m_1) / V_y] \cdot 100\%$
Коэффициент зависимости после уплотнения	$d_{max} = W_{vy} / W_{my}$
Плотность фракции ГМ после уплотнения	$\rho_y = m_1 / V_y$
<u>Коэффициент уплотнения фракции ГМ</u>	$K_y = d_{max} / d$

Примечание: r – радиус ёмкости, (см); h_1 – высота фракции материала в естественном виде, (см); h_2 – высота фракции материала после уплотнения, (см); m_1 – масса фракции материала в сухом состоянии, (гр); m_2 – масса фракции материала, насыщенного физиологическим раствором после первого этапа дегазации и экстракции пыли, (гр); m_3 – масса фракции материала после проведённых стадий дегазации, (гр).

2. Протокол подготовки к использованию гранулированных фракций костнопластических материалов Bio-Oss® 0,25–1 мм (Geistlich,

Швейцария), Cerabone® 0,5-1 мм (Botiss biomaterials GmbH, Германия) и Xenograft Collagen® 0,25-1 мм (BioOST, Россия).

Подготовка к использованию гранулированных фракций Bio-Oss® 0,25-1 мм (Geistlich, Швейцария), Cerabone® 0,5-1 мм (Botiss biomaterials GmbH, Германия) и Xenograft Collagen® 0,25-1 мм (BioOST, Россия) проводилась ex tempore аналогичным образом по протоколу способа дегазации и экстракции пыли до устранения дефекта кости методом НКР. Способ подготовки приведён выше в описании теоретической модели для изучения в условиях in vitro трансплантатов, содержащих фракцию ГМ (п 1).

3. Оценка на цитотоксичность ГМ после подготовки к использованию разработанным нами способом дегазации и экстракции пыли (Патент на изобретение 2758570 С1)

Исследование in vitro выполнено на 27 образцах (по 9 образцов в каждой группе исследования). В группе 1 интактные образцы - Bio-Oss® 0,25-1 мм (Geistlich, Швейцария), Cerabone® 0,5-1 мм (Botiss biomaterials GmbH, Германия) и Xenograft Collagen® 0,25-1 мм (BioOST, Россия). В группе 2 образцы - Bio-Oss® 0,25-1 мм (Geistlich, Швейцария), Cerabone® 0,5-1 мм (Botiss biomaterials GmbH, Германия) и Xenograft Collagen® 0,25-1 мм (BioOST, Россия) после подготовки к использованию разработанным нами способом дегазации и экстракции пыли. В качестве контроля использовали группу 3, включающую только культуру мезенхимальных стромальных клеток (МСК), полученных из пупочного канатика человека (Таблица 4).

Таблица 4 – Оценка цитотоксичности и жизнеспособности мезенхимальных стромальных клеток человека к размещению на фракции ГМ после подготовки нашим способом

Группа 1	Группа 2	Группа 3
Интактные образцы	Образцы после воздействия методом дегазации и экстракции пыли	Культура мезенхимально-стромальных клеток, полученных из пупочного канатика человека
Bio-Oss® 0,25-1 мм (Geistlich, Швейцария)	Bio-Oss® 0,25-1 мм (Geistlich, Швейцария)	
Cerabone® 0,5-1 мм (Botiss biomaterials GmbH, Германия)	Cerabone® 0,5-1 мм (Botiss biomaterials GmbH, Германия)	
Xenograft Collagen® 0,25-1 мм (BioOST, Россия)	Xenograft Collagen® 0,25-1 мм (BioOST, Россия)	

Работа с исходным материалом и клеточными культурами проходила в культуральном боксе в помещении класса С в стерильных условиях ламинаров (класс А) в отделении заготовки крови и её компонентов ГБУЗ «Самарский областной медицинский центр Династия» (директор – д.м.н., профессор О.В. Тюмина) (Рисунок 9). Ростовые среды в процессе культивирования клеток и регулярно контролировали на стерильность, контаминацию микоплазмами и вирусами, наличие грибковой флоры.



Рисунок 9 – Работа с клеточными культурами в культуральном боксе в отделении заготовки крови и её компонентов ГБУЗ «Самарский областной медицинский центр Династия»

Для оценки цитотоксичности разработанного нами метода дегазации и экстракции пыли, использовали МСК, полученные из пупочного канатика человека, донор №7000400025628, культуры 2-го пассажа. Жизнеспособность клеток при заморозке составляла 96%. Перед введением в эксперимент МСК размораживали на водяной бане при температуре 37°C в течение 2,5 минут. В условиях ламинарного шкафа (KS-12 Herasafe (Thermo Scientific, США)) МСК двукратно отмывали от криопротектора стерильным раствором фосфатно-солевого буфера (раствор Дальбекко (DPBS, Биолот, Россия)). Жизнеспособность клеток перед введением в эксперимент составляла 94% в количестве 5,8 млн.

Образцы каждой группы помещали в культуральные чашки Петри 100 см² (SPL, Корея). В группах 1 и 2 на поверхность материала с помощью дозатора переменного объёма переносили 500 000 клеток. В группе 3 использовали чашку Петри площадью 100 см² с таким же количеством посаженных клеток (Рисунок 10). Через 15 минут после введения клеточной суспензии в каждую культуральную чашку добавляли ростовую среду α -MEM жидкая, с L-глутамином, стерильная

(ООО «Биолот», Россия), 2mM L-глутамина (ООО «Биолот», Россия). Образцы в среде помещали в CO₂-инкубатор СВ 210 (Binder, Германия) и инкубировали при стандартных условиях в течение 8 суток. Ежедневно проводился визуальный осмотр культуры и оценивалась морфология клеток (Рисунок 10). На восьмые сутки чашки трипсинизировались (раствор трипсина-ЭДТА (ПанЭко, Россия)), производилась дезагрегация клеток с пластика.



Рисунок 10 - Мезенхимальные стромальные клетки, полученные из пупочного канатика человека, донор №7000400025628 и размещенные в культуральные чашки Петри 100 см²

Для оценки жизнеспособности МСК в культуре использовали счётчик клеток Countess II FL Automated Cell Counter (Thermo Fisher Scientific, USA). Определяли пролиферативный индекс и скорость удвоения культуры. Оценку морфологии культивируемых клеток проводили в динамике на всех этапах культивирования с помощью микроскопа AXIO Observer A1 (Carl Zeiss, Германия) (Рисунок 11).

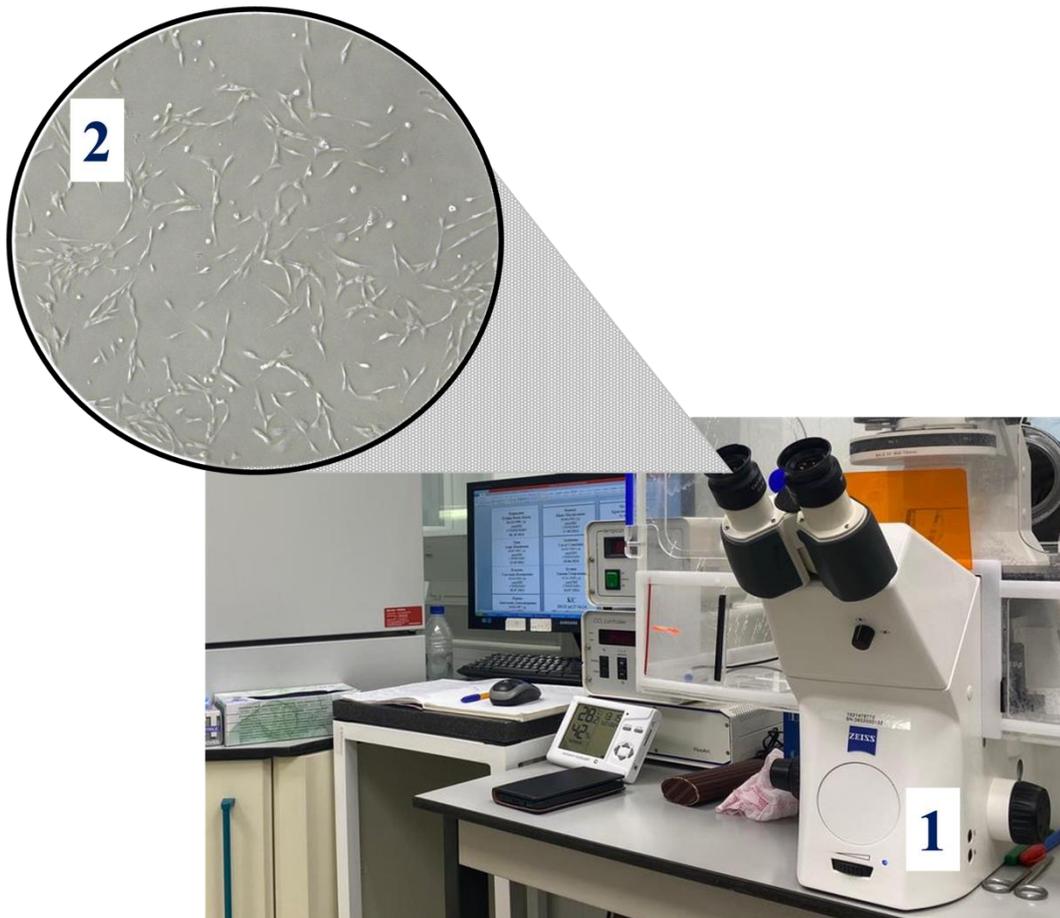


Рисунок 11 – Оценка морфологии культивируемых клеток: 1 – микроскоп AXIO Observer A1; 2 – мезенхимальные стромальные клетки, полученные из пупочного канатика человека, донор №7000400025628

2.3.2. Этап экспериментального исследования *in vivo*

При выполнении оперативных вмешательств на животных, а также их содержании в виварии Института экспериментальной медицины и биотехнологий (ИЭМБ) ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (директор – д.м.н., профессор Л.Т. Волова), руководствовались Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123, Страсбург, 18.03.1986г.); «Принципами надлежащей лабораторной практики» национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ № 33044-2014, введен с 1.08.2015г.; «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к устройству,

оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» (СП 2.2.1.3218-14).

План исследования на животных был рассмотрен и одобрен комитетом по биоэтике (разрешение Комитета по биоэтике при СамГМУ из протокола № 235 от 29.01.2021).

Исследование выполнено на 54 лабораторных крысах Wistar, со средним весом $180 \pm 15,1$ грамм обоего пола, возрастом 5-6 месяцев.

Животных случайным образом разделили на две группы. В группе сравнения и основной группе использовали гранулированные костнопластические материалы (ГМ): Bio-Oss (Geistlich, Швейцария) – ГМ 1, Cerabone (Botiss biomaterials GmbH, Германия) – ГМ 2, Xenograft Collagen (BioOST, Россия) – ГМ 3. В группе сравнения костный дефект заполнен ГМ 1, ГМ 2, ГМ 3 без подготовки. В основной группе дефект кости заполнен ГМ, подготовленный по разработанному нами способу дегазации и экстракции пыли (ГМ1*, ГМ2*, ГМ3*). На каждую точку исследования было 3 животных (Рисунок 8).

Под внутримышечным наркозом смеси анестетиков «Золетил 100» (Virbac С.А., Франция) в дозировке 15 мг/кг веса и «Рометар» (Bioveta, Чехия) в дозировке 6 мг/кг веса скальпелем произвели разрез 5 мм в проекции угла нижней челюсти. Распатором отслоили жевательную мышцу – обнажили кость. При помощи твердосплавного шаровидного бора с вестибулярной поверхности ветви нижней челюсти на расстоянии 3 мм от угла нижней челюсти сформировали трепанационное отверстие диаметром 2 мм (Рисунок 12). Сформированный дефект кости заполняли исследуемыми гранулированными костнопластическими материалами (Рисунок 13). Устраненный дефект кости нижней челюсти закрывали фасцией и жевательной мышцей. Рану послойно ушили наглухо. Для предупреждения развития бактериальной инфекции швы обрабатывали антибиотиком широкого спектра действия «Тетрацилин» (Pfizer Animal Health, США). Все манипуляции производили с соблюдением правил асептики и антисептики.

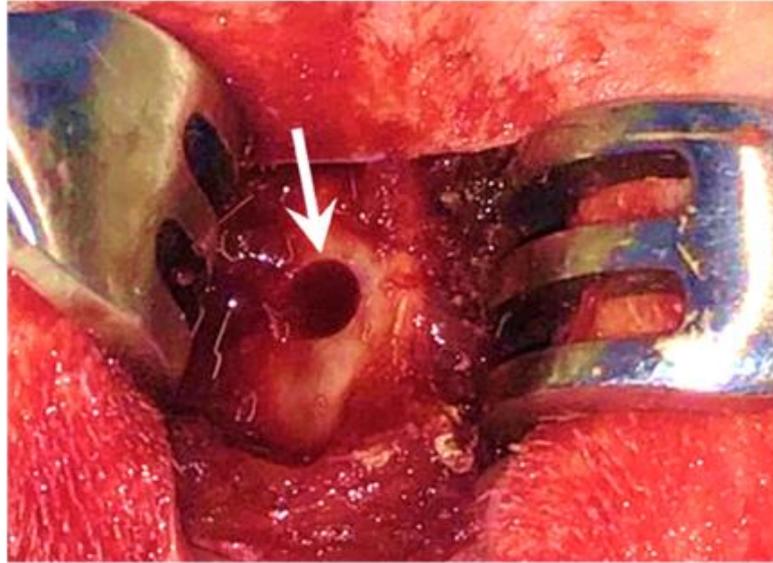


Рисунок 12 – Сформировано трепанационное отверстие



Рисунок 13 – Заполнение дефекта гранулированным костнопластическим материалом

По истечении 14, 30 и 90 дней животных выводили из эксперимента для проведения гистологического анализа области дефекта кости.

Морфологические методы исследования

1. Световая микроскопия проводилась на кафедре общей и клинической патологии: патологической анатомии и патологической физиологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (доцент кафедры общей и клинической патологии: патологической анатомии и патологической физиологии, к.м.н. Ю.В. Юнусова)

- Выпиленный фрагмент нижней челюсти помещали в 10% раствор параформальдегида на фосфатном буфере с рН 7,2–7,4. Далее материал промывали проточным методом и помещали в декальцинирующий раствор Трилона Б. После декальцинации формировали из фрагментов челюсти образцы необходимого размера. Затем образцы промывали проточным способом в нескольких водах, проводили через серию парафиновых сред, заливали в парафин и получали парафиновые блоки. Изготавливали срезы толщиной 4-5 мкм, их окрашивали по стандартной методике гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизон и анализировали с помощью системы визуализации на основе исследовательского микроскопа Olympus VX41 (Olympus, Япония), цветной цифровой камеры ProgRes CF (Jenoptik, Германия) и стационарного компьютера, с программным обеспечением «Морфология 5.2» (ООО ВидеоТест, Россия).

- Во время операции дентальной имплантации для изучения тканевого окружения и характеристики биотрансформации тканей, выстилающих дефект кости, проводили забор мягкотканых компонентов. Полученный операционный материал отправляли на гистологическое исследование. Полученные образцы помещали в 10% раствор параформальдегида на фосфатном буфере с рН 7,2–7,4, после чего промывали в проточной воде 30 мин. Далее биоптаты помещали в гистопроцессор замкнутого цикла Tissue-Tek VIP 5 Jr «Биовитрум», где проводили обезвоживание в изопропиловом спирте при температуре 40 °С (8 циклов по 1 ч), в ксилоле при температуре 50°С (1 цикл, 50 мин) и насыщали парафином «Гистомикс» при температуре 58°С (4 цикла по 45 мин). После проводки и заливки в парафин материала изготавливали серийные срезы толщиной 2–3 мкм с помощью санного микротомы «MICROM-НМ-450», которые окрашивали гематоксилином и эозином («Биовитрум», Россия), а также пикрофуксином по Ван Гизону. После

окраски препараты заключали в монтирующую среду и высушивали в течение 7–14 дней при комнатной температуре. Фотодокументирование проводили на микроскопе Nikon ECLIPSE E200, фоторедактирование — в программе Picasa 3.

2. Сканирующая электронная микроскопия выполнена совместно с «Самарским университетом» на кафедре химии (доцент кафедры химии, к.х.н. В.И. Платонов).

Фракции ГМ устанавливали на углеродную проводящую ленту с двойным покрытием, затем напыляли золотом с использованием UNICOAT 600t. Топографический анализ поверхности образца проводили с использованием сканирующего электронного микроскопа Tescan Vega с микроанализатором Inga Energy (TES-CAN, Чехия) в режиме обнаружения вторичных электронов. Рабочее расстояние корректировали для получения подходящего увеличения. Ускоряющее напряжение было установлено 30 кВ.

2.4. Статистический анализ полученных данных

Статистический анализ данных проведен на персональном компьютере Intel® Core (TM) i7 CPU в среде Windows 10 с использованием программы Microsoft Office Excel 2013, статистического пакета IBM SPSS Statistics 25 PS IMAGO 5.0, лицензия No 5725-A54.

В экспериментальной части *in vitro* описательные статистики представлены средним и стандартным отклонением – $M (SD)$. Для моделирования скорости дегазации применяли нелинейную регрессию: 4-параметрическую логистическую кривую. Оценку качества моделирования проводили по коэффициенту детерминации, статзначимости уравнения в целом и отдельных его предикторов.

В экспериментальной части *in vivo* описательные статистики представлены средним и стандартным отклонением – $M (SD)$. При сопоставлении группы сравнения и основной группы использовали критерий t Стьюдента.

При всех видах анализа результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

В клинической части исследования описательные статистики представлены средним и стандартным отклонением – $M (SD)$. Проверка нормальности

распределения выполнялась по критерию Шапиро-Уилка, а также проводилась визуальная оценка гистограмм распределения, анализировали показатели асимметрии и эксцесса. В большей части случаев отклонений от нормальности не выявлено, примерно в четверти случаев выявлено отличное от нормального, симметричное, но остро- или плосковершинное распределение. Сравнения независимых групп – основной и группы сравнения – выполнялись по критерию Манна-Уитни и критерию Стьюдента. Поскольку во многих случаях выявлены различия дисперсий в группах, в итоговых таблицах представлены результаты по критерию Манна-Уитни. Сравнения в динамике наблюдения в пределах каждой группы выполняли по парному критерию Вилкоксона и по парному критерию Стьюдента.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В данной главе представлены результаты проспективного когортного исследования пациентов с ДКЧ одонтогенной этиологии. Проведён анализ результатов наблюдения 91 клинического случая и данных экспериментального исследования с целью обоснования использования в клинической практике комбинированного трансплантата для устранения ДКЧ. Отбор пациентов для исследования проводился по общим клиническим признакам (этиология заболевания; топографо-анатомическая локализация дефекта кости; возраст – пациенты не моложе 18 лет) и общим факторам исходов, определяемым целевыми мотивами пациентов - устранение ДКЧ, как этап подготовки к восстановлению целостности зубного ряда несъёмными ортопедическими конструкциями с опорой на дентальный имплантат. Из прошедших отбор пациентов сформировали две клинические группы: группа сравнения (n 54) и основная группа (n 37).

3.1. Топографо-анатомический анализ дефектов кости верхней челюсти и морфологическая оценка мягкотканых компонентов, выстилающих дефект кости

В соответствии с целью исследования был проведён топографо-анатомический анализ дефектов кости верхней челюсти, сформировавшихся в результате осложнения одонтогенного воспалительного заболевания. Мы определили, что дефекты кости данной этиологии, характеризуются снижением значительной доли камбиальных элементов надкостницы, деструкцией кортикальной и губчатой кости альвеолярного отростка. Они локализуются не только в проекции альвеолярного отростка, но и в большинстве случаев распространяются в области, расположенные за его границами. Учитывая это, для анализа и систематизации данных о результатах применения в клинической практике комбинированного трансплантата, мы использовали разработанную нами рабочую классификацию дефектов кости верхней челюсти, сформированных в результате осложнения одонтогенного воспалительного заболевания. В соответствии с нашей рабочей классификацией дефекты кости верхней челюсти по этиологии классифицированы на врождённые (4%) и приобретённые (96%,

формируются в результате осложнения течения одонтогенного воспалительного заболевания) (Рисунки 14, 15, 16), и по топографо-анатомическим признакам — на вертикальные (33%), горизонтальные (27%), сочетанные (31%), фенестрацию и дегисценцию кортикальной кости (9%) (Рисунок 17).

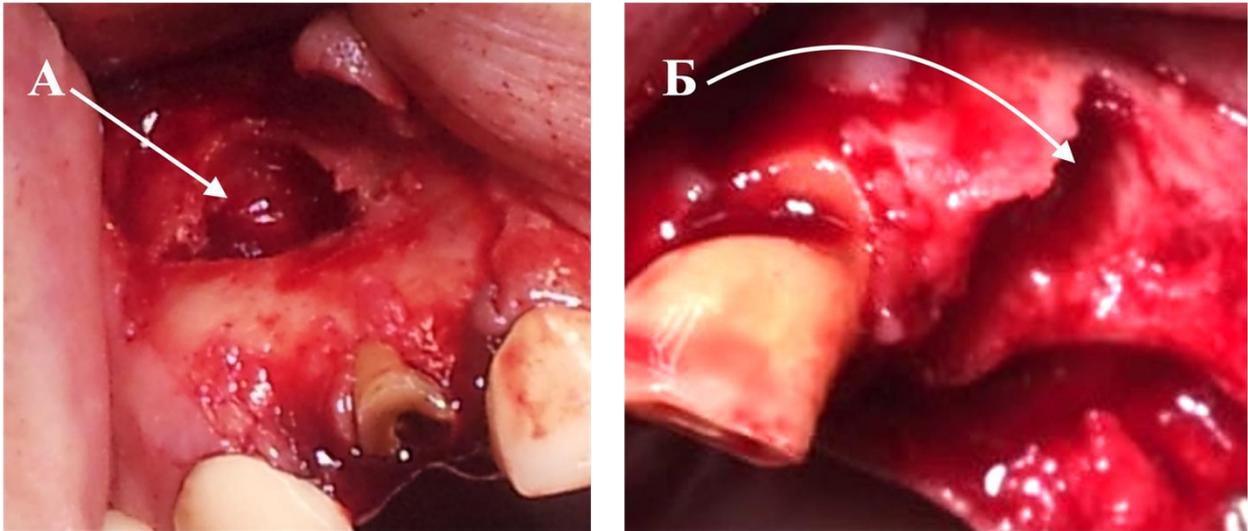


Рисунок 14 – Фото клинических случаев пациентов с приобретёнными дефектами кости альвеолярного отростка верхней челюсти: А – фенестрация кортикальной кости; Б - дегисценция кортикальной кости

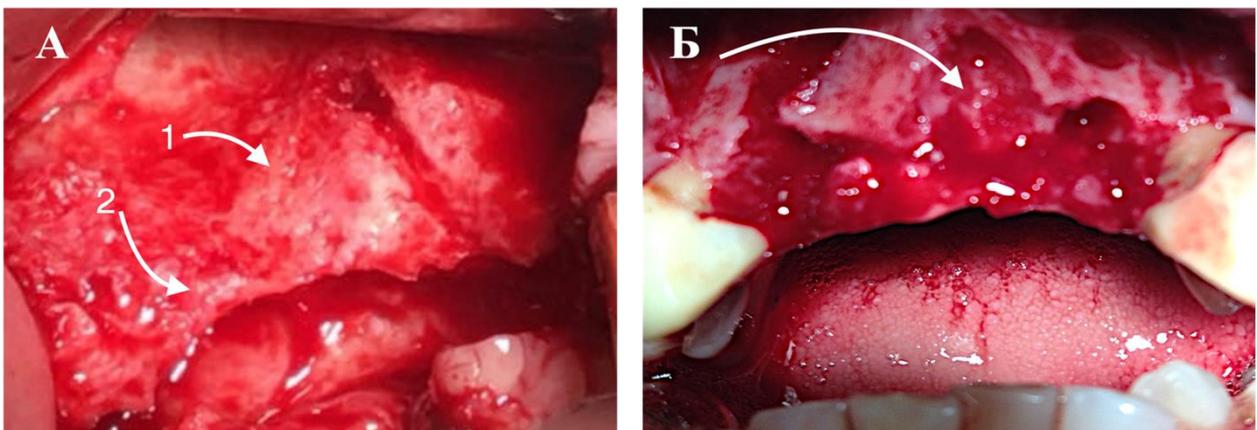


Рисунок 15 – Фото клинических случаев пациентов с приобретёнными дефектами кости альвеолярного отростка верхней челюсти: А – вертикальный (1) и горизонтальный (2) дефекты кости альвеолярного отростка верхней челюсти; Б – сочетанный дефект кости альвеолярного отростка верхней челюсти

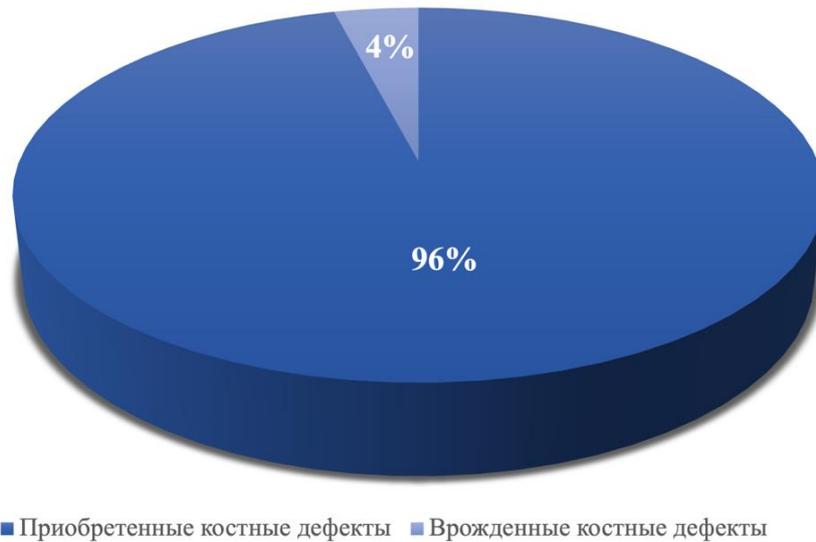


Рисунок 16 – Долевое распределение пациентов с приобретёнными и врождёнными дефектами кости альвеолярного отростка верхней челюсти

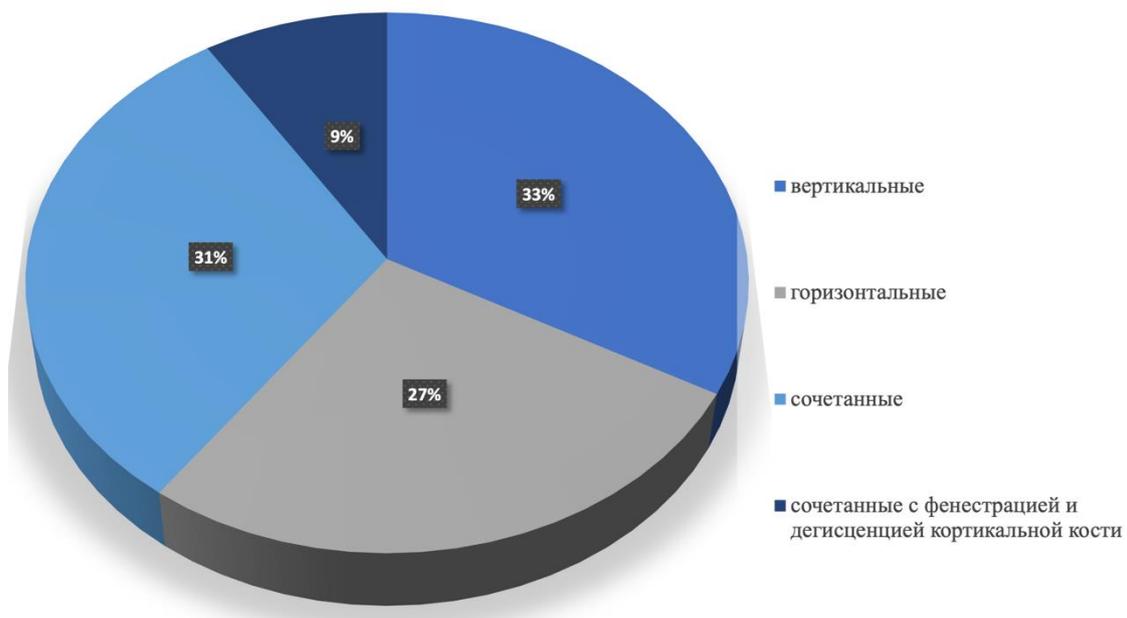


Рисунок 17 – Долевое распределение пациентов с приобретёнными дефектами кости альвеолярного отростка верхней челюсти по характеру поражения костной ткани

Топографо-анатомический анализ дефектов кости изучаемой локализации позволил выявить особенности влияния мягкотканого окружения на репаративные

возможности кости и динамику патогенеза заболевания. При микроскопическом исследовании гистологических срезов, полученных из области дефекта кости, было выявлено, что в мягкотканой строме, заполняющей дефект кости, имеется выраженная инфильтрация из лимфоцитов, моноцитов, плазмоцитов, с локализацией единичных фибробластов и эозинофилов. Определяются многочисленные тонкостенные кровеносные сосуды. Визуализируется многослойный плоский неороговевающий эпителий и расположенные под ним участки соединительной ткани. Эпителий сильно утолщён, наблюдаются явления гиперплазии эпителиальных клеток базального и шиповатого слоёв. Эпителий распространяется в подлежащую соединительную ткань без нарушения целостности базальной мембраны, увеличивается выраженность сосочков соединительной ткани. Соединительнотканые сосочки становятся более выраженными. Прослеживаются явления акантоза - утолщение эпителия слизистых оболочек с удлинением межсосочковых отростков. Признаки метаплазии эпителия отсутствуют. В трети полей зрения в эпителии отмечается межцеллюлярный отёк - расхождение клеток, в основном, шиповатого слоя. В промежутках между клетками становятся хорошо заметны «шипики» клеток в местах их соединения при помощи десмосом (Рисунок 18). В некоторых участках отмечается незначительная лейкоцитарная инфильтрация эпителия.

Отмечается пролиферация эпителия и его продвижение в полость дефекта по поверхности кости. Выявлены участки плотного соединения эпителия и соединительной ткани с костью с вращением их в крупные костные каналы (Рисунок 19). Массивное продвижение эпителия подавляет продукцию факторов роста кости, нарушаются молекулярно-клеточные механизмы и межтканевые взаимодействия. Эпителиально-соединительнотканый комплекс выстилает костную поверхность дефекта замещая надкостницу. Это приводит к блокированию репаративного остеогенеза в области дефекта кости.

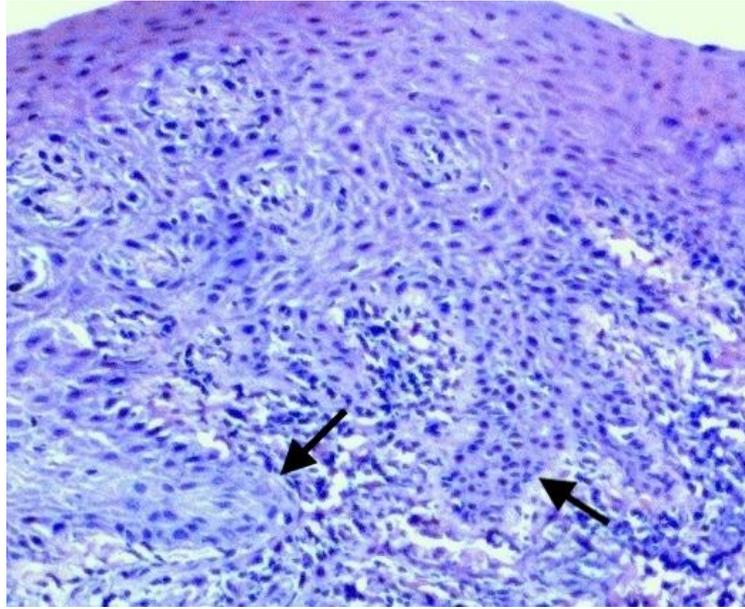


Рисунок 18 – Мягкотканый фрагмент из области дефекта кости. Пласты многослойного плоского эпителия. Вращение эпителия в подлежащую ткань. Стрелками указана базальная мембрана эпителия без нарушения её целостности. Окраска гематоксилин-эозин (x150)

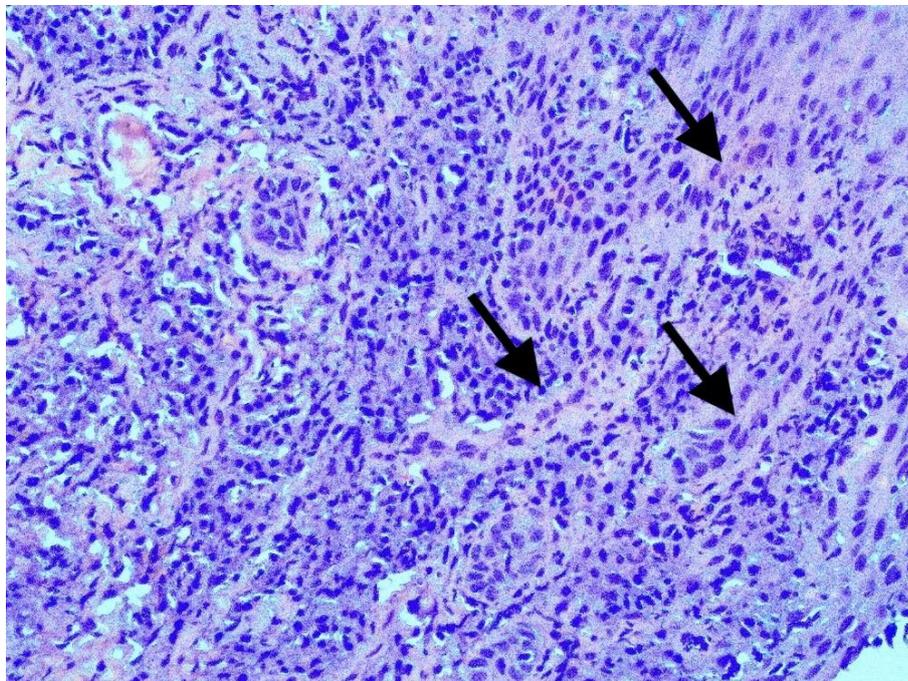


Рисунок 19 – Мягкотканый фрагмент из области дефекта кости. Стрелками указано вращение эпителия в подлежащую ткань. Окраска гематоксилин-эозин (x200)

Под эпителием и в местах, не покрытых эпителием, визуализируются обширные участки грануляционной ткани с выраженными признаками продуктивного воспаления со склерозом и гиалинозом соединительнотканых волокон. Преобладают участки рыхлой соединительной ткани с выраженной полиморфноклеточной инфильтрацией. В отдельных участках отмечается замещение жировой тканью. Среди клеток преобладают лимфоциты и макрофаги (лимфоцитарно-гистиоцитарная инфильтрация), фибробласты. В некоторых полях зрения - нейтрофилы, эозинофилы, плазмоциты, моноциты.

Под участками с сильной инфильтрацией и между ними визуализируется неоформленная соединительная ткань с мощными пучками коллагеновых волокон. В рыхлой соединительной ткани явления ангиогенеза – наличие многочисленных новообразованных мелких тонкостенных сосудов микроциркуляторного русла. Костная ткань в области дефекта кости представлена костными балками, на периферии которых отмечается дезорганизация и неоднородность костного матрикса с признаками резорбции, многие лакуны запустевшие, остеобластов не наблюдаются (Рисунок 20).

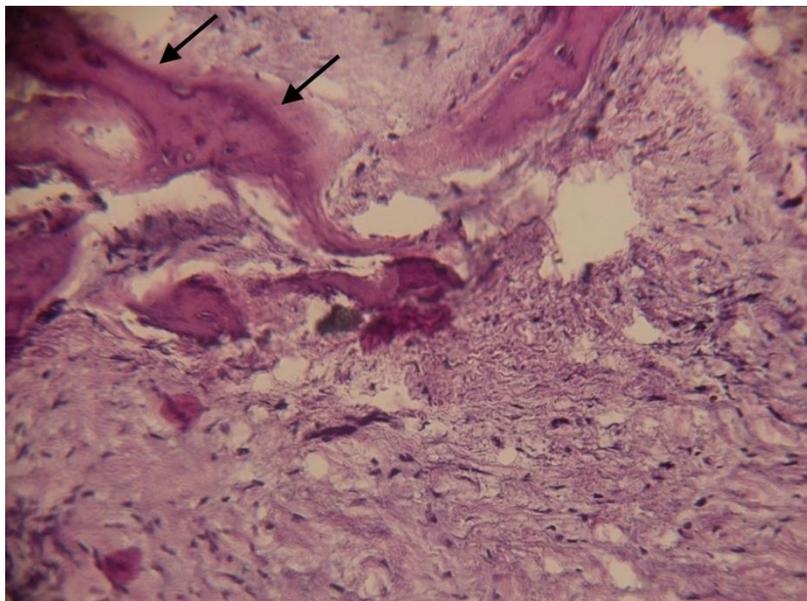


Рисунок 20 – Фрагмент костной ткани из области дефекта кости. Окраска гематоксилин-эозин (x200)

Таким образом, мы не обнаружили в тканях, заполняющих дефект кости, достаточного объёма камбиальных элементов, наблюдали отсутствие надкостницы в области дефекта кости челюсти. Низкая активность нативных остеоиндуктивных факторов вызывает в области дефекта кости остеогенную недостаточность, которая ограничивает естественный процесс репаративного остеогенеза, что не обеспечивает полного гисто- и органотипического восстановления кости.

3.2. Теоретическое обоснование использования оценочного инструментария при 3D-моделировании скульптуры комбинированного трансплантата

Научно-практическое значение предложенного нами метода прогностического моделирования процесса биотрансформации ГМ в реципиентном ложе, с применением модели *in vitro*, заключается в разработке и использовании оценочного инструментария для выбранных параметров системы. Для этого нами разработан и предложен к использованию оценочный инструментарий, позволяющий проводить прогностический анализ динамики изменения физических свойств ГМ в биологической среде с экстраполяцией полученных данных на условия *in vivo*. Использование оценочного инструментария в прогностическом расчёте 3D-скульптуры комбинированного трансплантата является одним из условий, позволяющих компенсировать эффект неконтролируемого снижения объёма трансплантата в реципиентном ложе и предотвратить риск возникновения осложнений.

3.2.1. Анализ влияния динамики изменения физических свойств фракции ГМ *in vitro* с экстраполяцией полученных данных на условия *in vivo*

С целью предотвращения послеоперационных осложнений при устранении дефектов кости нами разработаны оценочные показатели, характеризующие процесс биодegradации ГМ в реципиентном ложе, инициируемый биологическим окружением реципиентного ложа.

• Проведена характеристика процесса конгломерации гранул фракции известняка и трёх ГМ *in vitro* (Таблица 5). Проведён анализ влияния динамики изменения физических свойств фракции ГМ на устойчивость объёма трансплантата. Для этого определили и рассчитали оценочные показатели, позволяющие осуществлять прогностическую характеристику динамики изменения физических свойств фракции ГМ в реципиентном ложе. Эти данные отражают совокупную динамику поведения фракции ГМ в трансплантате после размещения в реципиентном ложе. K_y фракции ГМ — это прогностический показатель, отражающий динамику изменения физических свойств фракции ГМ в реципиентном ложе. В таблице 5 приведены K_y для исследуемых ГМ. Мы установили, что процесс конгломерации гранул в реципиентном ложе проходит две стадии: Стадия 1. Конгломерация *ex tempore*: 1.1. предварительная подготовка ГМ методом дегазации и экстракции пыли 1.2. мануальная конгломерация – при укладке трансплантата в ложе реципиента; 1.3. физическая конгломерация – под действием механических сил изолирующей мембраны каркаса биоинженерной конструкции; Стадия 2. биологическая конгломерация – связывание гранул фракции фибрином тромба, уплотнение каркасом мягкотканой среды реципиентного ложа.

Таблица 5 – K_y фракции ГМ и описательная статистика в виде средних и стандартных отклонений – $M (SD)$

ГМ	K_y
ИЗ	1,27 (0,02)
Cerabone	1,25 (0,01)
Xenograft Collagen	1,24 (0,01)
Bio-OSS	1,02 (0,02)

Мы выявили, что приведённые физические показатели достоверно характеризуют изменения физических свойств фракции ГМ и отражают в условиях *in vitro* динамику изменения её физических свойств, сопоставимых с условиями *in*

in vivo. Опытным путём мы установили, что на стадии пассивной дегазации при погружении фракции ГМ на 20 минут в физиологический раствор при +37° С из ГМ происходит выделение пузырей газа и мелкодисперсной пыли (Рисунок 21).



Рисунок 21 – ГМ на этапе пассивной дегазации и экстракции пыли

На рисунке 22 видно, что начальный спуск кривой наблюдается через 2,5 минуты после погружения ГМ в физиологический раствор при +37° С, что соответствует уменьшению исходного объёма жидкости и выделению пузырей газа из ГМ. Наибольшее выделение пузырей газа происходит между 7,5 до 12,5 минутой. С 13 по 17 минуту образуется мелкодисперсная пыль в виде взвеси. Затем следует плато между 17,5 и 20 минутой, где выделение пузырей газа не было выявлено.

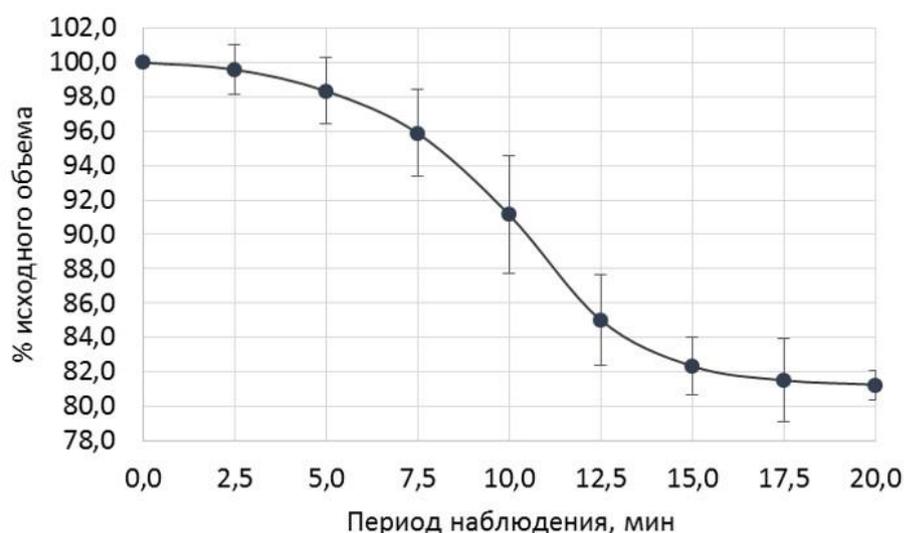


Рисунок 22 – Этап пассивной дегазации и экстракции пыли ГМ

Мы определили изменения исходного объёма жидкости при дегазации и экстракции пыли, средние значения и их 95% доверительные интервалы (Таблица 6).

В среде статпакета SPSS проведена аппроксимация наблюдаемых значений S-образной функцией — 4-параметрической логистической регрессией. Получены следующие значения регрессионных коэффициентов и их стандартных ошибок. Они отражают параметры зависимости процента дегазации от времени.

A 0,51 (0,04)

B 10,10 (0,17)

C 81,01 (0,35).

Уравнение зависимости процента дегазации от времени t следующее:

$$f(t) = 100 + (81,01 - 100) / (1 + \exp(-0,51(t - 10,10))),$$

Коэффициент детерминации построенной модели $R^2=99\%$, что характеризует ее как очень точную.

Согласно построенной математической модели процесса дегазации и экстракции пыли установлено, что через 10 мин происходит выход половины имеющегося в пустотах гранулированного костнопластического материала газа, а через 20 мин от начала дегазации и экстракции пыли кривая выходит на плато.

Таблица 6 – Процент исходного объёма жидкости в зависимости от времени

Время, мин	% исходного объёма, средние значения	% исходного объёма, нижняя граница 95% ДИ	% исходного объёма, верхняя граница 95% ДИ
0,0	100,0	100,0	100,0
2,5	99,6	98,2	101,0
5,0	98,3	96,4	100,3
7,50	95,9	93,3	98,4
10,0	91,2	87,7	94,6
12,5	85,0	82,4	87,7
15,0	82,3	80,7	84,0
17,5	81,5	79,1	83,9
20,0	81,3	80,4	82,1

Методом случайной выборки для демонстрации определения адсорбционной ёмкости взяли фракцию ГМ Xenograft Collagen (BioOST, Россия).

Через 20 минут после проведения пассивной стадии дегазации определили объём извлечённой жидкости, который составил 1,32 мл (Рисунок 23). Разница между первоначальным объёмом жидкости и после пассивной дегазации составила 0,68 мл (2 мл - 1,32 мл = 0,68 мл). По окончании стадии активной дегазации и экстракции пыли определили остаточный объём, который составил 1,03 мл. Разница между объёмами жидкости до и после активной дегазации составила 0,29 мл (1,32 мл - 1,03 мл = 0,29 мл). Суммировали результаты разницы объёмов жидкости после двух стадий, сумма составила 0,97 мл (0,68 мл + 0,29 мл = 0,97 мл). Таким образом, после проведения двух стадий дегазации и экстракции пыли произошло снижение начального объёма жидкости на 0,97 мл (2,0 мл - 1,03 мл = 0,97 мл) и, соответственно, повышение кажущейся адсорбционной ёмкости фракции ГМ на 0,97 мл или на 50%. Следовательно, адсорбционная ёмкость ГМ Xenograft Collagen после подготовки составила 0,97 мл и повысилась от начальной адсорбционной ёмкости на 50%.

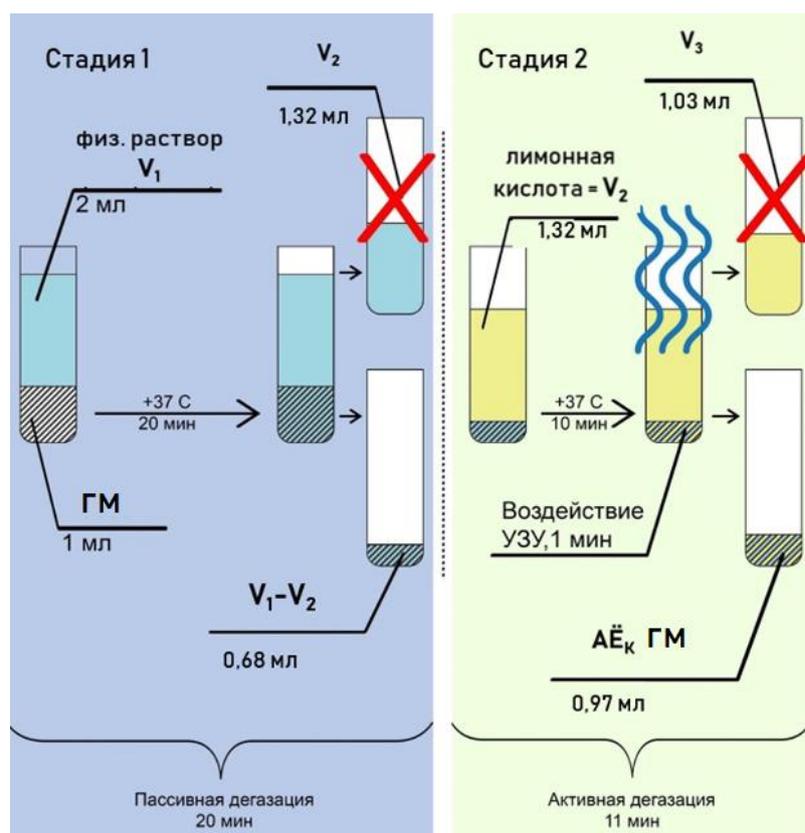


Рисунок 23 – Изменение объёма жидкости после дегазации и экстракции пыли из фракции ГМ Xenograft Collagen

Аналогичным образом выяснена $A\ddot{E}$ для других ГМ: Bio-OSS, Cerabone. $A\ddot{E}$ ГМ Cerabone после подготовки составила 0,56 мл и повысилась от начальной адсорбционной ёмкости на 28%, $A\ddot{E}$ ГМ Bio-OSS после подготовки составила 0,7 мл и повысилась от начальной адсорбционной ёмкости на 17%.

Опытным путём выявили, что по значению истинной адсорбционной ёмкости можно определить объём ФРК, который адсорбируется ГМ на своих наружных и внутренних поверхностях. Адсорбционная ёмкость фракции ГМ — это показатель способности фракции ГМ размещать максимально возможное количество ФРК на свободных поверхностях гранул и в межгранулярных пространствах, во внутренних пространствах пор. Согласно полученным данным, можно утверждать, что необходимый объём ФРК, который может адсорбировать фракция ГМ, соответствует показателю истинной адсорбционной ёмкости фракции ГМ.

3.2.2. Микроструктурный анализ фракций ГМ до и после подготовки к использованию нашим способом

- По данным СЭМ выявили, что распределение гранул по размерам отличается от спецификаций, предоставленных производителями, что оказывает влияние на их порозность. Так в ГМ Cerabone и Xenograft Collagen содержали значительное количество частиц менее 0,25 мм. При сопоставлении исследованных ГМ обнаружили, что Cerabone, Xenograft Collagen обладают большим количеством сквозных пор внутри материала, что значительно увеличивают их площадь поверхности. При увеличении 300× и 500× выявили неоднородную поверхность Xenograft Collagen, его гранулы представляют собой губчатую структуру с распределением макропор по размерам от 25 до 210 мкм. Cerabone также обладает сквозными каналами внутри частиц с распределением по размерам от 50 до 190 мкм. Наиболее равномерной поверхностью без сквозных пор обладает Bio-Oss, в изученных нами гранулах сквозные каналы определить не удалось. Площадь свободных поверхностей пор и устьев сквозных пор увеличилась.

Методом СЭМ после проведения подготовки исследованных фракций ГМ группы 2 методом дегазации и экстракции пыли мы выявили уменьшение содержания крупнодисперсной и мелкодисперсной фракционной пыли на наружных и внутренних поверхностях пор и устьев межпоровых каналов и пустот во всех образцах группы 2 (Рисунок 24). Площадь свободных поверхностей пор и устьев сквозных пор увеличилась.

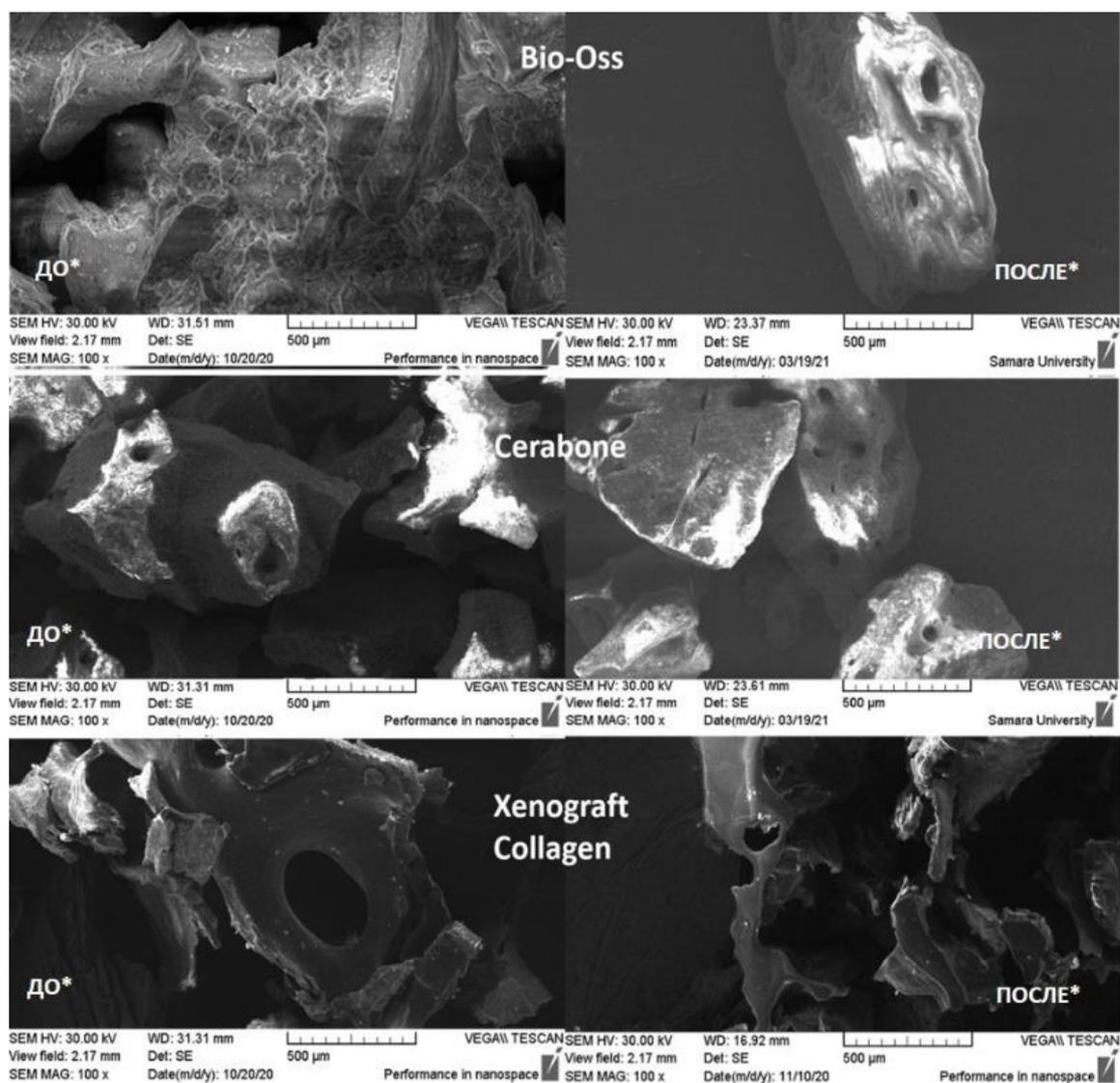


Рисунок 24 – СЭМ-микрофотографии Bio-Oss, Cerabone, Xenograft Collagen

Примечание: ДО * - Фотографии поверхности исследованных ГМ группы 1 без подготовки по методу дегазации и экстракции пыли. На наружных и внутренних поверхностях визуализируется крупнодисперсная и мелкодисперсная фракционная пыль; ПОСЛЕ * - Фотографии поверхности исследованных ГМ группы 2, подготовленные по методу дегазации и экстракции пыли. Наружные поверхности ГМ освободились от крупнодисперсной фракционной пыли, внутренние поверхности пор и устьев межпоровых каналов и пустот от мелкодисперсной пыли.

- Исследование показателей жизнеспособности МСК человека в культуральной среде *in vitro* показало, что подготовленная к использованию

фракция ГМ, разработанным авторами методом дегазации и экстракции пыли (группа 2) не оказывает токсического воздействия на жизнеспособность клеточной культуры МСК человека и составила, в среднем, 94,6%, что сопоставимо с группой 1, где фракция гранулированных костнопластических материалов была интактная, и жизнеспособность клеток, в среднем, составила 94,4%. Количество снятых клеток в группах 1 и 2 составили, в среднем, 3,44 и 3,52 млн, что не имеет значительных расхождений, и группы 1 и 2 сопоставимы между собой и группой 3 (Таблица 7).

Таблица 7 – Показатели жизнеспособности мезенхимально-стромальных клеток в культуре, их пролиферативного индекса, скорости удвоения культуры и описательная статистика в виде средних и стандартных отклонений – М (SD)

ГМ	№ группы	Кол-во посаженных клеток в 1мл *10 ⁶	Жизнеспособность	Количество собранных клеток в 1 мл	Скорость удвоения
Cerabone	1	0,4	94,3	3,44 (0,29)	0,4884 (0,2457)
	2	0,4	94,6	3,51 (0,38)	0,5162 (0,1148)
	3	0,4	96,0	3,62 (0,24)	0,5212 (0,2354)
Xenograft Collagen	1	0,4	94,2	3,41 (0,27)	0,4771 (0,2446)
	2	0,4	94,4	3,49 (0,36)	0,5122 (0,1116)
	3	0,4	96,0	3,61 (0,22)	0,5221 (0,2349)
Bio-OSS	1	0,4	94,7	3,48 (0,32)	0,4971 (0,2429)
	2	0,4	94,9	3,56 (0,41)	0,5112 (0,121)
	3	0,4	96,0	3,61 (0,26)	0,5229 (0,2347)

На всем протяжении культивирования МСК имели типичную веретенообразную морфологию, края цитоплазмы ровные; признаков апоптоза отмечено не было. При микроскопическом исследовании в 1 и 2 группах отмечалось краевое прикрепление МСК к поверхностям гранул ГМ (Рисунок 25).

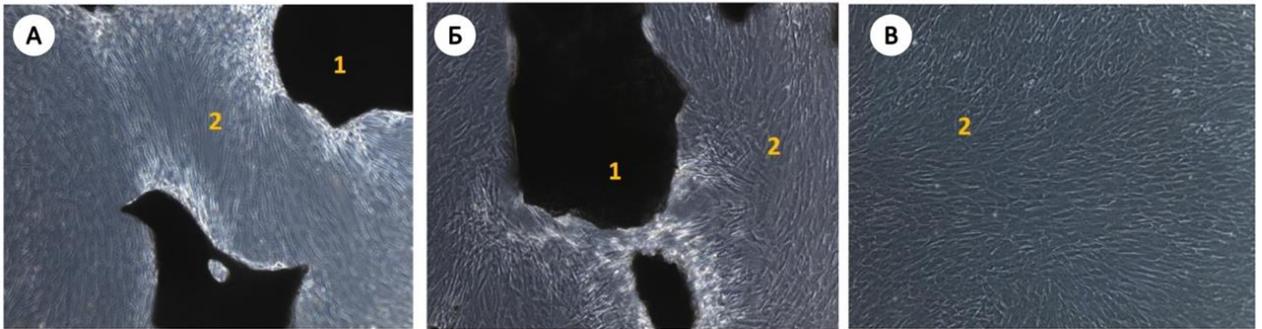
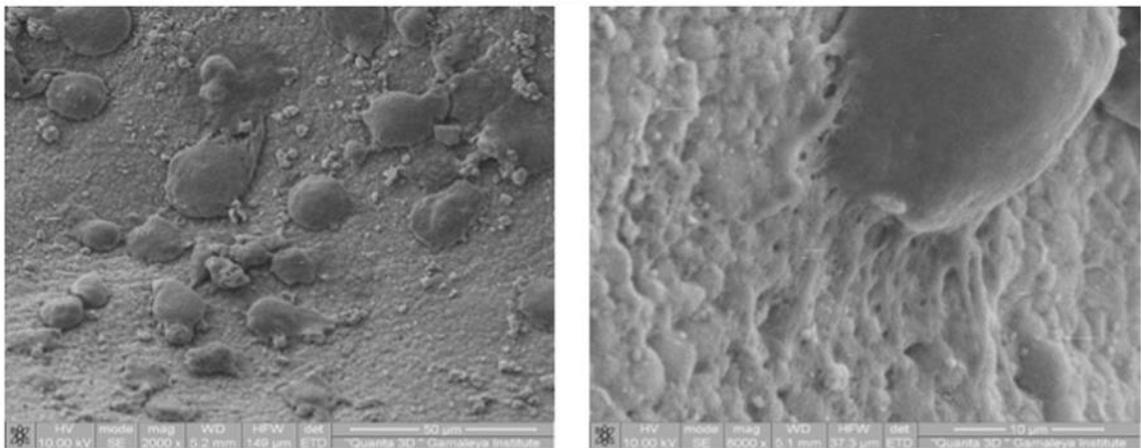


Рисунок 25 – Мезенхимально-стромальные клетки человека, размещённые на ГМ на культуральной среде *in vitro*: А – ГМ без подготовки по методу дегазации и экстракции пыли, группа 1; Б – ГМ, подготовленный по методу дегазации и экстракции пыли, группа 2; В – контроль – группа 3; 1 – ГМ, 2 – культивируемые МСК человека

Таким образом, подготовленная к использованию фракция ГМ, разработанным нами методом дегазации и экстракции пыли, не оказывает токсического воздействия на рост и жизнеспособность клеточной культуры МСК человека. Мы не выявили цитотоксического влияния на МСК человека, размещённые на фракции ГМ и культивируемые *in vitro* (Рисунок 26).



А

Б

Рисунок 26 – Сканирующая электронная микроскопия. МСК человека, размещённые на ГМ на культуральной среде *in vitro*: А – прикрепление, миграция и пролиферация клеток на поверхности ГМ (x2000); Б – МСК через 8 дней после размещения на ГМ (x8000).

3.3. Морфологический анализ подготовленной методом дегазации и экстракции пыли фракции ГМ в эксперименте

По результатам морфологического анализа исследуемых фракций ГМ (Bio-Oss (Geistlich, Швейцария) – ГМ 1, Cerabone (Botiss biomaterials GmbH, Германия) – ГМ 2, Xenograft Collagen (BioOST, Россия) – ГМ 3), полученных при выполнении оперативных вмешательств на 54 лабораторных крысах Wistar в виварии института экспериментальной медицины и биотехнологий ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, через 14 суток в группе сравнения и основной группе после операции на гистологических препаратах в области дефекта визуализировали гранулы костнопластического материала, окруженные рыхлой неоформленной соединительной тканью регенераторного типа. Соединительная ткань регенераторного типа состоит из молодых, разнонаправленных коллагеновых волокон, и фибробластоподобных клеток (Рисунок 27).

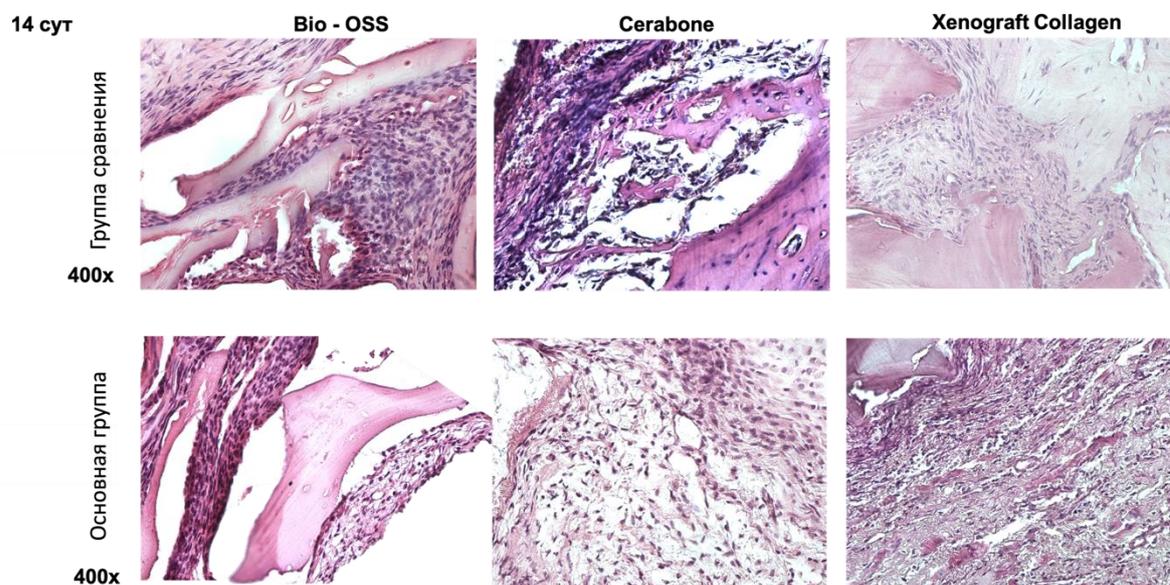


Рисунок 27 – Bio-Oss, Cerabone, Xenograft Collagen через 14 суток после операции. Окраска гематоксилином и эозином (x400)

Гранулы Bio-Oss имеют гофрированную каемку и характерные узурь, с расположенными в них остеокластами. Межбалочное пространство прилежащей костной ткани заполнено ретикулярной стромой костного мозга без очагов кроветворения и с участками неоформленной соединительной ткани.

На гистологических препаратах в области участка имплантации Cerabone по краю поврежденной кости наблюдалась остеобластическая активность. В некоторых участках рыхлой неоформленной соединительной ткани, образованной фибробластоподобными клетками, формирующими коллагеновые волокна, наблюдался дезорганизованный, разволокненный костный матрикс Cerabone. Параваскулярно располагались клетки макрофагального ряда. Соединительная ткань имbibирована эритроцитами.

На гистологических препаратах в области участка имплантации Xenograft Collagen большое количество фибробластоподобных клеток, образующих регенераторную ткань, ориентированы в одном направлении. На поверхности гранул Xenograft Collagen визуализируются остеокласты.

Во вновь образованной соединительной ткани в группе сравнения и основной группе мы не выявили статистически значимых отличий в росте сосудов между исследуемыми материалами. Однако результаты наблюдения в изучаемых группах высокозначно отличались друг от друга. Так, в основной группе, в которой устранение дефекта кости проводили ГМ, подготовленными по способу дегазации и экстракции пыли, наблюдали более высокое представительство сосудов микроциркуляторного русла (15,11 (2,20)) по сравнению с группой сравнения, в которой ГМ был без подготовки (6,44 (1,59)). Аналогичная ситуация наблюдалась и при сравнении полученных данных в динамике на 30 сутки послеоперационного периода (Таблица 8).

Таблица 8 – Сосуды микроциркуляторного русла при использовании исследуемых гранулированных костнопластических материалов в сроки наблюдения 14 дней и 30 суток

Материал		Группа сравнения – М (SD) n=3	Основная группа – М (SD) n=3	р- значени е
ГМ1	14 сут	6,67 (1,53)	15,33 (1,53)	0,002
	30 сут	13,33 (4,16)	35,67 (4,04)	0,003
ГМ2	14 сут	5,33 (0,58)	13,00 (1,00)	<0,001
	30 сут	13,33 (1,53)	26,33 (1,53)	<0,001
ГМ3	14 сут	7,33 (2,08)	17,00 (2,00)	0,004
	30 сут	17,00 (1,00)	37,00 (7,81)	0,012

Статзначимость различий между материалами, р-значение	14 сут	0,332	0,054	
	30 сут	0,222	0,085	

Таким образом, по результатам гистоморфометрии во вновь образованной соединительной ткани количество сосудов микроциркуляторного русла в 2,31 раза больше в основной группе в отличие от группы сравнения (Рисунок 28).

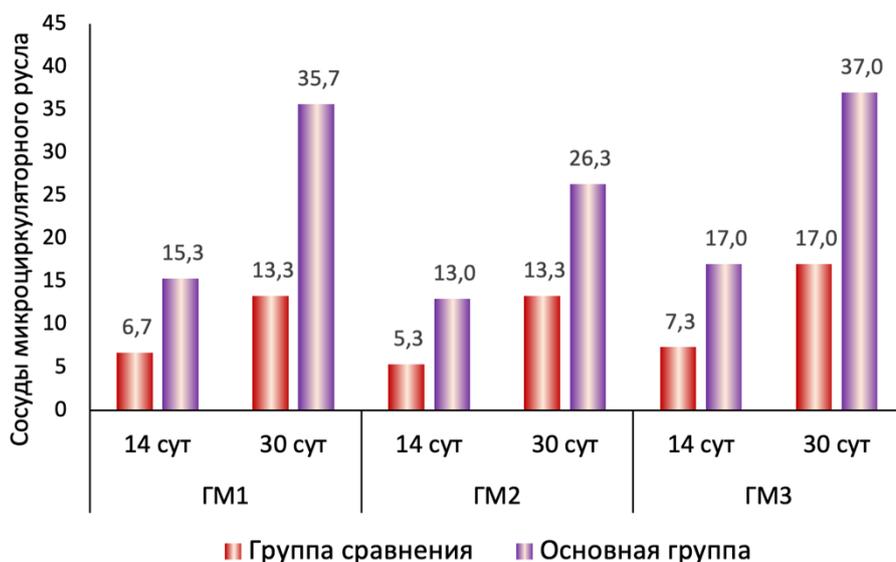


Рисунок 28 – Сосуды микроциркуляторного русла при использовании исследуемых гранулированных костнопластических материалов в сроки наблюдения 14 дней и 30 суток

На гистологических препаратах при использовании костнопластического материала Bio-Oss без подготовки через 30 суток после имплантации четко визуализируются различные по размеру гранулы, окруженные рыхлой неоформленной соединительной тканью. Крупные гранулы материала Bio-Oss без подготовки с признаками биодеградации имели слабо выраженную гофрированную каемку. При использовании Cerabone и Xenograft Collagen без подготовки, как и с устранением дефекта кости Bio-Oss без подготовки образовалась рыхлая неоформленная соединительная ткань с большим содержанием сосудов микроциркуляторного русла, по сравнению с 14 сутками (Рисунок 29). Участки регенерирующие имеют умеренное насыщение клетками. Поверхность самих

гранул с признаками остеокластической резорбции. На поверхности поврежденных балок наблюдали активные остеобласты. После имплантации гранулы Xenograft Collagen имеют выраженные признаки биодеградации (Рисунок 30).

В таблице 9 представлены результаты восстановления костной ткани в группе исследования и основной группе.

Таблица 9 – Биотрансформация и биодеградация гранулированного костнопластического материала в костную ткань

			Группа сравнения	Основная группа	p1
ГМ1	14 сут	Площадь ГМ, %	41,77 (1,72)	41,28 (0,35)	0,651
		Площадь регенерата, %	58,23 (1,72)	58,72 (0,35)	0,651
	30 сут	Площадь ГМ, %	35,42 (1,15)	33,54 (0,74)	0,076
		Площадь регенерата, %	64,58 (1,15)	66,46 (0,74)	0,076
	90 сут	Площадь ГМ, %	19,31 (0,84)	12,89 (0,50)	<0,001
		Площадь регенерата, %	80,69 (0,84)	87,11 (0,50)	<0,001
ГМ2	14 сут	Площадь ГМ, %	39,49 (1,05)	39,01 (0,83)	0,567
		Площадь регенерата, %	60,51 (1,05)	60,99 (0,83)	0,567
	30 сут	Площадь ГМ, %	37,27 (0,41)	37,30 (1,28)	0,969
		Площадь регенерата, %	62,73 (0,41)	62,70 (1,28)	0,969
	90 сут	Площадь ГМ, %	22,09 (1,34)	15,52 (0,79)	0,002
		Площадь регенерата, %	77,91 (1,34)	84,48 (0,79)	0,002
ГМ3	14 сут	Площадь ГМ, %	40,26 (1,53)	40,27 (1,62)	0,994
		Площадь регенерата, %	59,74 (1,53)	59,73 (1,62)	0,994
	30 сут	Площадь ГМ, %	37,35 (1,43)	32,70 (1,01)	0,010
		Площадь регенерата, %	62,65 (1,43)	67,30 (1,01)	0,010
	90 сут	Площадь ГМ, %	20,72 (0,38)	13,05 (0,92)	<0,001
		Площадь регенерата, %	79,28 (0,38)	86,95 (0,92)	<0,001
p2	14 сут	Площадь ГМ, %	0,231	0,105	
		Площадь регенерата, %	0,231	0,105	
	30 сут	Площадь ГМ, %	0,122	0,003	
		Площадь регенерата, %	0,122	0,003	
	90 сут	Площадь ГМ, %	0,031	0,009	
		Площадь регенерата, %	0,031	0,009	

Примечание: p1 — p-значение отличий между основной группой и группой сравнения, p2 — p-значение отличий между ГМ

В группе сравнения и основной группе площадь регенерата в период с 14 суток по 30 сутки увеличилась, в среднем, на 3,83% и 5,67% соответственно. На 30 сутки мы не выявили статистически значимых отличий в приросте регенерата в изучаемых группах (Рисунок 53). Однако в основной группе гранулы Bio-Oss, Cerabone и Xenograft Collagen окружены более плотной неоформленной

соединительной тканью. В ней наблюдались разнонаправленные коллагеновые волокна и вновь образованные сосуды микроциркуляторного русла (Рисунок 52).

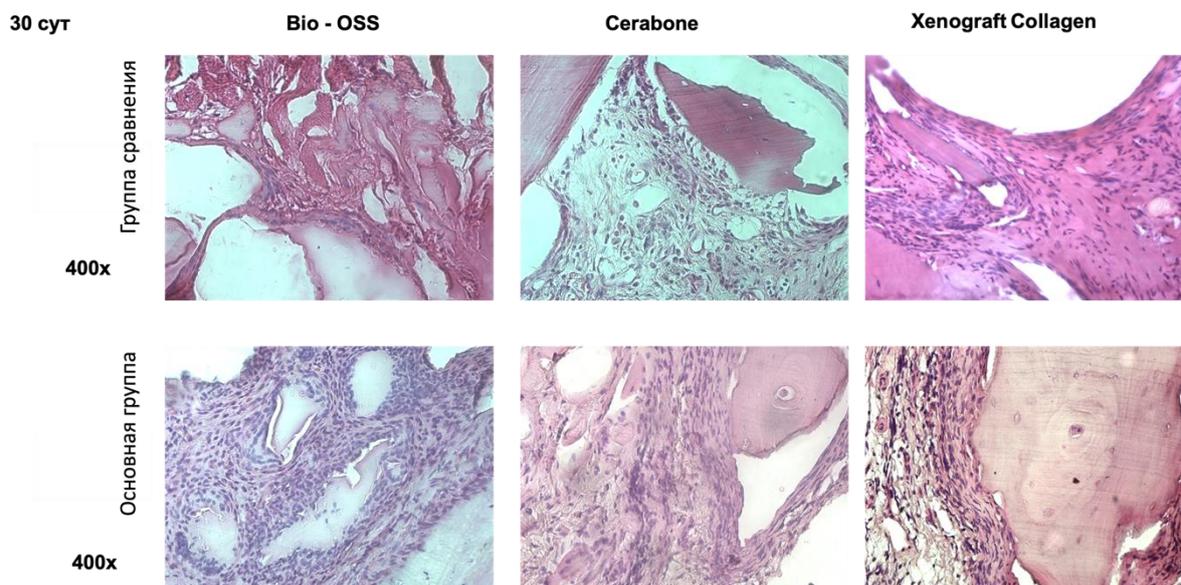


Рисунок 29 – Bio-Oss, Cerabone, Xenograft Collagen без подготовки и после подготовки через 30 суток после операции. Окраска гематоксилином и эозином (x400)

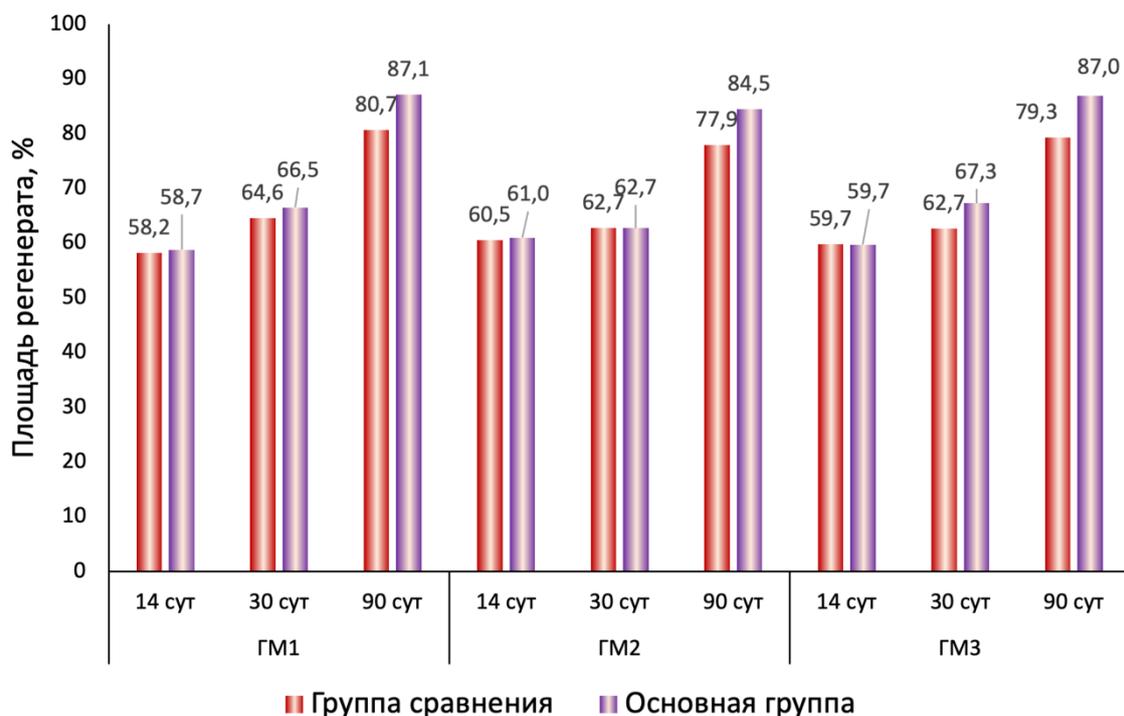


Рисунок 30 – Динамика изменений площади регенерата в изучаемых группах

На поверхности гранул определяли остеокласты, расположенные в узлах резорбируемой поверхности. По краю резорбируемой поверхности гранул и кости выявляется фронт минерализации с активными остеобластами. В полостях биодеградируемых гранул после подготовки наблюдались фибробластоподобные клетки. К 90 суткам в основной группе резорбция ГМ была на 9,2% выше, чем в группе сравнения.

3.4. Клиническое обоснование разработки и использования комбинированного трансплантата для устранения дефектов кости верхней челюсти

Для обеих групп разработаны и реализованы клинические протоколы в соответствии с дизайном исследования.

Клинический протокол лечения пациентов группы сравнения

Клинический протокол лечения пациентов группы сравнения включает:

1. оформление клинической документации согласно регламенту ведения медицинской документации, утверждённому МЗ РФ от 15.12.2014 № 834н (ред. от 18.04.2024), плану научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (номер государственной темы №121051700039-5 от 17.05.2021) и протоколу, одобренному комитетом по биоэтике при Самарском государственном медицинском университете (Разрешение Комитета по биоэтике при СамГМУ из протокола № 235 от 29.01.2021).
2. согласование с пациентом плана лечения в рамках дизайна исследования;
3. реализация плана лечения;
4. сбор данных и анализ результатов наблюдения.

Планирование лечения в группе сравнения проводили в программном комплексе «DentDir», где определяли объём дефекта кости, требуемый объём ГМ по фактическим границам дефекта кости без учёта коэффициента естественного уплотнения ГМ, проводили подбор размера изолирующей коллагеновой мембраны по промерам в полости рта и данным КЛКТ по фактическим границам дефекта кости (Рисунок 31).

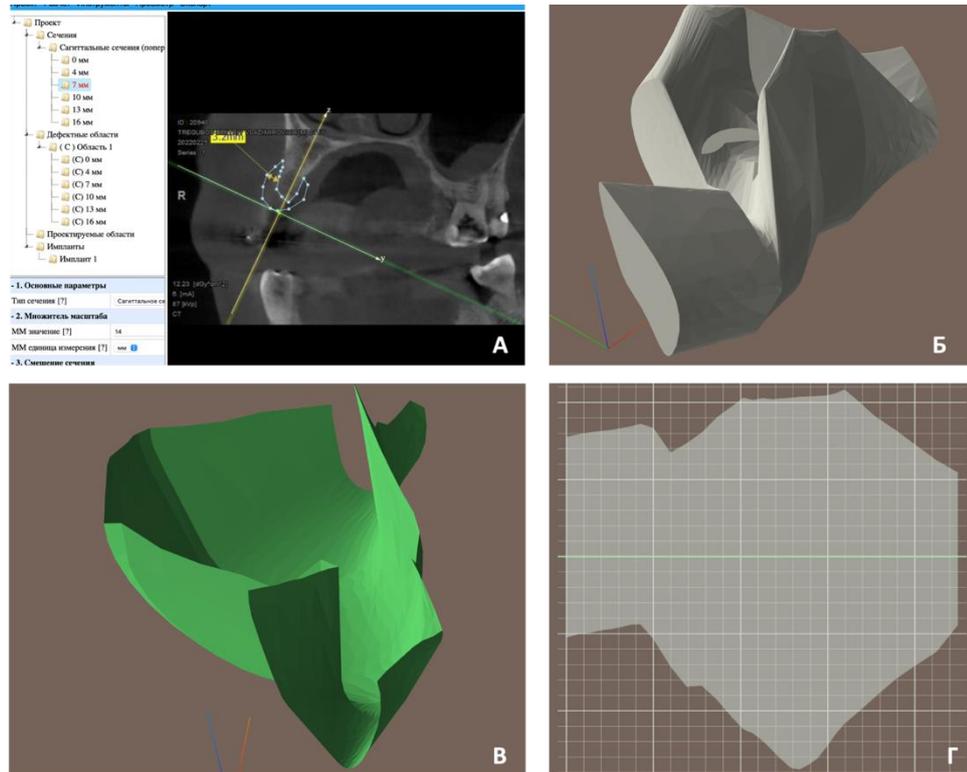


Рисунок 31 – Планирование скульптуры трансплантата в программном комплексе «DentDir»: А – вид окна программы для ЭВМ с моделированием дизайна границ трансплантата; Б – 3D модель трансплантата в границах проектируемой области; В – 3D модель проектируемой мембраны; Г – изготовленный шаблон мембраны

Хирургический протокол

Пациентам группы сравнения на хирургическом этапе была проведена дентальная имплантация с одномоментным устранением ДКЧ методом НКР путём свободной укладки ГМ в реципиентное ложе в пределах запланированных границ рельефа дефекта кости (Рисунок 32). Трансплантат укрывали резорбируемой коллагеновой мембраной, которую фиксировали наружно внутренним швом из нерассасывающейся мононити. Раскрой мембраны проводили в границах ДКЧ. Поверх мембраны укладывали и ушивали наглухо в три этажа иммобилизованный слизисто-надкостничный лоскут.

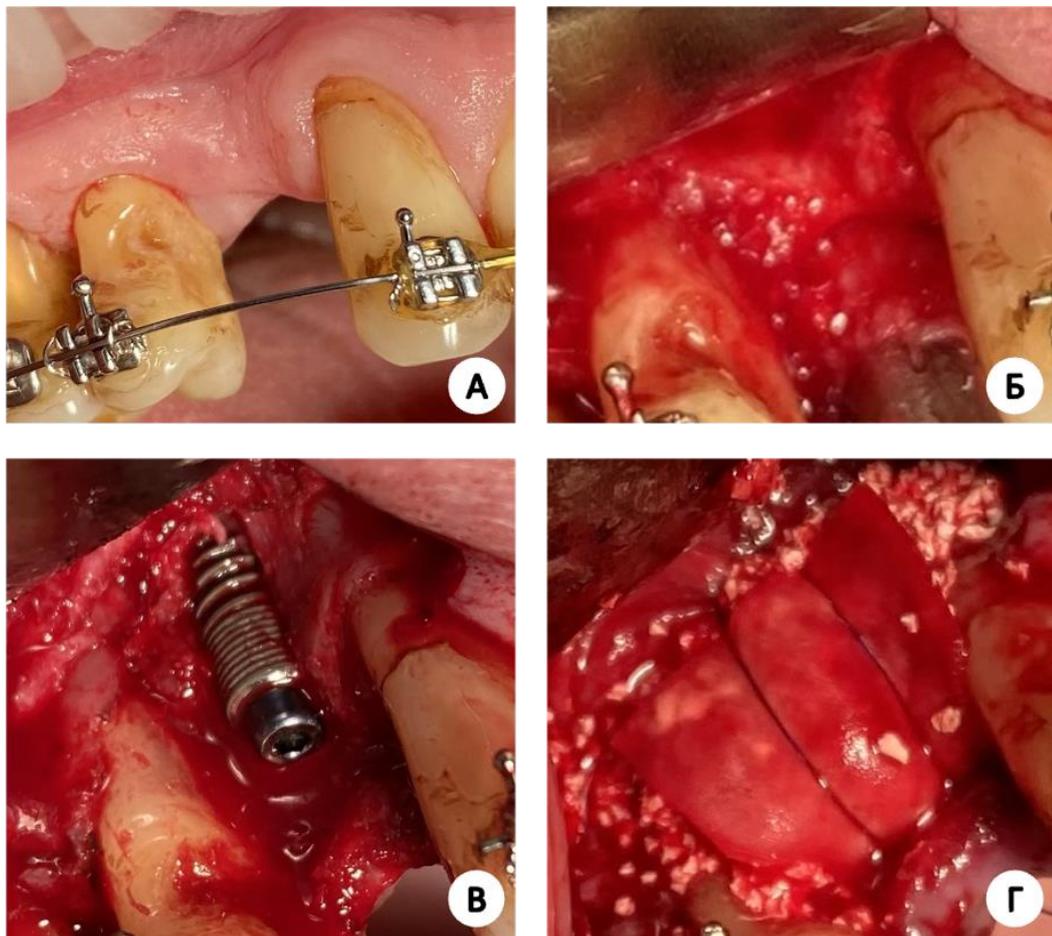


Рисунок 32 – Этапы операции НКР в группе сравнения: А - внешний вид дефекта кости до операции; Б - визуализация дефекта кости; В - установлен дентальный имплантат с заглушкой; Г - горизонтальная и вертикальная аугментация ДКЧ рассчитанным объёмом ГМ, укрытый мембраной, зафиксированной наружно внутренним швом.

В группе сравнения на 8–18 сутки пальпаторно определяли крепитацию трансплантата. После чего он стабилизировался, и крепитация не определялась. На момент снятия швов было отмечено изменение контура альвеолярного отростка верхней челюсти в области дефекта кости, несоответствие запланированного объёма реконструкции, что в 28 % случаев требовало проведения повторной операции НКР (Рисунок 33).



Рисунок 33 – Фото зубных рядов пациентки А. (история болезни № 2431): изменение контура альвеолярного отростка верхней челюсти в области дефекта кости снижение объёма реконструкции до уровня имплантата, слизистая оболочка, окружающая имплантат, источена и не имеет достаточной опоры.

С целью выявления этиологии возникновения осложнений, возникающих в послеоперационном периоде в виде неконтролируемого уменьшения запланированного объёма трансплантата, нами проведён анализ влияния динамики изменения физических свойств фракции ГМ *in vitro* и определен прогностический показатель – коэффициент уплотнения фракции ГМ (K_y), отражающий динамику изменения физических свойств фракции ГМ в реципиентном ложе (результаты приведены в разделе 3.2 Таблице 5). Данные расчёта K_y для выбранных ГМ импортировали в программный комплекс «DentDir». После чего в основной группе, для 3D-планирования скульптуры комбинированного трансплантата, расчёт

требуемого объёма ГМ проводили нашим способом с учётом K_y используемого ГМ (Патент на изобретение 2754190 С1).

Клинический протокол лечения пациентов основной группы

Клинический протокол лечения пациентов основной группы включает:

1. Оформление клинической документации согласно регламенту ведения медицинской документации, утверждённому МЗ РФ от 15.12.2014 № 834н (ред. от 18.04.2024), плану научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (номер государственной темы №121051700039-5 от 17.05.2021) и протоколу, одобренному комитетом по биоэтике при Самарском государственном медицинском университете (Разрешение Комитета по биоэтике при СамГМУ из протокола № 235 от 29.01.2021).
2. согласование с пациентом плана лечения в рамках дизайна исследования.
3. реализация плана лечения.
4. сбор данных и анализ результатов наблюдения.
5. Этап 3D-планирования операции НКР в программном комплексе «DentDir». Данные визуализации дефекта кости, полученные методом КЛКТ, экспортировали в программный комплекс «DentDir». Затем настраивали параметры программного комплекса для планирования операции НКР: расположение осей координатной системы и параметры масштабирования изображения. С помощью команды добавления дефектной области в редакторе элементов проектировали границы реставрации внешних контуров рельефа поверхности ДКЧ (Рисунок 34). По введённым параметрам в программном комплексе рассчитывали необходимый объём комбинированного трансплантата, размер мембраны и проводили 3D-планирование скульптуры комбинированного трансплантата в проекциях границ проектируемой области и раскрой лекала изолирующей мембраны. Расчёт требуемого объёма комбинированного трансплантата проводили по границам запланированной 3D-скульптуры трансплантата с использованием соответствующего K_y ГМ, который определяли по созданной опытным путем таблице коэффициентов (Таблица 5). В случае, если одномоментно

устанавливается дентальный имплантат, то из рассчитанного общего объема дефекта вычитается объем дентального имплантата (Рисунок 35).

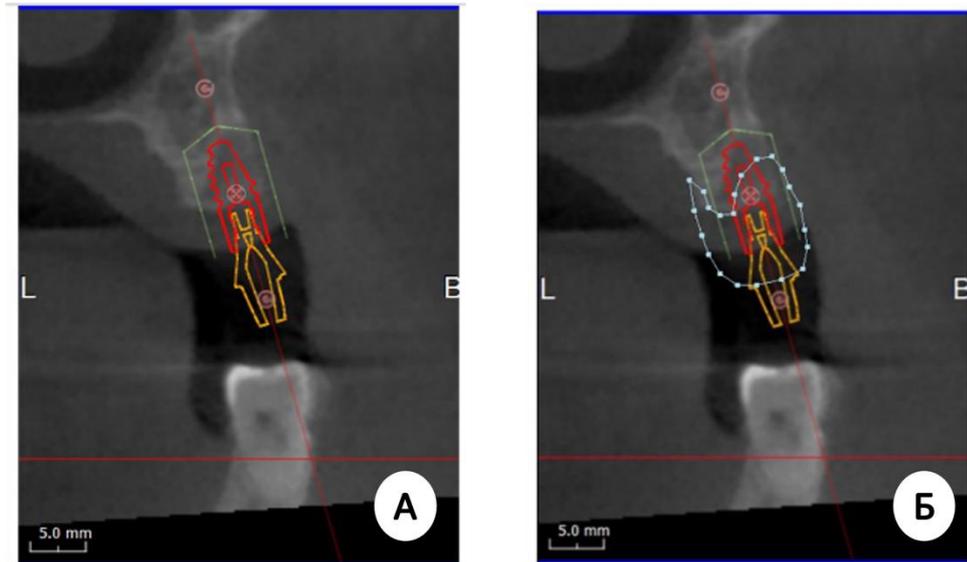


Рисунок 34 – КЛКТ верхней челюсти: А – позиционирование дентального имплантата в программном комплексе «DentDir»; Б – прорисованы проектируемые границы реставрации внешних контуров рельефа поверхности дефекта кости альвеолярного отростка верхней челюсти

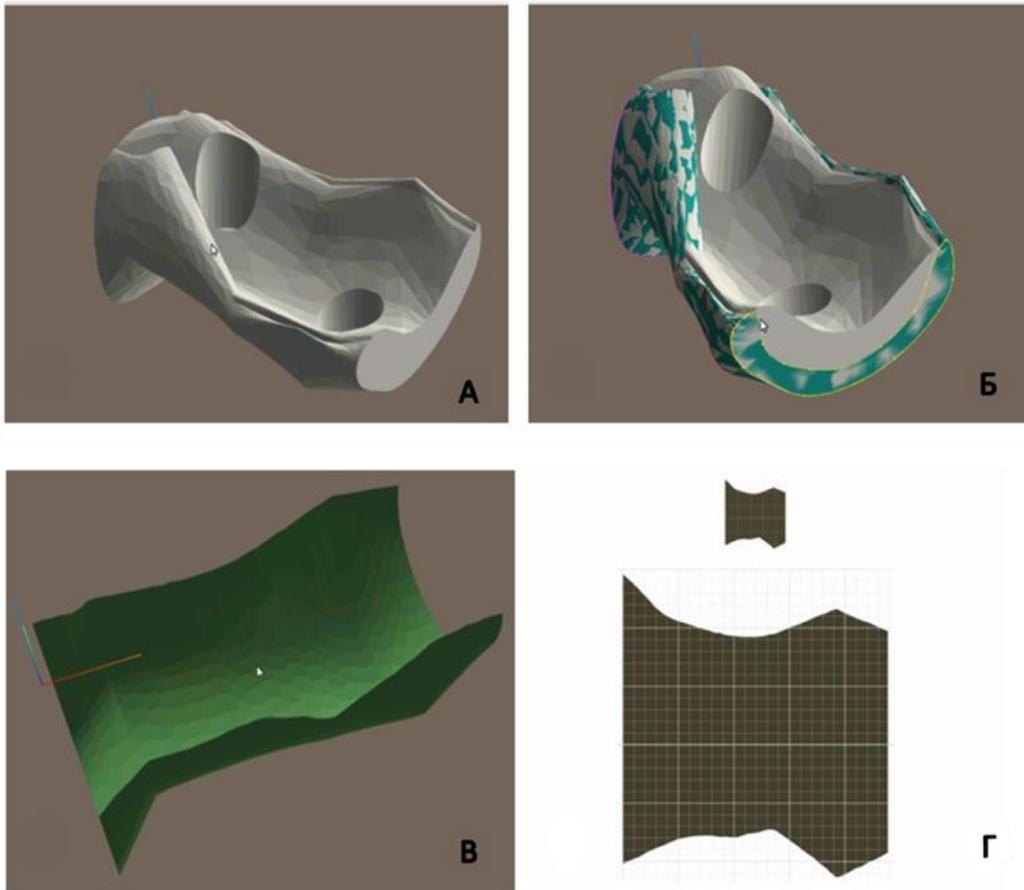


Рисунок 35 – Планирование скульптуры комбинированного трансплантата в программном комплексе «DentDir»: А – 3D модель комбинированного трансплантата в границах проектируемой области; Б – 3D модель комбинированного трансплантата в границах проектируемой области с учётом K_y гранулированного костнопластического материала; В – 3D модель проектируемой мембраны; Г – изготовленное лекало изолирующей мембраны

Изготовление ex tempore комбинированного трансплантата для устранения ДКЧ

- Нами разработан состав комбинированного трансплантата, который включает 4 компонента. Количественное содержание компонентов в процентах от объёма комбинированного трансплантата составляет: ГМ (Компонент 1 - 65%); фибрин, обогащённый тромбоцитами (Компонент 2 - 20%); аутологичный клеточный пул

стромально-васкулярной фракции (Компонент 3 - 10%), коллагеновая изолирующая мембрана (Компонент 4 - 5%).

- Изготовление комбинированного трансплантата проводилось в отделении заготовки крови и её компонентов врачом-трансфузиологом ГБУЗ «Самарский областной медицинский центр Династия».
- Для приготовления аутологичного клеточного пула стромально-васкулярной фракции жировой ткани (СВФ-ЖТ) (Компонент 3) методом туменисцентной липоаспирации производился забор 200 мл жировой ткани из области передней брюшной стенки, жировая ткань многократно отмывалась фосфатно-солевым раствором, подвергалась ферментативной обработке раствором коллагеназы 1 типа, после чего выделялись клетки стромально-васкулярной фракции.
- За час до хирургического вмешательства по устранению ДКЧ для получения Компонента 2 производилась пункция кубитальной вены, забор периферической крови в объеме 30-50 мл в вакутайнеры без антикоагулянтов с последующим центрифигурованием (2700 об/мин в течение 3 минут) для получения фибрина, обогащенного тромбоцитами.

В пробирку к Компоненту 3 вносили Компонент 1, подготовленный методом дегазации и экстракции пыли, который реализуется в две стадии (Патент на изобретение 2758570 С1). Первую стадию осуществляли в термостате, где температуру физиологического раствора доводили до +37° С, в пробирку засыпали Компонент 1 и заливали его физиологическим раствором в соотношении 1:2, где на 1 мл Компонента 1 добавляли 2 мл физиологического раствора. Через 20 минут отделяли фракцию Компонента 1 от физиологического раствора. На второй стадии фракцию Компонента 1 заливали раствором лимонной кислоты (рН1) при +37 °С на 10 минут. После десяти минут нахождения Компонента 1 в растворе лимонной кислоты запускали ультразвуковые генераторы и проводили активную дегазацию и экстракцию пыли в ультразвуковой ванне (УЗУ - 0,25, Россия) с частотой 18 кГц, мощностью 250 Вт и временем экспонирования 60 сек (Рисунок 36). После обработки ультразвуком лимонную кислоту отделяли от материала. Для удаления остатков кислоты Компонент 1 помещали в физиологический раствор при

температуре +37°C и ультразвуковую ванну (УЗУ - 0,25, Россия) с частотой 18 кГц, мощностью 250 Вт и временем экспонирования 60 сек.



Рисунок 36 – Фракция Компонента 1, подготовленная разработанным нами способом дегазации и экстракции пыли

Затем к Компоненту 1 и Компоненту 3 добавляли Компонент 2. После чего проводили инкубацию полученной смеси при температуре +37 градусов 5-10 минут в термошейкере MaxQMini 4450. Пробирка с изготовленным комбинированным трансплантатом стерильно упаковывалась, маркировалась и доставлялась до места хирургического вмешательства в термоконтейнере (Рисунок 37).



Рисунок 37 – Готовый к применению комбинированный трансплантат
Хирургический протокол

- Пациентам основной группы устранение ДКЧ проводили комбинированным трансплантатом по разработанному нами способу укладки и способа фиксации комбинированного трансплантата в реципиентном ложе (Патент на изобретение 2766977 С1). На хирургическом этапе была проведена дентальная имплантация с одномоментным устранением ДКЧ методом НКР в пределах запланированных границ рельефа изготовленным комбинированным трансплантатом (Рисунки 38,39).

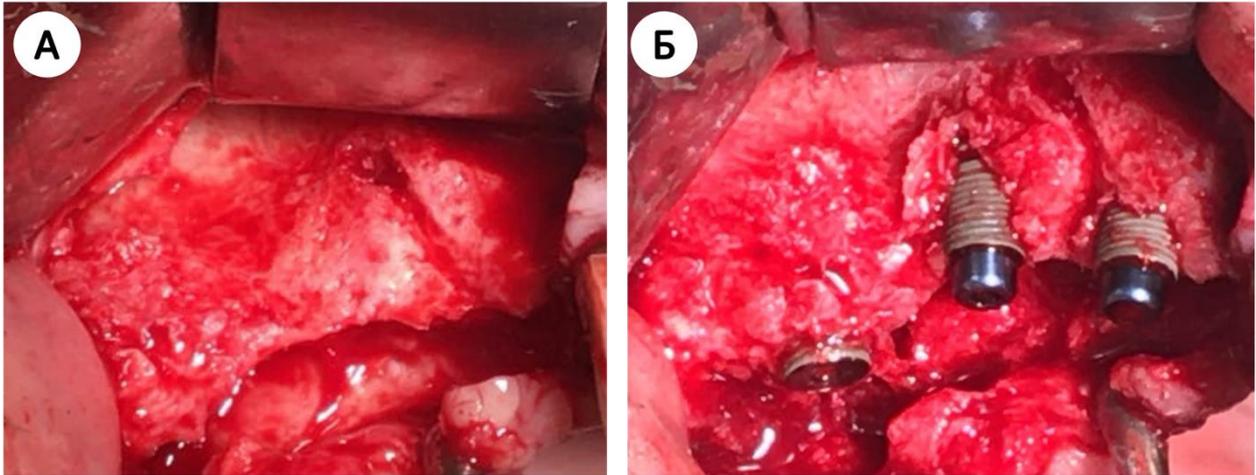


Рисунок 38 – А – визуализация дефекта кости; Б – установлены дентальные имплантаты с заглушками

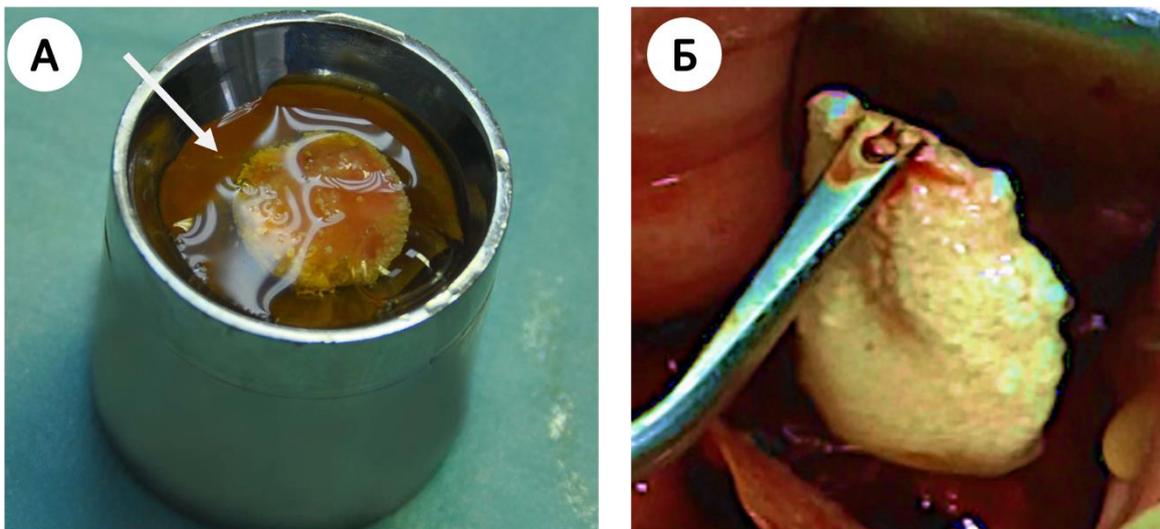


Рисунок 39 – Изготовленный комбинированный трансплантат, требуемый объем которого рассчитан нашим способом: А – комбинированный трансплантат погружён в аутологичную сыворотку крови (указано стрелкой); Б – комбинированный трансплантат, вносимый в дефект кости альвеолярного отростка верхней челюсти

С целью устранения дефекта кости и последующей фиксации реконструкции в проектных границах приступали к формированию стабильного мягкотканого корсета для укрытия и подпора внешней поверхности комбинированного трансплантата. Вестибулярную часть слизисто-надкостничного лоскута расщепляли на три лепестка: слизисто-надкостничный, мягкотканый и надкостничный. Из ранее иммобилизованной вестибулярной части слизисто-надкостничного лоскута, выстилающей дефект кости, формировали первый лепесток, для чего делали разрез по надкостнице с внутренней стороны лоскута, отступя от его края на 10-12 мм и разъединяли его по линии разреза надкостницы на верхний и нижний сегменты. Верхний сегмент лоскута с надкостницей оставался на тканях первого лепестка. В нижнем сегменте по линии разреза надкостницы иммобилизовали мягкие ткани, отсоединяя мягкотканый массив от края надкостницы по всей ее поверхности вглубь на 10-15 мм - получали второй лепесток. Освобождали нижний сегмент надкостницы полностью и получали третий лепесток, из которого моделировали консолидированный слизисто-надкостничный лоскут, путем включения в него изолирующей мембраны. Проводили укладку комбинированного трансплантата в дефект кости и моделировали внешний рельеф реконструкции по рассчитанным границам реставрации (Рисунки 40,41).

Далее раскраивали изолирующую мембрану по лекалу шаблона, припасовывали ее по месту дефекта над уложенным описанным способом комбинированным трансплантатом и фиксировали к медиальному и дистальному краю оральной части слизисто-надкостничного лоскута трансмембранными узловыми швами. Затем производили укладку мембраны к третьему лепестку в вестибулярном направлении от оральной к вестибулярной части слизисто-надкостничного лоскута и фиксировали её горизонтальным трансмембранным наружновнутренним швом. Затем накладывали вертикальный шов, идущий трансмембранно, от оральной части слизисто-надкостничного лоскута ко второму лепестку вестибулярного лоскута.

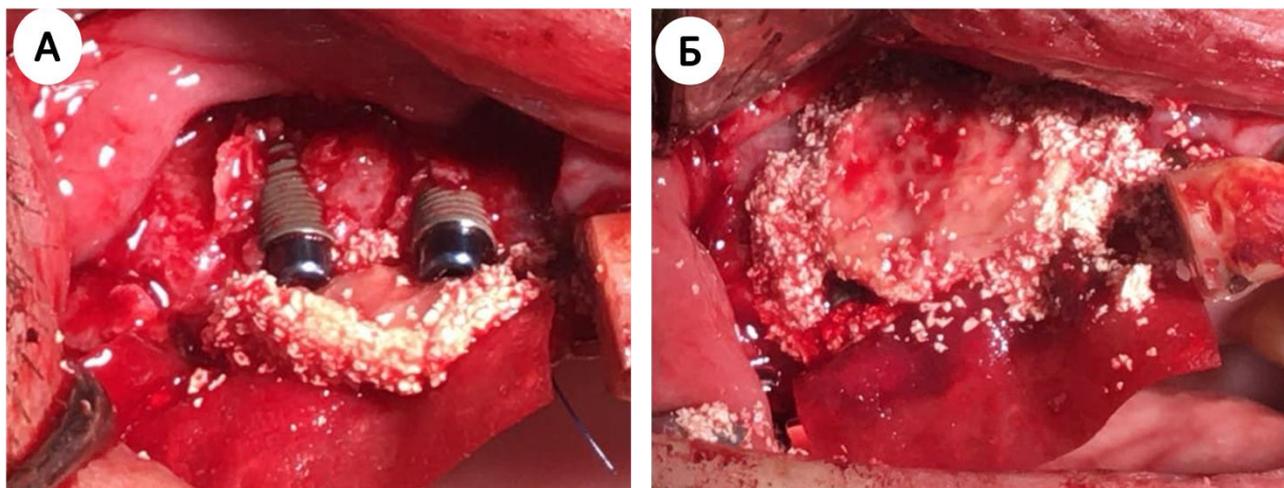


Рисунок 40 – Этапы оперативного вмешательства в основной группе: А-Б – горизонтальная и вертикальная аугментация КДЧ рассчитанным комбинированным трансплантатом; В – комбинированный трансплантат укрыт мембраной, зафиксированной внутренне-наружным швом



Рисунок 41 – Комбинированный трансплантат укрыт мембраной, зафиксированной внутренне-наружным швом

Сформирован достаточный объём кератинизированной десны на подлежащей кости (Рисунок 42).



Рисунок 42 – Состояние альвеолярного отростка верхней челюсти пациентки М. через 14 дней после операции направленной костной регенерации с использованием комбинированного трансплантата

Клинический пример реализации протокола основной группы.

Пациентка К., тридцати двух лет, (история болезни № 2567), обратилась с целью восстановления целостности зубного ряда (Рисунок 43).



Рисунок 43 – Фото дефекта зубного ряда альвеолярного отростка верхней челюсти слева пациентки К. до лечения

По согласованию с пациенткой принято решение - устранить дефект зубного ряда ортопедической конструкцией с опорой на дентальный имплантат. Для проведения операции дентальной имплантации необходимо восстановить объём кости альвеолярного отростка, достаточный для инсталляции дентального имплантата и восстановления горизонта слизистой оболочки в эстетически значимой области. Используя данные КЛКТ, в программном комплексе «DentDir» определили топографию и дизайн ДКЧ в аксиальной, фронтальной и сагиттальной плоскостях, затем рассчитали объём дефекта в границах планируемой реставрации и провели промер периметра лекала изолирующей мембраны. Раскрой проводился с учетом перекрытия мембраной границ реконструкции, чтобы комбинированный трансплантат был полностью отграничен от мягкотканых структур (Рисунок 44). Согласно расчёту, объём дефекта равен $2,35 \text{ см}^3$. В разработанной нами таблице коэффициентов естественного уплотнения гранулированных костнопластических материалов (Таблица 5) определили коэффициент уплотнения материала "Cerabone". Объем дефекта кости $2,35 \text{ см}^3$ умножили на коэффициент уплотнения 1,25 и определили, что для устранения дефекта кости в $2,35 \text{ см}^3$ необходимо использовать 3 см^3 гранулированного костнопластического материала "Cerabone".

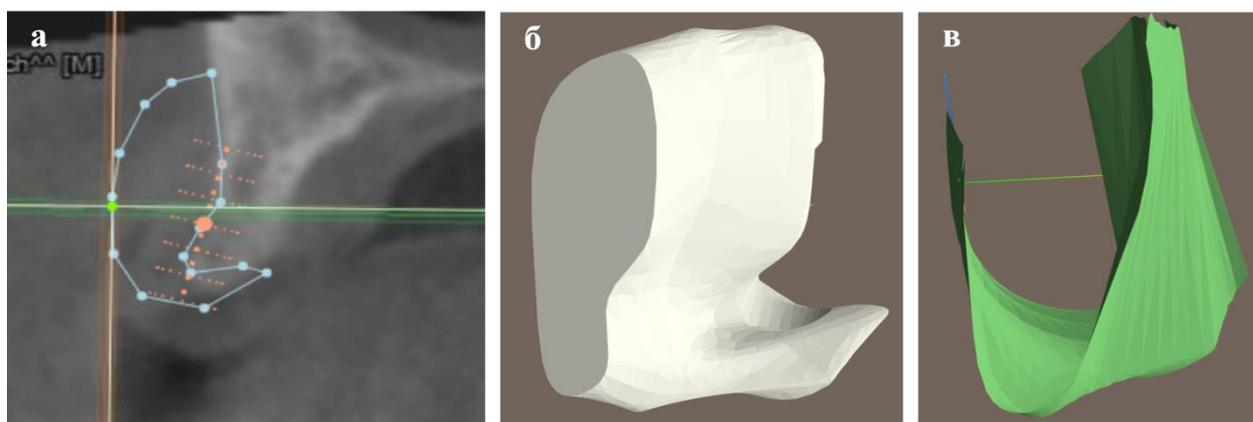


Рисунок 44 – Вид окна программы «DentDir». 3D-планирование устранения дефекта кости альвеолярного отростка верхней челюсти в разработанной программе «DentDir»: а – 3D-модель комбинированного трансплантата в границах проектируемой области; б – 3D-модель комбинированного трансплантата в границах проектируемой области с учётом K_y гранулированного костнопластического материала; в – 3D-модель проектируемой мембраны

На хирургическом этапе дентальный имплантат устанавливали в проекции зуба 2.1. с одномоментным устранением ДКЧ методом НКР в пределах запланированного объёма комбинированным трансплантатом (Рисунки 45–48).

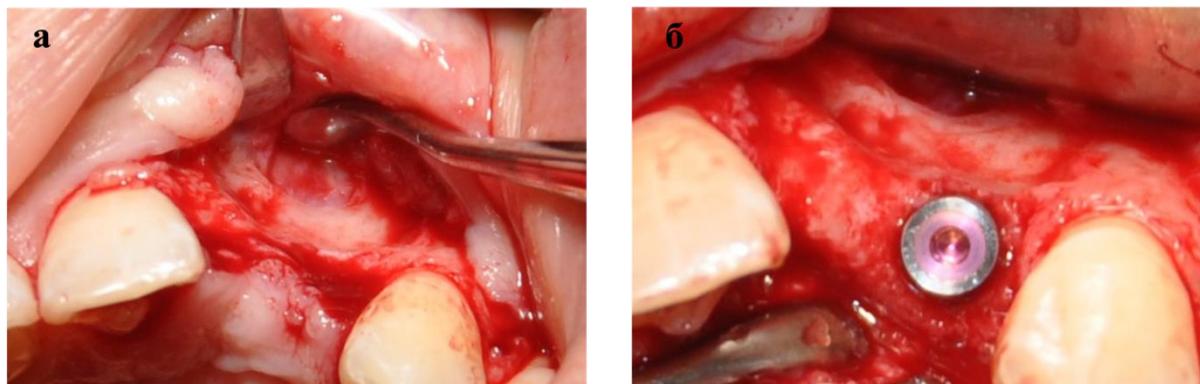


Рисунок 45 – Фото дефекта кости альвеолярного отростка верхней челюсти слева пациентки К.: а – топография дефекта кости в проекции зуба 2.1 и 2.2; б – дентальный имплантат с заглушкой установлен в проекции зуба 2.1.

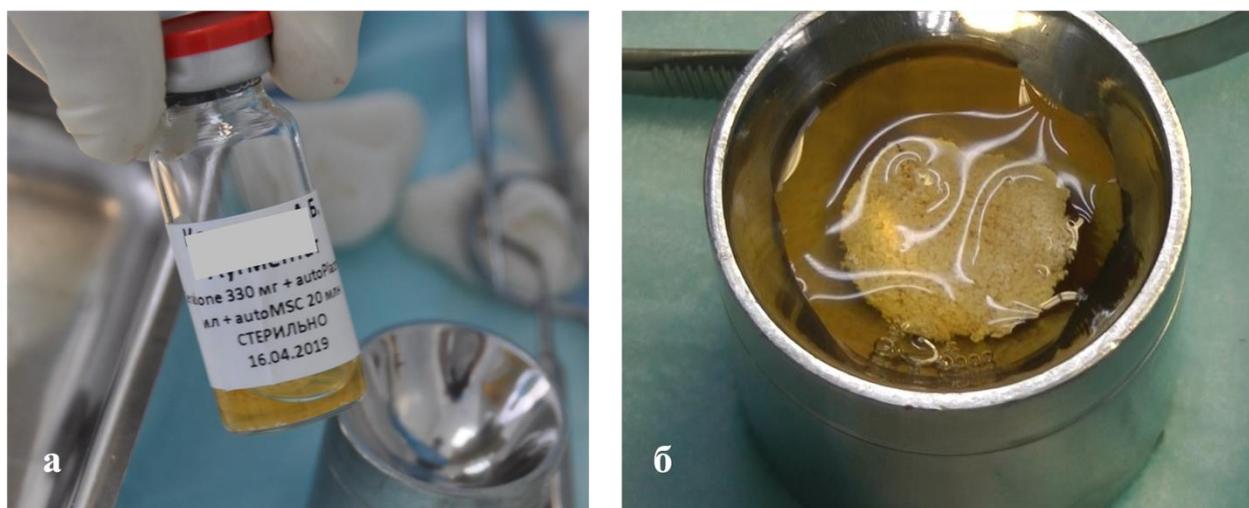


Рисунок 46 – Фото этапов подготовки компонентов комбинированного трансплантата для пациента К. (история болезни № 2567): а – комбинированный трансплантат; б - требуемый объём комбинированного трансплантата рассчитан нашим способом

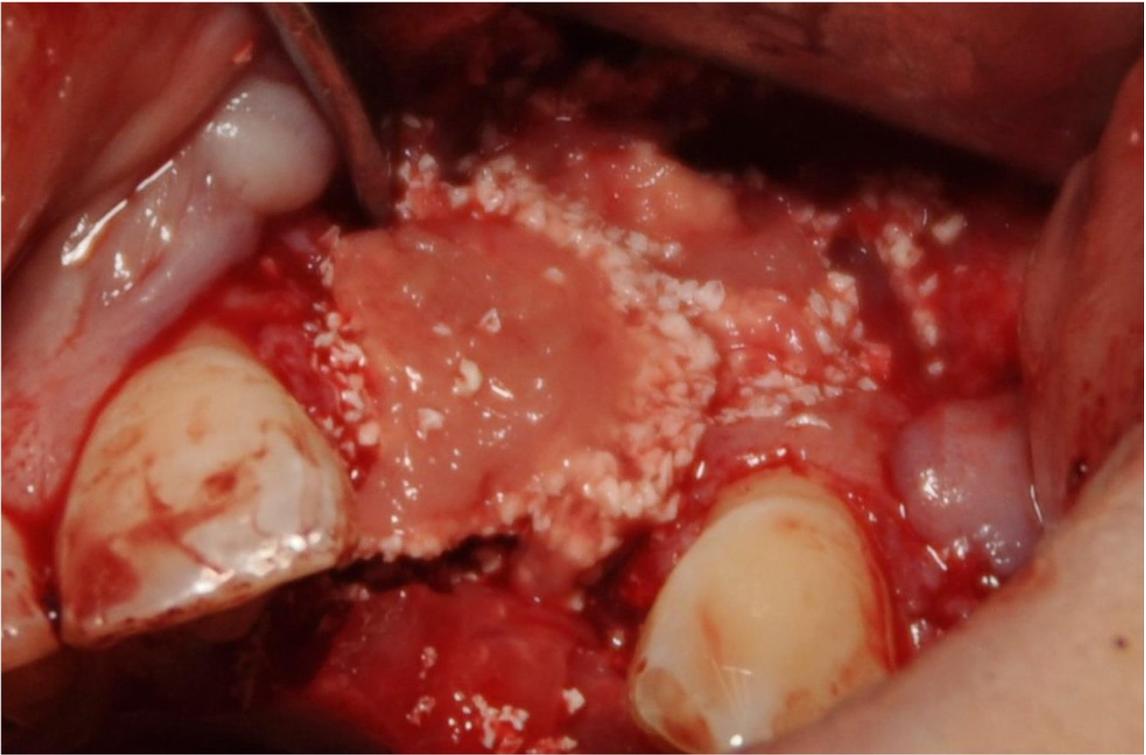


Рисунок 47 – Фото зубных рядов пациентки К. (история болезни № 2567): Фото этапа оперативного вмешательства. Аугментация ДКЧ рассчитанным комбинированным трансплантатом

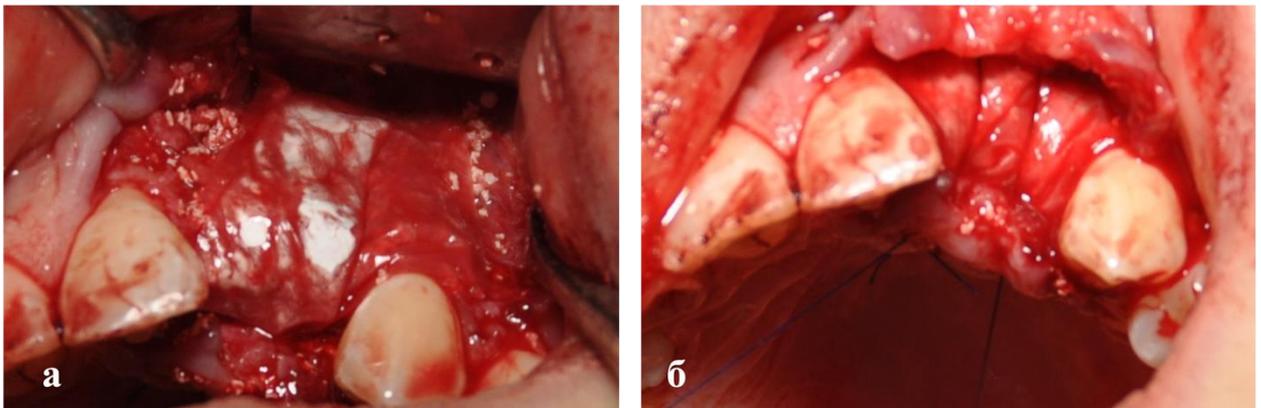


Рисунок 48 – Фото зубных рядов пациентки К. (история болезни № 2567): Этапы операции НКР: а – комбинированный трансплантат укрыт изолирующей мембраной; б – наложены швы, фиксирующие изолирующую мембрану

Изготовленные зубные коронки припасовывал врач-ортопед-стоматолог и устанавливал на абатмент имплантата в полости рта пациентки (Рисунок 49).



Рисунок 49 – Фото зубных рядов пациентки К. (история болезни № 2567).
Установлен абатмент имплантата в полости рта

Динамическое наблюдение пациента, согласно графику контрольных осмотров, на контрольных томограммах показало хорошую стабильность комбинированного трансплантата через 14 дней (Рисунок 50 а), 6 месяцев после завершения лечения (Рисунок 50 б, 51) в основной группе. ДКЧ устранён достаточным объёмом материала в запланированных границах реконструкции. Границы каркаса расположены на уровне дентального имплантата. Комбинированный трансплантат хорошо интегрирован с подлежащей костью.

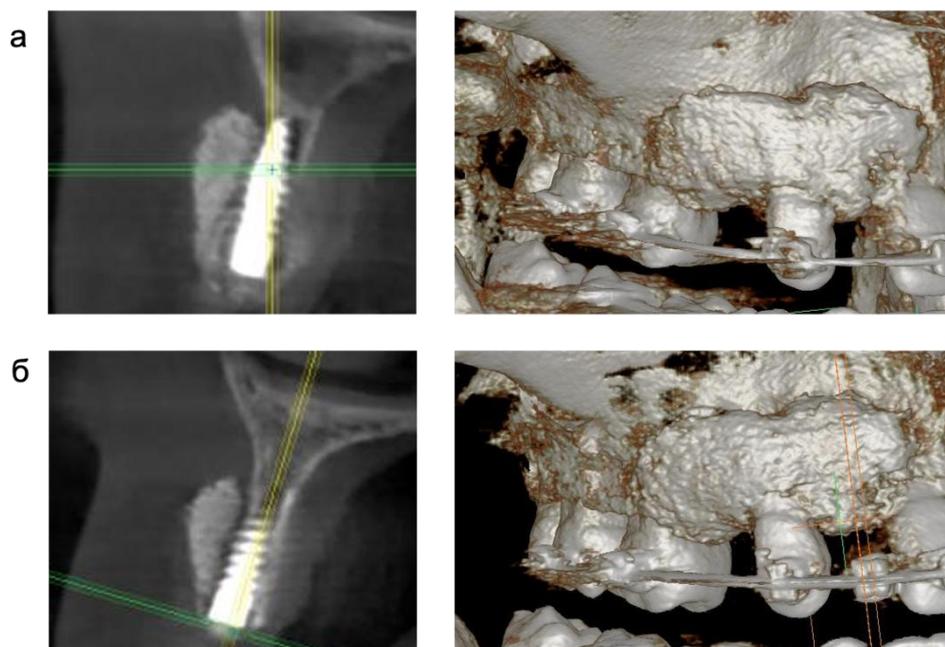


Рисунок 50 – КЛКТ верхней челюсти пациентки К: а и б – через 14 дней и 6 месяцев соответственно после установки имплантата и устранения дефекта кости с применением комбинированного трансплантата

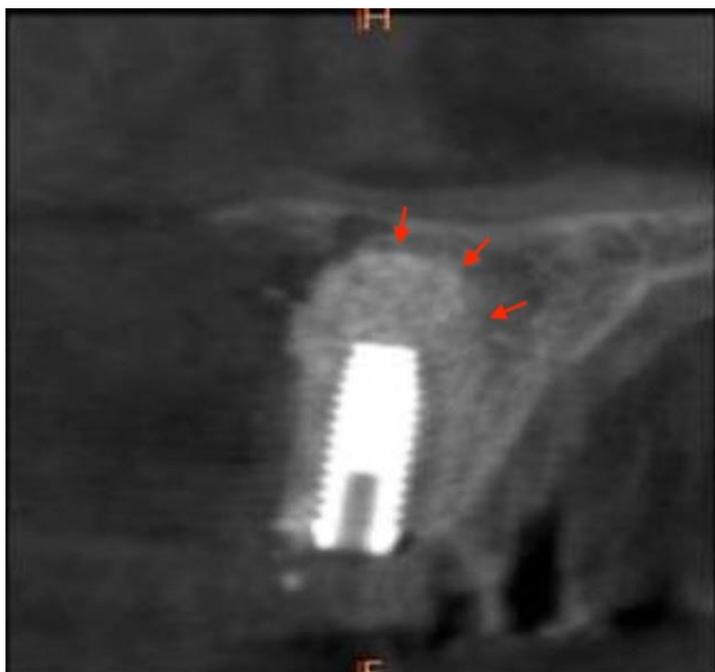


Рисунок 51 – КЛКТ верхней челюсти в основной группе пациентки Ш. (история болезни № 2915): через 6 месяцев после установки имплантата и устранения дефекта кости с применением комбинированного трансплантата. Границы (указано стрелками) комбинированного трансплантата плавно переходят в подлежащую кость. Визуализируется хорошая биоинтеграция трансплантата с тканями реципиентного ложа и стабильный объём реконструкции.

Таким образом, данные топографо-анатомического анализа дефектов кости и морфологическая оценка мягкотканого окружения выявили значительное снижение репаративных возможностей костной ткани, что является обоснованием для разработки комбинированного трансплантата для устранения дефектов кости методом НКР. Мы определили, что в послеоперационном периоде жизненный цикл гранулированной фракции костнопластического материала, входящей в состав комбинированного трансплантата, проходит стадию биотрансформации и биодеградации. Биотрансформация характеризуется преобладанием физических процессов, характеризующихся конгломерацией гранулированной фракции комбинированного трансплантата, а биодеградация характеризуется преобладанием биологических изменений, обусловленных влиянием на комбинированный трансплантат биологического окружения реципиентного ложа. Результаты морфологического анализа подготовленной методом дегазации и экстракции пыли фракции гранулированного костнопластического материала показали, что через 14 суток после операции НКР на гистологических препаратах в области дефекта визуализируются вновь образованная соединительная ткань, окружающая ГМ основной группы, с большим количеством сосудов микроциркуляторного русла, чем в месте имплантации ГМ группы сравнения. На гистологических препаратах через 1 месяц выявили, что гранулы костнопластического материала основной группы окружены более плотной неоформленной соединительной тканью, а гранулы группы сравнения окружены рыхлой соединительной тканью.

Использование разработанного нами комбинированного трансплантата позволяет восстановить объём кости, оптимизировать периферический и дистантный остеогенез в трансплантате, осуществлять 3D-проектирование скульптуры трансплантата в программном комплексе с учётом K_y используемого ГМ. Указанные обстоятельства позволят оптимизировать процесс биотрансформации и биодеградации комбинированного трансплантата с последующей биоинтеграцией структур трансплантата с биологическим

окружением дефекта кости. Это позволит оптимизировать метод НКР и сделать его более управляемым для достижения оптимальных условий репаративного остеогенеза.

ГЛАВА 4. КЛИНИКО-СТАТИСТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЗУЛЬТАТОВ ПРИМЕНЕНИЯ КОМБИНИРОВАННОГО ТРАНСПЛАНТАТА В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Для реализации поставленной цели мы использовали в своей работе результаты анализа экспериментального исследования, включая оценку влияния динамики изменения физических свойств фракции гранулированных костнопластических материалов, исследование показателей жизнеспособности МСК человека в культуральной среде *in vitro*, моделирование ответа на животных. Разработанный подход был применён для устранения дефекта кости верхней челюсти в исследуемых группах пациентов. Лечение пациентов группы сравнения проводилось общепринятым способом, основной группы - с использованием разработанного нами комбинированного трансплантата. В основной группе на этапе изготовления комбинированного трансплантата проводилась подготовка гранулированного костнопластического материала разработанным нами способом дегазации и экстракции пыли. Для размещения комбинированного трансплантата в реципиентное ложе использовали разработанный нами способ укладки и стабилизации гранулированного костнопластического материала в реципиентном ложе.

Распределение пациентов основной группы и группы сравнения осуществлялось в соответствии с дизайном исследования и по объёму требуемого объёма гранулированного костнопластического материала Cerabone (Botiss biomaterials GmbH, Германия, номер регистрационного удостоверения ФСЗ 2011/09299) (Таблица 10). Расчёт требуемого объёма ГМ для устранения дефекта кости и динамику его изменения в послеоперационном периоде осуществляли нашим способом (свидетельство РФ о регистрации программы для ЭВМ № 2021666327). Затем в программном комплексе «DentDir» проводили сравнительную оценку изменения запланированного объёма трансплантата с его фактическим объёмом, просчитанным в послеоперационном периоде в

согласованные сроки наблюдения. По итогам динамического наблюдения дана оценка статистической значимости межгрупповых и внутригрупповых отличий.

Таблица 10 — Распределение пациентов основной группы и группы сравнения по требуемому объему ГМ

Объем гранулированного костнопластического материала, мл	Группа сравнения		Основная группа	
	абс*	%	абс*	%
0,5	17	31%	4	11%
1,0	33	61%	22	59%
1,5	3	6%	6	16%
2,0	1	2%	3	8%
3,0	–	–	1	3%
3,5	–	–	1	3%

Распределение пациентов в зависимости от требуемого объема гранулированного костнопластического материала: критерий Хи – квадрат = 11,47, p=0,043

Примечание*: абс* – абсолютное число

Группа сравнения и основная группа были сопоставимы по требуемому и использованному объему ГМ ($p=0,635$). Результаты устранения дефектов кости у пациентов обеих групп с объёмом дефекта кости до 0,5 см³ и требуемого для его устранения объёма трансплантата представлены в таблице 11 и на рисунке 37. В группе сравнения объем трансплантата через 14 суток послеоперационного периода уменьшился с 494,35 (11,34) мм³ до 424,00 (17,04) мм³, то есть на 70,35 (11,59) мм³ ($p < 0,001$). Снижение объема составило 14,24 (2,40) %. В основной группе статистически значимых изменений объема трансплантата не наблюдалось (497,50 (3,87) мм³ и 491,75 (2,06) мм³ соответственно, при значении $p=0,066$). За 14 суток послеоперационного периода среднее снижение объема трансплантата составило 5,75 (2,36) мм³, что статистически не отличается от нуля. Уменьшение объема произошло на 1,15 (0,46) %. Таким образом, уже через 14 суток после операции результаты наблюдения в группах стали высокосзначно отличаться друг от друга.

Аналогичная ситуация наблюдалась и при сравнении полученных данных в динамике при увеличении временных интервалов. Так через 6 месяцев в группе сравнения объем трансплантата снизился до 418,82 (17,46) мм³, в среднем, на 75,53

(12,17) мм³ (p <0,001) или 15,29 (2,52) %. В основной группе статистически значимых изменений объема трансплантата не наблюдалось (497,87 мм³ и 489,50 (3,11) мм³ соответственно, при значении p=0,066). За 6 месяцев послеоперационного периода среднее снижение объема трансплантата составило 8,00 (1,63) мм³ или 1,61 (0,32) %.

Таблица 11 – Оценка динамики изменения объема трансплантата и регенерата при использовании 0,5 мл ГМ в различные сроки после операции среди пациентов основной группы и группы сравнения

Изучаемый признак	Группа сравнения n=17 M (SD)	Основная группа n=4 M (SD)	P - значение
Требуемый объем гранулированного костнопластического материала до операции, мм ³	494,35 (11,34)	497,50 (3,87)	0,635
Объем трансплантата послеоперационном периоде через 14 суток, мм ³	424,00 (17,04)	491,75 (2,06)	<0,001
Объем трансплантата в послеоперационном периоде через 6 месяца, мм ³	418,82 (17,46)	489,50 (3,11)	<0,001
Объем регенерата в послеоперационном периоде через 12 месяцев, мм ³	414,82 (17,28)	484,25 (3,77)	<0,001
Объем регенерата в послеоперационном периоде через 18 месяцев, мм ³	412,71 (17,47)	482,50 (4,93)	<0,001
Уменьшение объема через 14 сут, мм ³	70,35 (11,59)	5,75 (2,36)	<0,001
Уменьшение объема через 6 мес, мм ³	75,53 (12,17)	8,00 (1,63)	<0,001
Уменьшение объема через 12 мес, мм ³	79,53 (12,18)	13,25 (4,03)	<0,001
Уменьшение объема через 18 мес, мм ³	81,65 (12,51)	15,00 (4,32)	<0,001
Уменьшение объема через 14 сут, %	14,24 (2,40)	1,15 (0,46)	<0,001
Уменьшение объема через 6 мес, %	15,29 (2,52)	1,61 (0,32)	<0,001
Уменьшение объема через 12 мес, %	16,10 (2,52)	2,66 (0,80)	<0,001
Уменьшение объема через 18 мес, %	16,53 (2,59)	3,01 (0,86)	<0,001
<i>Статистическая значимость отличий в динамике наблюдения</i>			
р треб-14 сут	<0,001	0,066	–
р 14 сут - 6 мес	<0,001	0,066	–
р 6 мес - 12 мес	<0,001	0,068	–
р 12 мес - 18 мес	0,001	0,102	–
р треб -18 мес	<0,001	0,068	–

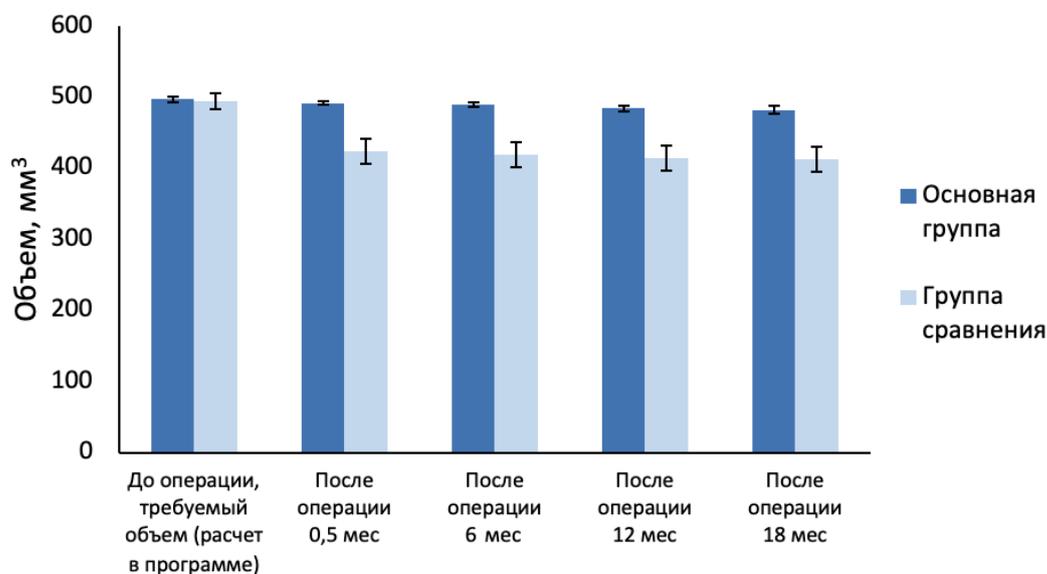
Через год наблюдений в группе сравнения объём регенерата уменьшился с 494,35 (11,34) мм³ до 414,82 (17,28) мм³, то есть на 79,53 (12,18) мм³ (p <0,001).

Снижение объема составило 16,10 (2,52) %. В основной группе статистически значимых изменений объема регенерата не наблюдалось (497,50 (3,87) мм³ и 484,25 (3,77) мм³ соответственно, при значении $p=0,068$). За год наблюдения среднее снижение объема регенерата составило 13,25 (4,03) мм³, что статистически не отличается от нуля. Уменьшение объема составило 2,66 (0,80) %.

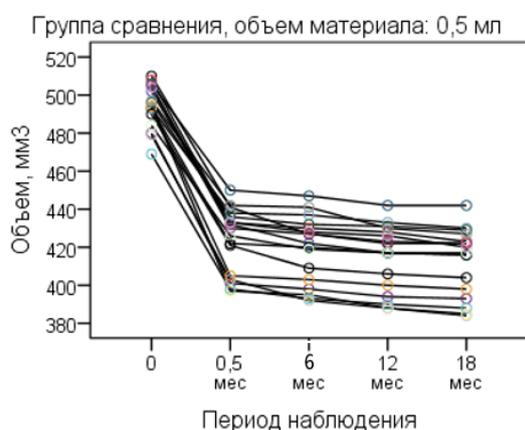
Спустя 18 месяцев в группе сравнения объем регенерата снизился с 494,35 (11,34) до 412,71 (17,47) мм³, в среднем, на 81,65 (12,51) мм³ ($p < 0,001$) или на 16,53 (2,59) %. В основной группе статистически значимых изменений объема регенерата не наблюдалось (497,50 (3,87) мм³ и 482,50 (4,93) мм³ соответственно, при значении $p=0,102$). За 1,5 года послеоперационного периода среднее уменьшение объема регенерата составило 15,00 (4,32) мм³ или 3,01 (0,86) %.

При использовании 0,5 мл ГМ в различные сроки после операции среди пациентов изучаемых групп наблюдались статистически значимые отличия, начиная с 14 суток послеоперационного периода. В основной группе ни статистически, ни клинически значимого снижения объема трансплантата не происходило.

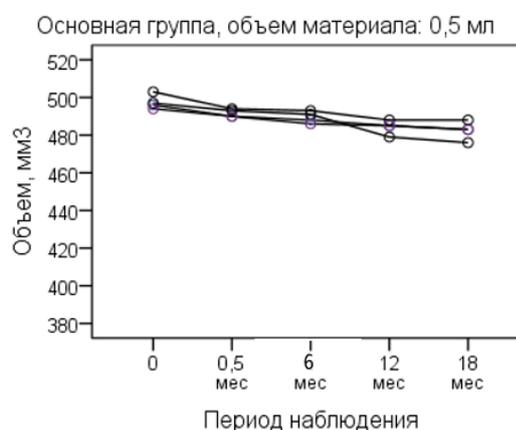
Динамика изменений объема трансплантата и регенерата при использовании 0,5 мл ГМ в различные сроки после операции среди пациентов основной группы и группы сравнения отражена на рисунке 30.



а



б



в

Рисунок 30 — Динамика изменения объема трансплантата и регенерата в изучаемых группах при требуемом объеме ГМ до 0,5 мл: а – средние значения и стандартные отклонения; б – скаттерограммы индивидуальных значений в группе сравнения; в – скаттерограммы индивидуальных значений в основной группе

Результаты устранения дефектов кости у пациентов с объёмом дефекта кости до 1 см³ и требуемого для его устранения объёма трансплантата представлены в таблице 12 и на рисунке 31.

Таблица 12 – Оценка динамики изменения объема трансплантата и регенерата при использовании 1,0 мл ГМ в различные сроки после операции среди пациентов основной и групп сравнения

Исследуемый признак	Группа сравнения n=33 М (SD)	Основная группа n=22 М (SD)	p М-У
Требуемый объем гранулированного костнопластического материала до операции, мм ³	993,27 (13,52)	993,36 (6,55)	0,884
Объем трансплантата послеоперационном периоде через 14 сут, мм ³	871,24 (38,09)	990,27 (6,24)	<0,001
Объем трансплантата в послеоперационном периоде через 6 мес, мм ³	863,30 (36,50)	985,18 (8,97)	<0,001
Объем регенерата в послеоперационном периоде через 12 мес, мм ³	855,18 (34,98)	982,27 (9,61)	<0,001
Объем регенерата в послеоперационном периоде через 18 мес, мм ³	852,30 (34,32)	979,23 (9,38)	<0,001
Уменьшение объема через 14 сут, мм ³	122,03 (36,41)	3,09 (2,11)	<0,001
Уменьшение объема через 6 мес, мм ³	129,97 (34,69)	8,18 (7,86)	<0,001
Уменьшение объема через 12 мес, мм ³	138,09 (33,70)	11,09 (8,09)	<0,001
Уменьшение объема через 18 мес, мм ³	140,97 (32,80)	14,14 (8,20)	<0,001
Уменьшение объема через 14 сут, %	12,28 (3,68)	0,31 (0,21)	<0,001
Уменьшение объема через 6 мес, %	13,08 (3,50)	0,82 (0,79)	<0,001
Уменьшение объема через 12 мес, %	13,90 (3,39)	1,12 (0,81)	<0,001
Уменьшение объема через 18 мес, %	14,19 (3,30)	1,42 (0,82)	<0,001
<i>Статистическая значимость отличий в динамике наблюдения</i>			
р треб-14 сут	<0,001	<0,001	–
р 14 сут - 6 мес	<0,001	<0,001	–
р 6 мес - 12 мес	<0,001	<0,001	–
р 12 мес - 18 мес	<0,001	<0,001	–
р треб -18 мес	<0,001	<0,001	–

Группа сравнения и основная группа пациентов были сопоставимы по требуемому и использованному объему ГМ (p=0,884). В группе сравнения объем трансплантата через 14 суток послеоперационного периода статистически значимо уменьшился с 993,27 (13,52) мм³ до 871,24 (38,09) мм³, то есть на 122,03 (36,41) мм³ (p <0,001), таким образом, уменьшение объема составило 12,28 (3,68) %. В основной группе также произошло статистически значимое уменьшение объема трансплантата с 993,36 (6,55) мм³ до 990,27 (6,24) мм³ (p <0,001). Однако степень снижения объема трансплантата в этой группе была значительно меньше, чем в

группе сравнения ($p < 0,001$). За 14 суток послеоперационного периода среднее снижение объема трансплантата составило 3,09 (2,11) мм³ или 0,31 (0,21) %.

Спустя 6 месяцев наблюдений в группе сравнения объем трансплантата статистически значимо снизился с 993,27 (13,52) до 863,30 (36,50) мм³, в среднем, на 129,97 (34,69) мм³ ($p < 0,001$) или на 13,08 (3,50). И в основной группе имело место статистически значимое уменьшение объема трансплантата (993,36 (6,55) мм³ и 985,18 (8,97) мм³ соответственно, при значении $p < 0,001$). За 6 месяцев послеоперационного периода среднее снижение объема трансплантата составило 8,18 (7,86) мм³ или 0,82 (0,79) %.

Через год группе сравнения объем регенерата статистически значимо уменьшился с 993,27 (13,52) мм³ до 855,18 (34,98) мм³, то есть, в среднем, на 138,09 (33,70) мм³ ($p < 0,001$). Снижение объема составило 13,90 (3,39) %. В основной группе также наблюдалось статистически значимое снижение объема регенерата с 993,36 (6,55) мм³ до 982,27 (9,61) мм³ ($p < 0,001$). За год наблюдения среднее снижение объема регенерата составило 11,09 (8,09) мм³, или 1,12 (0,81) %.

Спустя 18 месяцев в группе сравнения объем регенерата статистически значимо уменьшился с 993,27 (13,52) до 852,30 (34,32) мм³, в среднем, на 140,97 (32,80) мм³ ($p < 0,001$) или на 14,19 (3,30) %. В основной группе объем регенерата статистически значимо снизился с 993,36 (6,55) мм³ до 979,23 (9,38) мм³, при значении $p < 0,001$. За полтора года послеоперационного периода среднее уменьшение объема регенерата составило 14,14 (8,20) мм³ или 1,42 (0,82) %. При использовании 1,0 мл ГМ на протяжении 18 месяцев после операции среди пациентов основной и групп сравнения наблюдалось статистически значимое снижение объема трансплантата. Тем не менее, в основной группе, несмотря на наличие незначительного снижения объема трансплантата и регенерата через 1,5 года наблюдений, клинически значимого снижения не наблюдалось. По итоговым значениям уменьшение объема заметно отличалось в группах и составило в группе сравнения 14,19 (3,30) %, а в основной лишь 1,42 (0,82) % ($p < 0,001$).

Динамика изменений объема трансплантата и регенерата при использовании 1,0 мл ГМ в различные сроки после операции среди пациентов группы сравнения и

основной группы отражена на рисунке 31.

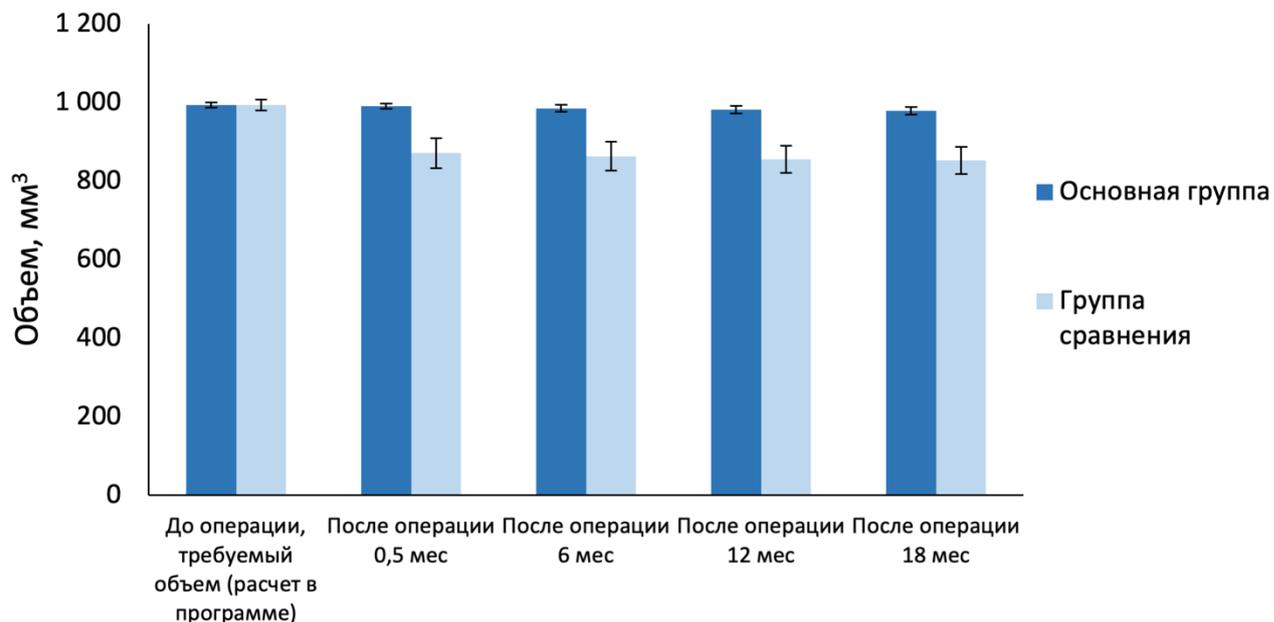


Рисунок 31 — Динамика изменения объема трансплантата и регенерата в изучаемых группах при требуемом объеме ГМ до 1 мл: средние значения и стандартные отклонения

Результаты устранения дефектов кости у пациентов с объёмом дефекта кости до 1,5 мл и требуемого для его устранения объёма трансплантата представлены в таблице 13 и на рисунке 32.

Группа сравнения и основная группа были сопоставимы по требуемому и использованному объёму ГМ ($p=0,714$). В группе сравнения объём трансплантата через 14 суток послеоперационного периода не имел статистически значимого уменьшения (1490,00 (15,72) мм³ и 1266,33 (25,81) мм³ соответственно, уменьшение объёма составило 223,67 (13,58) мм³ ($p=0,109$) или 15,02 (1,00) % от исходного значения. Не наблюдалось статистически значимых изменений объёма трансплантата и в основной группе (1493,17 (5,98) мм³ и 1489,33 (5,68) мм³ соответственно, при значении $p=0,027$). За 14 суток послеоперационного периода среднее снижение объёма трансплантата произошло на 3,83 (1,72) мм³, ($p=0,027$), что составило 0,26 (0,12) %.

Таблица 13 – Оценка динамики изменения объема трансплантата и регенерата при использовании 1,5 мл ГМ в различные сроки после операции среди пациентов основной группы и группы сравнения

Исследуемый признак	Группа сравнения n=3 M (SD)	Основная группа n=6 M (SD)	p M-U
Требуемый объем гранулированного костнопластического материала до операции, мм ³	1490,00 (15,72)	1493,17 (5,98)	0,714
Объем трансплантата послеоперационном периоде через 14 сут, мм ³	1266,33 (25,81)	1489,33 (5,68)	0,024
Объем трансплантата в послеоперационном периоде через 6 мес, мм ³	1255,67 (30,60)	1487,17 (6,01)	0,024
Объем регенерата в послеоперационном периоде через 12 мес, мм ³	1251,00 (32,14)	1483,17 (8,57)	0,024
Объем регенерата в послеоперационном периоде через 18 мес, мм ³	1247,33 (32,62)	1480,50 (7,74)	0,024
Уменьшение объема через 14 сут, мм ³	223,67 (13,58)	3,83 (1,72)	0,024
Уменьшение объема через 6 мес, мм ³	234,33 (16,80)	6,00 (1,67)	0,024
Уменьшение объема через 12 мес, мм ³	239,00 (19,08)	10,00 (4,00)	0,024
Уменьшение объема через 18 мес, мм ³	242,67 (18,88)	12,67 (3,61)	0,024
Уменьшение объема через 14 сут, %	15,02 (1,00)	0,26 (0,12)	0,024
Уменьшение объема через 6 мес, %	15,73 (1,25)	0,40 (0,11)	0,024
Уменьшение объема через 12 мес, %	16,05 (1,40)	0,67 (0,27)	0,024
Уменьшение объема через 18 мес, %	16,29 (1,40)	0,85 (0,24)	0,024
<i>Статистическая значимость отличий в динамике наблюдения</i>			
p треб-14 сут	0,109	0,027	–
p 14 сут - 6 мес	0,109	0,026	–
p 6 мес - 12 мес	0,102	0,027	–
p 12 мес - 18 мес	0,109	0,026	–
p треб -18 мес	0,109	0,027	–

Через 6 месяцев в группе сравнения объем трансплантата статистически значимо снизился с 1490,00 (15,72) до 1255,67 (30,60) мм³, в среднем, на 234,33 (16,80) мм³ (p=0,109). Уменьшение объема составило 15,73 (1,25) %. И в основной группе показатель статистически значимо изменился в сторону снижения объем трансплантата (1493,17 (5,98) мм³ и 1487,17 (6,01) мм³ соответственно, при значении p=0,026). За 6 месяцев послеоперационного периода среднее снижение объема трансплантата составило 6,00 (1,67) мм³ или 0,40 (0,11) %.

Спустя год наблюдений в группе сравнения объем регенерата статистически значимо уменьшился с 1490,00 (15,72) мм³ до 1251,00 (32,14) мм³, то есть на 239,00

(19,08) мм³ ($p=0,102$) или 16,05 (1,40) %. В основной группе статистически значимо уменьшился объем регенерата (1493,17 (5,98) мм³ и 1483,17 (8,57) мм³ соответственно, при значении $p=0,027$). За год наблюдения среднее снижение объема регенерата составило 10,00 (4,00) мм³ или 0,67 (0,27) %.

Спустя 18 месяцев в группе сравнения объем регенерата статистически значимо снизился с 1490,00 (15,72) до 1247,33 (32,62) мм³ ($p=0,109$), в среднем, на 242,67 (18,88) мм³ или на 16,29 (1,40) %. И в основной группе произошли статистически значимые изменения: объем регенерата уменьшился с 1493,17 (5,98) мм³ до 1480,50 (7,74) мм³ соответственно, при значении $p=0,027$). За 1,5 года послеоперационного периода среднее уменьшение объема регенерата составило 12,67 (3,61) мм³ или 0,85 (0,24) %.

При использовании 1,5 мл ГМ в различные сроки после операции среди пациентов основной группы и группы сравнения наблюдалось статистически значимое снижение объема трансплантата. Тем не менее, в основной группе, снижения объема трансплантата и регенерата во всех контрольных точках наблюдения (через 14 суток, через 6, 12, 18 месяцев) характеризовалось статистически значимо лучшими результатами в основной группе, где был использован разработанный нами комбинированный трансплантат, по сравнению с группой сравнения, где применялся общепринятый способ лечения ($p=0,024$ во все периоды наблюдения).

К окончанию наблюдения уменьшение объема трансплантата статистически значимо отличалось и составила в группе сравнения 16,29 (1,40) %, а в основной лишь 0,85 (0,24) % ($p=0,024$), что свидетельствовало об эффективности применения разработанного нами комбинированного трансплантата. Используемый нами способ позволил предотвратить значительное изменение объема трансплантата и продемонстрировал лучший клинический результат.

Динамика изменений объема трансплантата и регенерата при использовании 1,5 мл ГМ в различные сроки после операции среди пациентов основной и групп сравнения отражена на рисунке 39.

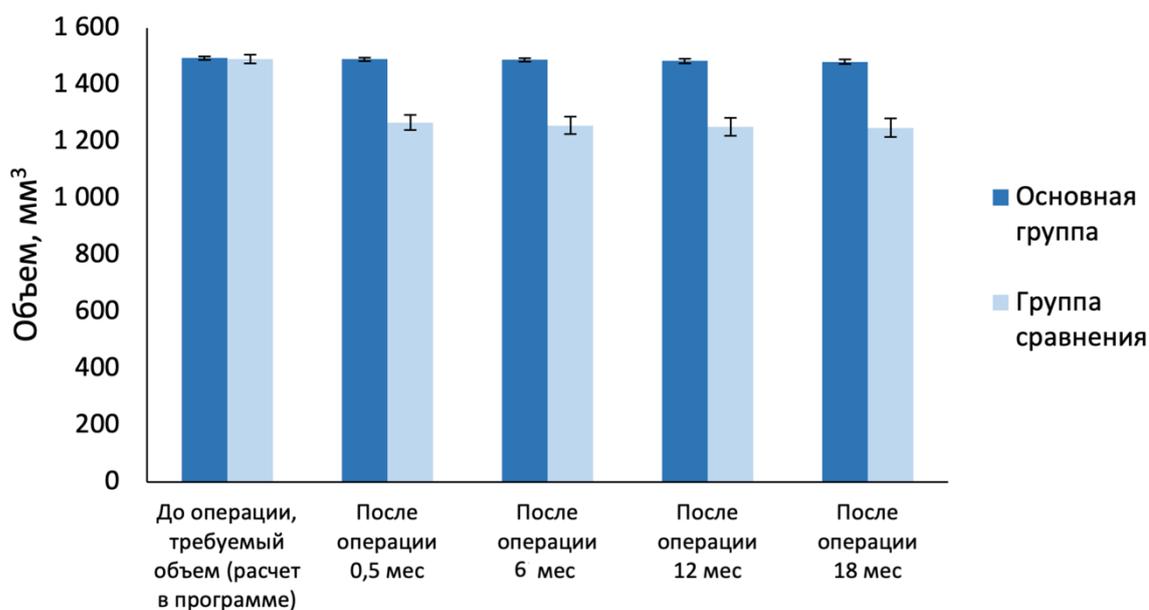


Рисунок 32 — Динамика изменения объема трансплантата и регенерата в изучаемых группах при требуемом объеме ГМ до 1,5 мл: средние значения и стандартные отклонения

Оценка динамики изменений объема трансплантата и регенерата при использовании 2,0 мл, 3,0 мл и 3,5 мл ГМ в различные сроки после операции среди пациентов группы сравнения и основной группы отражена в таблицах 14, 15 и 16 соответственно.

Таблица 14 – Оценка динамики изменения объема трансплантата и регенерата при использовании 2,0 мл ГМ в различные сроки после операции среди пациентов обеих групп

Изучаемый признак	Группа сравнения n=1 М (SD)	Основная группа n=3 М (SD)
Требуемый объем гранулированного костнопластического материала до операции, мм ³	1992,00	2001,33 (3,06)
Объем трансплантата послеоперационном периоде через 14 сут, мм ³	1713,00	1997,67 (2,52)
Объем трансплантата в послеоперационном периоде через 6 мес, мм ³	1706,00	1992,33 (1,53)
Объем регенерата в послеоперационном периоде через 12 мес, мм ³	1700,00	1991,00 (2,65)
Объем регенерата в послеоперационном периоде через 18 мес, мм ³	1698,00	1989,00 (3,00)

Уменьшение объема через 14 сут, мм ³	279,00	3,67 (2,08)
Уменьшение объема через 6 мес, мм ³	286,00	9,00 (4,58)
Уменьшение объема через 12 мес, мм ³	292,00	10,33 (5,69)
Уменьшение объема через 18 мес, мм ³	294,00	12,33 (6,03)
Уменьшение объема через 14 сут, %	14,01	0,18 (0,10)
Уменьшение объема через 6 мес, %	14,36	0,45 (0,23)
Уменьшение объема через 12 мес, %	14,66	0,52 (0,28)
Уменьшение объема через 18 мес, %	14,76	0,62 (0,30)
<i>Статистическая значимость отличий в динамике наблюдения</i>		
р треб-14 сут	–	0,109
р 14 сут - 6 мес	–	0,109
р 6 мес - 12 мес	–	0,102
р 12 мес - 18 мес	–	0,109
р треб -18 мес	–	0,109

Группа сравнения и основная группа были малочисленными, число лиц, которые получили 2,0 мл ГМ составило 1 в группе сравнения и 3 - в основной. Полученные результаты не могут быть интерпретированы, как в группах сравнения, в связи с недостаточной выборкой, так как выводы и оценки могут быть неточными или искаженными. При использовании 2,0 мл ГМ в изучаемые сроки после операции у пациента, которому костнопластический материал использовали общепринятым способом, наблюдалось снижение объема. У лиц в основной группе снижение объема трансплантата и регенерата во всех контрольных точках наблюдения (через 14 суток, через 6, 12, 18 месяцев) характеризовалось лучшими результатами по сравнению с группой сравнения ($p=0,109$, 109 , $102,109$ соответственно). К окончанию наблюдения снижение запланированного объема трансплантата составила в группе сравнения 14,76%, а в основной лишь 0,62 (0,30) % со значением $p=0,109$.

Таблица 15 – Оценка динамики изменения объема трансплантата и регенерата при использовании 3,0 мл ГМ в различные сроки после операции среди пациентов основной и групп сравнения

Исследуемый признак	Основная группа n=1
Требуемый объем гранулированного костнопластического материала до операции, мм ³	2985,00
Объем трансплантата послеоперационном периоде через 14 сут, мм ³	2978,00
Объем трансплантата в послеоперационном периоде через 6 мес, мм ³	2971,00
Объем регенерата в послеоперационном периоде через 12 мес, мм ³	2970,00
Объем регенерата в послеоперационном периоде через 18 мес, мм ³	2966,00
Уменьшение объема через 14 сут, мм ³	7,00
Уменьшение объема через 6 мес, мм ³	14,00
Уменьшение объема через 12 мес, мм ³	15,00
Уменьшение объема через 18 мес, мм ³	19,00
Уменьшение объема через 14 сут, %	0,23
Уменьшение объема через 6 мес, %	0,47
Уменьшение объема через 12 мес, %	0,50
Уменьшение объема через 18 мес, %	0,64

При использовании 3,0 мл ГМ у пациента основной группы наблюдалось небольшое снижение объема ГМ материала во всех контрольных точках наблюдения (через 14 суток, через 6, 12, 18 месяцев). Спустя 1,5 года уменьшение объема трансплантата была незначительной и составила 0,64%.

Таблица 16 – Оценка динамики изменения объема трансплантата и регенерата при использовании 3,5 мл ГМ в различные сроки после операции среди пациентов основной группы и группы сравнения

Исследуемый признак	Основная группа n=1
Требуемый объем гранулированного костнопластического материала до операции, мм ³	3489,00
Объем трансплантата послеоперационном периоде через 14 сут, мм ³	3480,00
Объем трансплантата в послеоперационном периоде через 6 мес, мм ³	3477,00
Объем регенерата в послеоперационном периоде через 12 мес, мм ³	3474,00
Объем регенерата в послеоперационном периоде через 18 мес, мм ³	3471,00
Уменьшение объема через 14 сут, мм ³	9,00
Уменьшение объема через 6 мес, мм ³	12,00
Уменьшение объема через 12 мес, мм ³	15,00
Уменьшение объема через 18 мес, мм ³	18,00
Уменьшение объема через 14 сут, %	0,26

Уменьшение объема через 6 мес, %	0,34
Уменьшение объема через 12 мес, %	0,43
Уменьшение объема через 18 мес, %	0,52

При использовании 3,5 мл ГМ у пациента основной группы наблюдалось незначительное снижение объема ГМ во всех контрольных точках наблюдения (через 14 суток, через 6, 12, 18 месяцев). Через 1,5 года снижение объема трансплантата была незначительной и составила 0,52%.

Анализ применения способа дегазации и экстракции пыли для подготовки фракции ГМ к использованию, позволил сделать заключение об отсутствии цитотоксического влияния, прошедших подготовку компонентов фракции, на рост и жизнеспособность клеточной культуры МСК человека. Оценка количества сосудов микроциркуляторного русла и площади регенерата, проведенная в эксперименте на 54 лабораторных крысах Wistar, выявили достаточный потенциал способа для использования в клинической практике (к 90-м суткам в основной группе резорбция ГМ была на 9,2% выше, чем в группе сравнения).

Результаты исследования свидетельствуют о том, что использование разработанного нами комбинированного трансплантата, на этапе изготовления которого проводилась подготовка гранулированного костнопластического материала разработанным нами способом дегазации и экстракции пыли, повышает площадь свободных поверхностей фракции на 61,67%, что оптимизирует размещение факторов роста кости и активирует дистантный остеогенез в теле комбинированного трансплантата в послеоперационном периоде. Использование разработанного нами способа укладки и стабилизации гранулированного костнопластического материала в реципиентном ложе позволяет оптимизировать биотрансформацию и биodeградацию компонентов комбинированного трансплантата и снизить вероятность возникновения осложнений в виде неконтролируемого уменьшения запланированного объема скульптуры трансплантата в послеоперационном периоде.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ отечественной и иностранной литературы свидетельствует о том, что успех устранения дефектов кости альвеолярного отростка верхней челюсти методом направленной костной регенерации определяется прогрессивным клеточно-тканевым ростом по всему объёму трансплантата, биоразлагаемостью со скоростью, соизмеримой с ремоделированием [Naugen H. et al., 2019]. Одним из важных критериев ГМ является способность встраиваться в дренажную систему реципиентного ложа и мягкотканого окружения для осуществления массопереноса питательных веществ и кислорода, удаления отходов, образующихся клетками. Ключевыми компонентами во время регенерации кости являются перициты, мезенхимальные стромальные клетки и эндотелиальные клетки, которые управляют остеокондукцией с помощью биофизических и биохимических сигналов, запускаемых микроокружением [Li J. et al., 2021].

Успешными являются те материалы, которые подвергаются реваскуляризации и биотрансформации с сохранением стабильности объема реконструкции. Во время операции направленной костной регенерации в независимости от ГМ решающую роль играют не только характеристики гранул, но и правильное распределение их в тканях, уплотнение и расположение внутри дефекта [Falacho R. et al., 2021].

Под влиянием биологического окружения изменяются физические свойства фракции ГМ. Сжимающие силы, возникающие во время закрытия раны и периода заживления, могут привести к апикальному смещению гранулированной фракции материалов, тем самым нарушая сохранение остеогенного пространства и образование новой кости [Benic G. et al., 2017]. Это является причиной неконтролируемого изменения объёма фракции биоматериала в реципиентном ложе в течение первых трёх недель послеоперационного периода.

Целью исследования явилось повысить эффективность лечения пациентов с дефектами кости альвеолярного отростка верхней челюсти на основе разработки и клинического использования комбинированного трансплантата.

Для реализации цели исследования в период с 2019–2023 г. проведён анализ клинических случаев 177 пациентов, направленных в клинику врачом - ортопедом-стоматологом для подготовки к ортопедическому лечению с использованием несъёмных ортопедических конструкций с опорой на дентальные имплантаты. В соответствии с целью исследования сформирована общая группа пациентов (n 91), которым для восстановления целостности зубного ряда несъёмными ортопедическими конструкциями, наряду с операцией дентальной имплантации, требовалось восстановление объёма кости альвеолярного отростка верхней челюсти методом НКР. Общую группу разделили на две клинические группы - основную группу (n 37) и группу сравнения (n 54). В основной группе устранение ДКЧ проводили методом НКР с использованием разработанного нами комбинированного трансплантата. В группе сравнения устранение ДКЧ проводили методом НКР по общепринятому способу. Для выполнения операции НКР в обеих группах использовали ГМ Cerabone (Botiss biomaterials GmbH, Германия, номер регистрационного удостоверения ФСЗ 2011/09299).

Одной из значимых проблем регенеративной медицины является разработка способов, направленных на сохранение в проектных границах объёма имплантированного трансплантата. Учитывая это, нами разработана пропись комбинированного трансплантата, использование которого позволяет в 95 % клинических случаев сохранить в проектных границах объём скульптуры трансплантата и снизить вероятность возникновения осложнений в послеоперационном периоде. Состав комбинированного трансплантата включает 4 компонента. Количественное содержание компонентов в процентах от объёма комбинированного трансплантата составляет: ГМ (Компонент 1 – 65%); фибрин, обогащённый тромбоцитами (Компонент 2 - 20%); аутологичный клеточный пул стромально-васкулярной фракции (Компонент 3 - 10%), коллагеновая изолирующая мембрана (Компонент 4 - 5%).

На этапе планирования устранения ДКЧ диагностику и расчёт объёма дефекта кости проводили в программном комплексе «DentDir» (свидетельство РФ

о регистрации программы для ЭВМ № 2021666327). 3D-планирование скульптуры комбинированного трансплантата и раскрой лекала изолирующей мембраны осуществляли в программном комплексе «DentDir». В основной группе расчёт требуемого объёма комбинированного трансплантата проводили по границам запланированной 3D-скульптуры трансплантата в программном комплексе «DentDir» с учётом коэффициента естественного уплотнения ГМ по разработанному нами способу (Патент на изобретение 2754190 С1). В группе сравнения требуемый объём ГМ определяли в программном комплексе «DentDir» по фактическим границам дефекта кости без учёта коэффициента естественного уплотнения ГМ и принимали его как равный объёму дефекта кости.

Пациентам группы сравнения на хирургическом этапе была проведена дентальная имплантация с одномоментным устранением ДКЧ методом НКР путём свободной укладки ГМ в реципиентное ложе в пределах запланированных границ рельефа дефекта кости. Трансплантат укрывали резорбируемой коллагеновой мембраной, которую фиксировали наружно внутренним швом из нерассасывающейся мононити. Раскрой мембраны проводили в границах ДКЧ. Поверх мембраны укладывали и ушивали наглухо в три этажа иммобилизованный слизисто-надкостничный лоскут.

Пациентам основной группы устранение ДКЧ проводили комбинированным трансплантатом по разработанному нами способу укладки и способа фиксации комбинированного трансплантата в реципиентном ложе (Патент на изобретение 2766977 С1). На хирургическом этапе была проведена дентальная имплантация с одномоментным устранением ДКЧ методом НКР в пределах запланированных границ рельефа изготовленным комбинированным трансплантатом.

Экспериментальное исследование *in vitro* фракции ГМ выполняли в институте экспериментальной медицины и биотехнологий ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (директор – д.м.н., профессор Л.Т. Волова) и на кафедре химии «Самарского университета» (доцент кафедры химии, к.х.н. В.И. Платонов). Нами разработана теоретическая модель для изучения в условиях *in vitro* трансплантатов, содержащих фракцию ГМ, которая позволила

охарактеризовать процесс конгломерации гранул известняковой фракции и трёх фракций ГМ Bio-Oss® 0,25-1 мм (Geistlich, Швейцария), Cerabone® 0,5-1 мм (Botiss biomaterials GmbH, Германия) и Xenograft Collagen® 0,25-1 мм (BioOST, Россия). Мы установили, что процесс конгломерации гранул в реципиентном ложе проходит две стадии: Стадия 1. Конгломерация *ex tempore*: 1.1. предварительная подготовка ГМ методом дегазации и экстракции пыли 1.2. мануальная конгломерация – при укладке трансплантата в ложе реципиента; 1.3. физическая конгломерация – под действием механических сил изолирующей мембраны каркаса биоинженерной конструкции; Стадия 2. биологическая конгломерация – связывание гранул фракции фибрином тромба, уплотнение каркасом мягкотканой среды реципиентного ложа.

Проведён анализ влияния динамики изменения физических свойств фракции ГМ на устойчивость объёма комбинированного трансплантата. Для этого определили и рассчитали прогностические показатели, характеризующие изменение физических свойств фракции ГМ в послеоперационном периоде. Исследование физических свойств ГМ провели на гранулированной фракции известняка заданного гранулометрического состава. В качестве справочного материала для формирования структуры расчёта использовали ГОСТ РФ, которые позволяют оценить степень уплотнения сыпучих материалов (ГОСТ 23671-2020, ГОСТ 12536-79, ГОСТ 25100-95, ГОСТ 22733-02, ГОСТ 5180-84).

На этапе изготовления комбинированного трансплантата ГМ подготавливали по разработанному нами способу дегазации и экстракции пыли, который реализуется в две стадии (Патент на изобретение 2758570 С1). Первую стадию осуществляли в термостате, где температуру физиологического раствора доводили до +37° С, в пробирку засыпали Компонент 1 и заливали его физиологическим раствором в соотношении 1:2, где на 1 мл Компонента 1 добавляли 2 мл физиологического раствора. Через 20 минут отделяли фракцию Компонента 1 от физиологического раствора. На второй стадии фракцию Компонента 1 заливали раствором лимонной кислоты (рН1) при +37 °С на 10 минут. После десяти минут нахождения Компонента 1 в растворе лимонной кислоты запускали ультразвуковые

генераторы и проводили активную дегазацию и экстракцию пыли в ультразвуковой ванне (УЗУ - 0,25, Россия) с частотой 18 кГц, мощностью 250 Вт и временем экспонирования 60 сек. После обработки ультразвуком лимонную кислоту отделяли от материала. Для удаления остатков кислоты Компонент 1 помещали в физиологический раствор при температуре +37°C и ультразвуковую ванну (УЗУ - 0,25, Россия) с частотой 18 кГц, мощностью 250 Вт и временем экспонирования 60 сек.

По результатам СЭМ нами выявлено на поверхностях гранул наличие пыли, которая образуется на этапах производственного цикла. Известно, что пролиферативная активность на поверхностях гранул при наличии пыли существенно снижается [Brasinika D. et al., 2020]. На этапах производственного цикла в каналах ГМ создаются препятствия из пыли и воздушных пробок. Эта физическая причина приводит к подавлению миграции факторов роста кости и продвижению внутрь фракции ГМ сосудов и волокнистых структур из реципиентного ложа и мягкотканого окружения. На СЭМ после проведения дегазации и удаления производственной пыли на наружных и внутренних поверхностях гранул, в порах и устьях каналов сквозных пор произошло уменьшение содержания крупнодисперсной и мелкодисперсной пыли. Таким образом, на этапе пассивной дегазации - освобождаются наружные поверхности фракции ГМ от крупнодисперсной пыли и воздуха. На этапе активной дегазации - освобождаются внутренние поверхности пор, сквозных пор и пустот гранул ГМ от мелкодисперсной пыли и остаточных газов. Ультразвук, используемый на этапе активной дегазации, создаёт эффект кавитации, который инициирует гидроудары на наружновнутренних поверхностях гранул, неровности этих поверхностей приводят к возникновению интерференции и дифракции волн, в результате чего происходит выход газов и свободнолежащей мелкодисперсной пыли из гранул материала в омывающую жидкость. Наблюдается стабильный процесс удаления гидродинамических заслонок за счёт объединения мелких воздушных пузырей в крупные с последующим их схлопыванием и выделением из пространств ГМ в омывающий раствор [Hu Y. et al., 2022]. Очищенные поры и каналы сквозных пор

повысили адсорбционную ёмкость трех исследуемых фракций ГМ Xenograft Collagen, Cerabone, Bio-OSS увеличилась на 50 %; 28% и 17% соответственно. Адсорбционная ёмкость фракции ГМ — это показатель способности фракции ГМ размещать максимально возможное количество факторов роста кости на свободных поверхностях гранул, во внутренних пространствах пор и в межгранулярных пространствах. Таким образом, предварительная подготовка разработанным нами методом дегазации и экстракции пыли повышает адсорбционную ёмкость фракции ГМ на 32%, что оптимизирует дренажные свойства комбинированного трансплантата.

Проведена оценка цитотоксичности и жизнеспособности МСК к размещению на фракции ГМ после подготовки к исследованию разработанным нами способом дегазации и экстракции пыли. Исследование проводили в биотехнологическом центре «БиоТех» ФГБОУ ВО «СамГМУ» Минздрава России (директор – д.м.н., профессор Л.Т. Волова). Ростовые среды в процессе культивирования клеток и регулярно контролировали на стерильность, контаминацию микоплазмами и вирусами, наличие грибковой флоры. Протокол исследования был одобрен комитетом по биоэтике при Самарском государственном медицинском университете (Разрешение Комитета по биоэтике при ФГБОУ ВО «СамГМУ» Минздрава России из протокола № 235 от 29.09.2021).

Исследование *in vitro* выполнено на 27 образцах (по 9 образцов в каждой группе исследования). В группе 1 интактные образцы - Bio-Oss® 0,25-1 мм (Geistlich, Швейцария), Cerabone® 0,5-1 мм (Botiss biomaterials GmbH, Германия) и Xenograft Collagen® 0,25-1 мм (BioOST, Россия). В группе 2 образцы - Bio-Oss® 0,25-1 мм (Geistlich, Швейцария), Cerabone® 0,5-1 мм (Botiss biomaterials GmbH, Германия) и Xenograft Collagen® 0,25-1 мм (BioOST, Россия) после воздействия, разработанным нами методом дегазации и экстракции пыли (Патент на изобретение 2758570 С1). В группе 3 использовали в качестве контроля культуру МСК, полученных из пупочного канатика человека. Для оценки цитотоксичности разработанного нами метода дегазации и экстракции пыли, использовали МСК, полученные из пупочного канатика человека, донор №7000400025628, культуры 2

го пассажира. Жизнеспособность клеток при заморозке составляла 96%. Перед введением в эксперимент МСК размораживали на водяной бане при температуре 37°C в течение 2,5 минут. В условиях ламинарного шкафа (KS-12 Herasafe (Thermo Scientific, США)) МСК двукратно отмыли от криопротектора стерильным раствором фосфатно-солевого буфера (раствор Дальбекко (DPBS, Биолот, Россия)). Жизнеспособность клеток перед введением в эксперимент составляла 94% в количестве 5,8 млн.

Образцы каждой группы помещали в культуральные чашки Петри 100 см² (SPL, Корея). В группах 1 и 2 на поверхность материала с помощью дозатора переменного объема переносили 500 000 клеток. В группе 3 использовали чашку Петри площадью 100 см² с таким же количеством посаженных клеток. Через 15 минут после введения клеточной суспензии в каждую культуральную чашку добавляли ростовую среду α -MEM жидкая, с L-глутамином, стерильная (ООО «Биолот», Россия), 2mM L-глутамин (ООО «Биолот», Россия). Образцы в среде помещали в CO₂ инкубатор CB 210 (Binder, Германия) и инкубировали при стандартных условиях в течение 8 суток. Ежедневно проводился визуальный осмотр культуры и оценивалась морфология клеток. На 8 сутки чашки трипсинизировались (раствор трипсина-ЭДТА (ПанЭко, Россия)), производилась дезагрегация клеток с пластика. Для оценки жизнеспособности МСК в культуре использовали счётчик клеток Countess II FL Automated Cell Counter (Thermo Fisher Scientific, USA). Определяли пролиферативный индекс и скорость удвоения культуры. Оценку морфологии культивируемых клеток проводили в динамике на всех этапах культивирования с помощью микроскопа AXIO Observer A1 (Carl Zeiss, Германия).

Исследование показателей жизнеспособности МСК человека в культуральной среде *in vitro* показало, что подготовленная к использованию фракция гранулированных костнопластических материалов, разработанным авторами методом дегазации и экстракции пыли (группа 2) не оказывает токсического воздействия на жизнеспособность клеточной культуры МСК человека и составила, в среднем, 94,6%, что сопоставимо с группой 1, где фракция ГМ была

интактная, и жизнеспособность клеток, в среднем, составила 94,4%. Количество снятых клеток в группах 1 и 2 составили, в среднем, 3,44 и 3,52 млн, что не имеет значительных расхождений, и группы 1 и 2 сопоставимы между собой и группой 3. На всем протяжении культивирования МСК имели типичную веретенообразную морфологию, края цитоплазмы ровные; признаков апоптоза отмечено не было. При микроскопическом исследовании в 1 и 2 группах отмечалось краевое прикрепление МСК к поверхностям гранул ГМ. Таким образом, подготовленная к использованию фракция ГМ, разработанным нами методом дегазации и экстракции пыли, не оказывает токсического воздействия на рост и жизнеспособность клеточной культуры МСК человека. Мы не выявили цитотоксического влияния на МСК человека, размещённые на фракции ГМ и культивируемые *in vitro*.

Экспериментальное исследование *in vivo* выполнено на базе Института экспериментальной медицины и биотехнологий ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (директор – д.м.н., профессор Л.Т. Волова) на 54 лабораторных крысах Wistar. Для устранения костных дефектов челюсти животным использовали ксеногенные гранулированные костнопластические материалы: Bio-Oss (Geistlich, Швейцария), Cerabone (Botiss biomaterials GmbH, Германия), Xenograft Collagen (BioOST, Россия). В основной группе дефект кости заполняли ГМ, подготовленными по разработанному нами способу дегазации и экстракции пыли. В группе сравнения дефект кости заполняли ГМ без подготовки. Для морфологического анализа результатов были выбраны метод световой микроскопии.

По результатам морфологического анализа через 14 суток в группе сравнения и основной группе после операции на гистологических препаратах в области дефекта визуализировали гранулы костнопластического материала, окруженные рыхлой неоформленной соединительной тканью регенераторного типа. Соединительная ткань регенераторного типа состоит из молодых, разнонаправленных коллагеновых волокон, и фибробластоподобных клеток. Во вновь образованной соединительной ткани в группе сравнения и основной группе мы не выявили статистически значимых отличий в росте сосудов между

исследуемыми материалами. Однако результаты наблюдения в изучаемых группах высокозначно отличались друг от друга. Так, в основной группе наблюдали более высокое представительство сосудов микроциркуляторного русла (15,11 (2,20)) по сравнению с группой сравнения (6,44 (1,59)). Аналогичная ситуация наблюдалась и при сравнении полученных данных в динамике на 30 сутки послеоперационного периода. Таким образом, по результатам гистоморфометрии во вновь образованной соединительной ткани количество сосудов микроциркуляторного русла в 2,31 раза больше в основной группе в отличие от группы сравнения.

На гистологических препаратах на 30 сутки в группе сравнения визуализировали различные по размеру гранулы, окруженные рыхлой неоформленной соединительной тканью с большим содержанием сосудов микроциркуляторного русла, по сравнению с 14 сутками. Регенераторная ткань имеет умеренную клеточность. Поверхность самих гранул с признаками остеокластической резорбции. На поверхности поврежденных балок наблюдали активные остеобласты. В группе сравнения и основной группе площадь регенерата в период с 14 суток по 30 сутки увеличилась, в среднем, на 3,83% и 5,67% соответственно. На 30 сутки мы не выявили статистически значимых отличий в приросте регенерата в изучаемых группах. Однако в основной группе гранулы костнопластических материалов окружены более плотной неоформленной соединительной тканью. В ней наблюдались разнонаправленные коллагеновые волокна и вновь образованные сосуды микроциркуляторного русла. На поверхности гранул определяли остеокласты, расположенные в узорах. По краю поврежденной кости визуализируются активные остеобласты. В полостях биodeградируемых гранул после подготовки наблюдались фибробластоподобные клетки. К 90 суткам в основной группе резорбция гранулированного костнопластического материала была на 9,2% выше, чем в группе сравнения.

Проведено проспективное когортное исследование пациентов с ДКЧ одонтогенной этиологии. Проведён анализ результатов наблюдения 91 клинического случая и данных экспериментального исследования с целью

обоснования использования в клинической практике комбинированного трансплантата для устранения ДКЧ.

Распределение пациентов основной группы и группы сравнения осуществлялось в соответствии с дизайном исследования и по объёму требуемого объёма гранулированного костнопластического материала Cerabone (Botiss biomaterials GmbH, Германия, номер регистрационного удостоверения ФСЗ 2011/09299). Расчёт требуемого объёма ГМ для устранения дефекта кости и динамику его изменения в послеоперационном периоде осуществляли нашим способом (свидетельство РФ о регистрации программы для ЭВМ № 2021666327). Затем в программном комплексе «DentDir» проводили сравнительную оценку изменения запланированного объёма трансплантата с его фактическим объёмом, просчитанным в послеоперационном периоде в согласованные сроки наблюдения. По итогам динамического наблюдения дана оценка статистической значимости межгрупповых и внутригрупповых отличий.

При использовании 0,5 мл ГМ в различные сроки после операции среди пациентов изучаемых групп наблюдались статистически значимые отличия, начиная с 14 суток послеоперационного периода. В основной группе ни статистически, ни клинически значимой потери объёма костнопластического материала не происходило.

При использовании 1,0 мл ГМ в основной группе, несмотря на наличие незначительного снижения объёма трансплантата и регенерата через 1,5 года наблюдений, клинически значимой потери не наблюдалось. По итоговым значениям уменьшение объёма в группе сравнения составило 14,19 (3,30) %, а в основной группе лишь 1,42 (0,82) % ($p < 0,001$).

При использовании 1,5 мл ГМ в основной группе, снижения объёма трансплантата и регенерата во всех контрольных точках наблюдения (через 14 суток, через 6, 12, 18 месяцев) характеризовалось статистически значимо лучшими результатами в основной группе по сравнению с группой сравнения ($p = 0,024$ во все периоды наблюдения). К окончанию наблюдения снижение объёма трансплантата статистически значимо отличалось и составила в группе сравнения 16,29 (1,40) %, а в основной группе лишь 1,42 (0,82) % ($p < 0,001$).

а в основной 0,85 (0,24) % ($p=0,024$), что свидетельствовало об эффективности применения способа укладки и стабилизации гранулированного костнопластического материала в реципиентном ложе (Патент на изобретение 2766977 С1).

При использовании 2,0 мл гранулированного костнопластического материала в изучаемые сроки после операции в группе сравнения наблюдалось снижение объема трансплантата и к 18 месяцам составило 14,76%, а в основной группе лишь 0,62 (0,30) % со значением $p=0,109$.

При использовании 3,0 и 3,5 мл ГМ у пациентов основной группы наблюдалось незначительное снижение объема трансплантата во всех контрольных точках наблюдения (через 14 суток, через 6, 12, 18 месяцев) и к 18 месяцам составило 0,64% и 0,52% соответственно.

Применение разработанной нами теоретической модели динамики изменения физических свойств ГМ в условиях *in vitro* позволит проводить анализ физических свойств имеющихся и вновь разрабатываемых ГМ посредством проектирования динамики конгломерации и биотрансформации сыпучей фракции ГМ в нативную кость, моделировать *in vitro* поведение ГМ в составе комбинированного трансплантата, прогнозировать динамику изменений всей фракции ГМ. Оценочные показатели, характеризующие изменение физических свойств ГМ, необходимо учитывать при расчёте требуемого объёма ГМ для устранения дефекта кости. Ключевым показателем является коэффициент естественного уплотнения (K_y) фракции ГМ, который позволяет прогнозировать процесс конгломерации сыпучей гранулированной фракции в стабильный конгломерат в пределах 1,17.

Таким образом, лечение пациентов основной группы с ДКЧ с использованием разработанного комбинированного трансплантата с применением нами способов: определения требуемого объёма трансплантата; подготовки трансплантат; укладки и стабилизации трансплантата в реципиентном ложе, позволяет предотвратить неконтролируемое изменение объёма трансплантата в послеоперационном периоде, демонстрирует лучший клинический результат, снижает риск возникновения осложнений и позволяет повысить качество жизни пациента.

ВЫВОДЫ

1. В патогенезе формирования дефектов кости альвеолярного отростка верхней челюсти эпителиально-соединительнотканый комплекс, выстилающий дефект кости, оказывает доминирующее влияние на элементы подлежащей кости и подавляет размещение факторов роста кости, что является причиной нарушения репаративного остеогенеза в области дефекта, устранение которого возможно только с использованием метода направленной костной регенерации.

2. Подготовка к использованию нашим способом фракции гранулированного костнопластического материала не оказывает на него цитотоксического воздействия, позволяет оптимизировать дренажные свойства комбинированного трансплантата на 32% и повысить площадь свободных поверхностей фракции на 61,67%, доступных для размещения факторов роста кости.

3. Проектирование скульптуры комбинированного трансплантата необходимо проводить с учётом динамики изменения физических показателей фракции гранулированного костнопластического материала в послеоперационном периоде, что в 95 % клинических случаев позволяет сохранить в проектных границах объём скульптуры трансплантата и снизить вероятность возникновения осложнений.

4. Использование разработанного нами состава комбинированного трансплантата позволяет оптимизировать процесс конгломерации фракции гранулированного костнопластического материала из сыпучей фракции в стабильный конгломерат, а показатель коэффициента естественного уплотнения (K_y) позволяет прогнозировать процесс конгломерации сыпучей гранулированной фракции в стабильный конгломерат в пределах 1,17.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для оптимизации адсорбционных и дренажных свойств комбинированного трансплантата, сохранения межгранулярных пространств, повышения чистоты поверхностей гранул и сквозных пор, увеличения объёма пространств, доступных для факторов роста кости следует использовать разработанный нами способ подготовки фракции гранулированного костнопластического материала.

2. При планировании лечения пациентов с дефектами кости альвеолярного отростка верхней челюсти рекомендуем пользоваться разработанной авторами программой, позволяющей рассчитывать требуемый объём гранулированного костнопластического материала в соответствии с коэффициентом естественного уплотнения, характеризующего динамику изменения физических свойств гранулированного костнопластического материала в реципиентном ложе.

3. Для устранения дефектов кости альвеолярного отростка верхней челюсти рекомендуем использовать разработанный нами комбинированный трансплантат, который позволяет снизить вероятность возникновения осложнений в виде неконтролируемого уменьшения запланированного объёма скульптуры трансплантата в послеоперационном периоде.

4. Разработанную нами теоретическую модель для изучения изменения физических свойств гранулированных костнопластических материалов *in vitro* целесообразно использовать для моделирования динамики изменения физических свойств гранулированного костнопластического материала в условиях *in vivo*, для расчёта коэффициента естественного уплотнения и адсорбционной ёмкости имеющихся и вновь разрабатываемых гранулированных костнопластических материалов, для обучения студентов, ординаторов, аспирантов и врачей навыкам применения метода направленной костной регенерации при устранении дефектов кости альвеолярного отростка верхней челюсти.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Применение разработанного комбинированного трансплантата при устранении дефектов кости альвеолярного отростка верхней челюсти позволит оптимизировать биотрансформацию и биodeградацию компонентов комбинированного трансплантата, устранить костные дефекты сложной геометрической формы. Разработанная теоретическая модель анализа динамики изменения физических свойств гранулированных костнопластических материалов *in vitro* позволит повысить чистоту производства гранулированных костнопластических материалов, изучить новые их физические свойства, определить прогностические показатели вновь разрабатываемых костнопластических материалов, что расширит библиотеку гранулированных костнопластических материалов, используемую при планировании в разработанной нами программе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андриадзе, Е.О. Современные методы дентальной имплантации и костной пластики / Е.О. Андриадзе, А.М. Сипкин, И.Э. Шапиро // Российский вестник дентальной имплантологии. – 2022. – № 1-2 (55-56). – С. 98-108.
2. Афанасьев, В.В. Травматология челюстно-лицевой области / В.В. Афанасьев. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 256 с.
3. Байдик, О.Д. Тканевая инженерия в стоматологии / О.Д. Байдик, М.А. Титаренко, П.Г. Сысолятин // Стоматология. – 2015. – Т. 94. – № 2. – С. 65–68.
4. Бозо, И.Я. Разработка и применение ген-активированного остеопластического материала для замещения костных дефектов [Текст]: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.14 / Бозо Илья Ядигерович. – М., 2017. – 191с.
5. Бозо, И.Я. Ген-активированные материалы в регенеративной медицине: от идеи до внедрения в клиническую практику / И.Я. Бозо, А.Ю. Дробышев, В.С. Комлев [и др.] // Медицина молодая : сборник тезисов I Междисциплинарного форума, Москва, 07 декабря 2021 года / Международный фонд развития биомедицинских технологий им. В.П. Филатова. – Москва: Международный фонд развития биомедицинских технологий им. В.П. Филатова. – 2022. – С. 22.
6. Бозо, И.Я. Костная пластика челюстей ген-активированным остеопластическим материалом: гистоморфометрическая оценка клинических случаев / И.Я. Бозо, Е.В. Пресняков, Г.А. Воложин [и др.] // Современные технологии в челюстно-лицевой хирургии и стоматологии : Материалы Региональной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора, генерал-майора медицинской службы Н.М. Александрова, Санкт-Петербург, 22 ноября 2023 года. – Санкт-Петербург: Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова. – 2023. – С. 15-20.
7. Брайловская, Т.В. Результаты дентальной имплантации у пациентов с атрофией альвеолярной кости после выполнения аутокостной пластики / Т.В. Брайловская, А.П. Михайлова, Е.В. Усанова [и др.] // Кремлевская медицина. Клинический вестник. – 2021. – № 3. – С. 12-20. – DOI 10.26269/zwqf-mh16.

8. Буцан, С.Б. Применение реваскуляризованного малоберцового аутотрансплантата для устранения выраженной атрофии нижней челюсти / С.Б. Буцан, С.Г. Булат, К.С. Гилева [и др.] // Стоматология. – 2019. – Т. 98, № 5. – С. 32-45. – DOI 10.17116/stomat20199805132.
9. Василюк, В.П. Концептуальный подход устранения костных дефектов челюстей / В.П. Василюк, Г.И. Штраубе, В.А. Четвертных [и др.] // Институт стоматологии. – 2020. – № 1(86). – С. 107-109.
10. Волков, А.В. Морфология репаративного остеогенеза и остеоинтеграции в челюстно-лицевой хирургии [Текст]: дис. ... д-ра. мед. наук / Волков Алексей Вадимович. – М., 2018. – 261 с.
11. Волков, А.В. Морфологические аспекты аутотрансплантации костной ткани / А.В. Волков, М.Б. Потапов, Д.Н. Назарян [и др.] // Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2020. – № 1. – С. 21-29. – DOI 10.17116/plast.hirurgia202001121.
12. Волков, Л.А. Направленная костная регенерация: обзор современных материалов и биологических принципов действия / Л.А. Волков, Д.Э. Мурзенков // VIII международный молодежный научный медицинский форум "белые цветы", посвященный 120-летию студенческого научного общества имени Ирины Андреевны Студенцовой : Сборник статей по итогам конференции, Казань, 14 – 16 апреля 2021 года. – Казань: Казанский государственный медицинский университет. – 2021. – С. 653-654.
13. Волова, Л.Т. Хирургическое лечение множественных рецессий десны с комбинированным применением аутотрансплантата и аллогенной лиофилизированной dura mater: клинический случай / Л.Т. Волова, М.А. Носова, А.Н. Шаров [и др.] // Пародонтология. – 2021. – Т. 26, № 2. – С. 125-136. – DOI 10.33925/1683-3759-2021-26-2-125-136.
14. Волова, Л.Т. Оценка безопасности и эффективности минерального компонента кости в патогенетических моделях остеорезорбции / Л.Т. Волова, Е.В. Писарева, М.Ю. Власов, [и др.] // Гены и Клетки. – 2022. – Т. 17, № 3. – С. 180.

15. Воложин, А.И. Остеопороз / А.И. Воложин, В.С. Оганов, М.А. Серебренникова [и др.]; под ред. А.И. Воложина, В.С. Оганова. – М.: Практическая медицина. – 2005. – С. 238.
16. Гололобов, В.Г. Скелетные ткани и органы / В.Г. Гололобов, Н.В. Дедух, Р.В. Деев // Руководство по гистологии, 2 издание. СПб: СпецЛит, 2011. – Т. 1. – С. 238-322.
17. ГОСТ 22733-02. Почвы. Лабораторный метод определения максимальной плотности. Вместо 22733-77; введение. 2003 – 07 – 0 – Москва: Межгосударственная научно-техническая комиссия по стандартизации, технической стандартизации и сертификации в строительстве; Москва: Госстрой России, ГУП ЦПП, 2003.
18. ГОСТ 5180-84. Почвы. Лабораторные методы определения физических характеристик. Вместо 5180-75, 5181-78, 5182-78, 5183-77. – Москва: Межгос. Совет по стандартизации, метрологии и сертификации; Москва: Издательство Стандартиформ, 2005.
19. ГОСТ 25100-95. Почвы. Классификация. Вместо 25100-82; введение. 1996 – 07 – 01; переиздание 2005-07. – Москва: Межгос. Совет по стандартизации, метрологии и сертификации; Москва: Издательство Стандартиформ, 2005. – 24 с.
20. ГОСТ 12536-79. Почвы. Методы лабораторного гранулометрического (гранулометрического) и микроагрегатного распределения. Вместо 12536-2014; введение. 2016 – 09 – 01. - Москва: Межгос. Совет по стандартизации, метрологии и сертификации; Москва: Издательство Стандартиформ, 2008.
21. ГОСТ 23671-2020. Известняк для стекольной промышленности. Технические характеристики. – Вместо 23671— 79; введение. 2020 – 06 – 18. – Москва: Межгос. Совет по стандартизации, метрологии и сертификации; Москва: Издательский дом Стандартиформ, 2020. – 10 с.
22. Гриценко, В.А. Оперативный контроль плотности и прочности грунтов земляных сооружений зондированием: Лабораторный практикум / В.А. Гриценко, В.Н. Шестаков. – Омск: Изд-во СиБАДИ, 2008. – 48 с.

23. Гуменюк, А.С. Перспективы применения многослойных раневых покрытий на основе хитозана в стоматологической практике/ А.С. Гуменюк, Д.И. Ушмаров, С.Е. Гуменюк [и др.]// Кубанский научный медицинский вестник. 2020. – Т. 27(1). С. 27-39. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2020-27-1-27-39>.
24. Данилов, Р.К. Вклад гистологов ВМедА в развитие учения о тканях (к 140-летию кафедры гистологии и эмбриологии Военно-медицинской академии) / Р.К. Данилов, Б.А. Григорян, В.Г. Гололобов и др. // Морфология. – 2009. – Т. 135, № 2. – С. 99-102.
25. Данилов, Р.К. Гистогенетические основы раневого процесса / Р.К. Данилов, В.Г. Гололобов, Б.А. Григорян и др. // Морфология. – 2009. – Т. 136, № 4. – С. 47-48.
26. Деев, Р.В. Ординарные и активированные остеопластические материалы /Р.В. Деев, А.Ю. Дробышев, И.Я. Бозо // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2015. – №1. – С. 51-69.
27. Демурчян, М.Ю. Применение трехмерной титановой сетки для костной пластики ограниченных дефектов челюстей / М.Ю. Демурчян, С.А. Демьяненко, М.Н. Морозова // Российский стоматологический журнал. – 2019. – Т. 23, № 6. – С. 284-287. – DOI 10.18821/1728-2802-2019-23-6-284-287.
28. Дробышев, А.Ю. Реабилитация пациентов с перфорацией Шнайдеровской мембраны во время проведения открытого синус-лифтинга при помощи эмальматричных протеинов, Основываясь на данных компьютерной томографии / А.Ю. Дробышев, Я.И. Скакунов, Н.А. Редько // Актуальные вопросы современной медицины : материалы VI международной научно-практической конференции прикаспийских государств, Астрахань, 07–08 октября 2021 года. – г. Астрахань, Россия: Астраханский государственный медицинский университет. – 2022. – С. 70-75.
29. Дробышев, А.Ю. Особенности регенерации костной ткани альвеолярного гребня челюстей при применении материала на основе гидроксиапатита / А.Ю. Дробышев, Н.А. Редько, Е.Г. Свиридов [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2021. – Т. 27, № 1. – С. 9-18. – DOI 10.21823/2311-2905-2021-27-1-9-18.

30. Заварзин, А.А. Очерки эволюционной гистологии крови и соединительной ткани / А.А. Заварзин. – М.: Медгиз, 1945. – Вып. 1. – 291 с.
31. Иванов, С.Ю. Исследование влияния нового биокомпозиционного материала на основе гиалуроновой кислоты и недеминерализованного костного коллагена на восстановление костных дефектов / С.Ю. Иванов // Российский вестник дентальной имплантологии. – 2016. – Т. 2. – № 34. – С. 21.
32. Иванов, С.Ю. Выбор донорских сосудов для реваскуляризированного аутотрансплантата при обширных дефектах нижней челюсти / С.Ю. Иванов, К.А. Маляр, С.В. Попова [и др.] // Head and Neck/Голова и шея. Российское издание. Журнал Общероссийской общественной организации Федерация специалистов по лечению заболеваний головы и шеи. – 2020. – Т. 8, № 1. – С. 71-72.
33. Иорданишвили, А.К. Репаративный остеогенез челюстей: основы и методология преподавания в дентальной имплантологии / А.К. Иорданишвили // Российский вестник дентальной имплантологии. – 2022. – № 3-4 (57-58). – С. 53-65.
34. Карпюк, В.Б. Применение стромально-васкулярной фракции жировой ткани в восстановительно реконструктивной хирургии полости рта (экспериментальное и клиническое исследование) [Текст]: дис. ... д-ра. мед. наук / Карпюк Владимир Борисович. – Ставрополь, 2019. – 319 с.
35. Киреев, П.В. Сравнительная эффективность остеопластических препаратов для замещения послеоперационных дефектов челюстей [Текст]: дис. ... канд. мед. наук: 3.1.7. / Киреев Павел Владимирович. - Волгоград, 2023. – 153 с.
36. Курманбеков, Н.О. Возмещение костных дефектов челюстей остеопрепаратами "остеум" / Н.О. Курманбеков, А.М. Ешиев // Тенденции развития науки и образования. – 2020. – № 66 (1). – С. 108-111. – DOI 10.18411/lj-10-2020-28.
37. Ле, Х.Т. Анализ эффективности методик сохранения объема лунок удаленных зубов в предимплантационном периоде / Х.Т. Ле, Н.А. Редько, Л.А. Таекин [и др.] // Российская стоматология. – 2022. – Т. 15, № 1. – С. 57-59. – DOI 10.17116/rosstomat20221501125.

38. Литвинов, Р.И. Контракция (ретракция) сгустков крови и тромбов: патогенетическое и клиническое значение/ Р.И. Литвинов, А.Д. Пешкова // Альманах клинической медицины. – 2018. – Т. 46, № 7. – С. 662– 671. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-7-662-671.
39. Локтионова, М.В. Мониторинг реологических показателей в восстановленных васкуляризованных аутотрансплантатами дефектах челюстей / М.В. Локтионова, В.В. Вентаев, А.В. Жидовинов [и др.] // Стоматология для всех. – 2022. – № 2 (99). – С. 30-33. – DOI 10.35556/idr-2022-2(99)30-33.
40. Мальчикова, Д.В. Предварительная подготовка гранулированного костнопластического материала для оптимизации репаративной регенерации костных дефектов челюстей/ Д.В. Мальчикова // Аспирантский вестник Поволжья. – 2023. – Т. 23. – №4. – С. 59-65. doi: [10.55531/2072-2354.2023.23.4.59-65](https://doi.org/10.55531/2072-2354.2023.23.4.59-65).
41. Матвеева, В.Г. Фибрин – перспективный материал для тканевой сосудистой инженерии/ В.Г. Матвеева, М.Ю. Ханова, Л.В. Антонова [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2020. – Т. 22, № 1. – С. 196-208. <https://doi.org/10.15825/1995-1191-2020-1-196-208>.
42. Меликов, Э.А. Альвеолярный дистракционный остеогенез: возможные осложнения и способы их устранения / Э.А. Меликов, Т.М. Дибиров, И.А. Клипа [и др.] // Стоматология. – 2022. – Т. 101, № 2. – С. 25-30. – DOI 10.17116/stomat202210102125.
43. Мирошниченко, В.В. Применение клеточных технологий в практической стоматологии / В.В. Мирошниченко, А.В. Урамаева // Университетская медицина Урала. – 2018. – Т. 4. – № 1. – С. 70–73.
44. Мураев, А.А. Экспериментальная модель для изучения репаративной костной регенерации при реконструкции нижней челюсти / А.А. Мураев, А.В. Волков, В.В. Полевой [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2023. – Т. 175, № 2. – С. 256-260. – DOI 10.47056/0365-9615-2023-175-2-256-260.
45. Мухаметов, У.Ф. Клиническое применение костных морфогенетических белков BMP-2 и BMP-7: анализ текущих клинических испытаний / У.Ф. Мухаметов,

С.В. Люлин, Д.Ю. Борзунов [и др.] // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2023. – Т. 15, № 1. – С. 5-20. – DOI 10.17816/mechnikov112617.

46. Налчаджян, А.М. Направленная костная регенерация альвеолярной части нижней челюсти с применением индивидуализированной титановой каркасной мембраны: клинический случай / А.М. Налчаджян, А.А. Мураев, С.В. Бопхоев [и др.] // Клиническая стоматология. – 2023. – Т. 26, № 4. – С. 29-33. – DOI 10.37988/1811-153X_2023_4_29.

47. Никольский, В. Ю. Ранняя и отсроченная дентальная имплантация (клинико-экспериментальное исследование) [Текст]: дис. ... д-ра. мед. наук / Никольский Вячеслав Юрьевич. - Самара, 2007. – 346 с.

48. Никольский, В.Ю. Современные методы реконструктивных операций при устранении дефектов и деформаций лицевого скелета с учетом последующей детальной имплантации / В.Ю. Никольский, А.Р. Ястремский, В.А. Разумный // Вятский медицинский вестник. – 2014. – № 3-4. – С. 59-62.

49. Носова, М.А. Постимплантационный гистогенез в месте применения аллогенной dura mater в лабораторном эксперименте на крысах. Лабораторно-гистоморфологическое исследование / М.А. Носова, А.Н. Шаров, И.Ф. Нефедова [и др.] // Пародонтология. – 2023. – Т. 28, № 2. – С. 175-184. – DOI 10.33925/1683-3759-2023-28-2-175-184.

50. Одинцова, И.А. Структурные взаимоотношения клеток в ходе эмбрионального и репаративного гистогенеза / И.А. Одинцова, М.Н. Чепурненко, Р.В. Деев // Морфологические ведомости. – 2004. – № 1-2. – С. 115.

51. Панкратов, А.С. Костная пластика в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. Остеопластические материалы: руководство для врачей / А.С. Панкратов, М.В. Лекишвили, И.С. Копецкий; под.ред. А.С. Панкратова. - М.: Издательство БИНОМ, 2011. - 272 с.

52. Подлужный, П.С. Репаративная регенерация гистогенетически различных костей / П. С. Подлужный, Е. В. Пресняков, Н. И. Жемков [и др.] // Гены и Клетки. – 2021. – Т. 16, № 4. – С. 50-54. – DOI 10.23868/202112008.

53. Полупан, П.В. Биологические аспекты костной пластики в полости рта / П.В. Полупан, А.М. Сипкин, Е.В. Бондаренко // Медицинский алфавит. – 2021. – № 24. – С. 27-33. – DOI 10.33667/2078-5631-2021-24-27-33.
54. Полупан, П.В. Костная пластика в хирургии полости рта: результаты применения и факторы успеха / П.В. Полупан, А.М. Сипкин // Институт стоматологии. – 2022. – № 1(94). – С. 56-59.
55. Попов Н.В. Дентальная имплантация с цифровой реконструкцией альвеолярной кости / Н.В. Попов, А.В. Колсанов, Д.А. Трунин [и др.] // Самара: ООО «Полиграфический дом «ДСМ», 2020. – 176 с. – ISBN 978-5-6044418-2-4.
56. Попов Н.В. Экспериментальное исследование несущей способности лиофилизированного аллогенного костного материала / Н.В. Попов, А.А. Ипполитов, Д.А. Трунин [и др.] // Стоматология. – 2021. – Т. 100, № 2. – С. 7-11. – DOI 10.17116/stomat20211000217.
57. Редько, Н.А. Анализ эффективности методик презервации лунок удаленных зубов в предимплантационном периоде / Н.А. Редько, А.Ю. Дробышев, С.В. Шамрин [и др.] // Российская стоматология. – 2020. – Т. 13. – № 2. – С. 31-32.
58. Руководство по гистологии / под. ред. Р.К. Данилова. – СПб: «Спецлит», 2012. – Т. 1. – 832 с.
59. Слесарев, О.В. Влияние мягких тканей, выстилающих дефект кости челюсти, на репаративный остеогенез при дентоальвеолярных поражениях / О.В. Слесарев, Д.В. Мальчикова, Ю.Р. Юнусова [и др.] // Российский стоматологический журнал. – 2023. – Т. 27, № 2. – С. 113-121. DOI: <https://doi.org/10.17816/dent217214>.
60. Таиров, У.Т. Изучение васкуляризации и репаративной регенерации пластинчатой костной ткани в искусственно смоделированных дефектах верхней челюсти (экспериментальное исследование) / У.Т. Таиров // Проблемы стоматологии. – 2022. – Т. 18. – № 3. – С. 119-126. – DOI 10.18481/2077-7566-2022-18-3-119-126.
61. Трунин, Д.А. Особенности регенерации костной ткани при использовании различных остеопластических материалов в эксперименте / Д.А. Трунин, Л.В. Волова, А.Е. Беззубова [и др.] // Стоматология. – 2008. – Т. 87. – № 5. – С. 4–8.

62. Ушаков, А.И. Дентальная имплантация и выбор костно-пластических материалов в зависимости от типа костной ткани челюстей / А.И. Ушаков, Е.М. Юрьев // Российская стоматология. – 2016. – Т. 9. – № 2. – С. 12-17.
63. Фархшатова, Р.Р. Клинико-рентгенологические особенности тканей пародонта у пациентов с рецессией десны / Р.Р. Фархшатова, Л.П. Герасимова, И.Н. Усманова // Проблемы стоматологии. – 2020. – №1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/kliniko-rentgenologicheskie-osobennosti-tkaney-parodonta-u-patsientov-s-retsessiey-desny>.
64. Федяев, И.М. Дентальная имплантация в условиях атрофии альвеолярных отростков челюстей / И.М. Федяев, В.Ю. Никольский, В.Ф. Попов // Стоматология. – 2008. – Т. 87, № 5. – С. 78-80.
65. Федяев, И.М. Использование дентальных имплантатов с различной поверхностью и разных типов зубных протезов в условиях атрофии альвеолярных отростков челюстей / И.М. Федяев, В.Ю. Никольский, В.Ф. Попов [и др.] // Стоматология. – 2008. – Т. 87, № 5. – С. 46-49.
66. Фриденштейн, А.Я. Индукция костной ткани и остеогенные клетки предшественники / А.Я. Фриденштейн, К.С. Лалыкина. – М.: Медицина, 1973.
67. Центроев, З.С. Применение биорезорбируемых мембран для направленной регенерации костной ткани при дефектах нижней челюсти / З.С. Центроев // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки. – 2019. – № 10. – С. 246-250.
68. Шайхалиев, А.И. Индукция остеогенеза костной ткани нижней челюсти кролика с использованием криогенно-структурированного губчатого альбуминового 3D-носителя, нагруженного биорегулятором / А.И. Шайхалиев, М.С. Краснов, Е.В. Сидорский [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2022. – Т. 24, № 1. – С. 56-63. – DOI 10.15825/1995-1191-2022-1-56-63.
69. Швырков, М.Б. Неудачи костной пластики нижней челюсти свободным костным трансплантатом и способы их устранения / М.Б. Швырков // Российский стоматологический журнал. – 2018. – Т. 22, № 3. – С. 129-132. – DOI 10.18821/1728-2802-2018-22-3-129-132.

70. Abbasi N. Porous scaffolds for bone regeneration / N. Abbasi, S. Hamlet, R. M. Love [et al.] // *J. Sci. Adv. Mater Devices*. – 2020. – Vol. 5 (1). – P. 1–9. 10.1016/j.jsamd.2020.01.007.
71. Abedi, M. Collagen-Based Medical Devices for Regenerative Medicine and Tissue Engineering / M. Abedi, M. Shafiee, F. Afshari [et al.] // *Appl Biochem Biotechnol*. – 2023. – doi:10.1007/s12010-023-04793-3.
72. Acocella, A. Clinical, histological and histomorphometric evaluation of the healing of mandibular ramus bone block grafts for alveolar ridge augmentation before implant placement / A. Acocella, R. Bertolai, M. Colafranceschi [et al.] // *J. Craniomaxillofac Surg*. – 2010. – Vol. 38. – № 3. – P. 222–230.
73. Adeyemo, W.L. Buccal fat pad: a useful adjunct flap in cleft palate repair/ W.L. Adeyemo, A.A. Ibikunle, O. James [et al.]// *J Maxillofac Oral Surg*. – 2019. – Vol. 18(1). – P. 40–45. doi: 10.1007/s12663-018-11009.
74. Aguilar, A. Application of Chitosan in Bone and Dental Engineering / A. Aguilar, N. Zein, E. Harmouch [et al.] // *Molecules*. – 2019. – Vol. 24: 3009. doi: 10.3390/molecules24163009.
75. Al-Hamed, F.S. Regenerative effect of platelet concentrates in oral and craniofacial regeneration / F.S. Al-Hamed, M. Mahri, H. Al-Waeli [et al.] // *Front Cardiovasc Med*. – 2019. – Vol. 3:6.
76. Al-Moraissi, E. Do osteoconductive bone substitutes result in similar bone regeneration for maxillary sinus augmentation when compared to osteogenic and osteoinductive bone grafts? A systematic review and frequentist network meta-analysis / E. A. Al-Moraissi, A. Alkhutari, B. Abotaleb [et al.] // *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2020;49(1):107-120. doi:10.1016/j.ijom.2019.05.004.
77. Amaral Valladão, J. Guided bone regeneration in staged vertical and horizontal bone augmentation using platelet-rich fibrin associated with bone grafts: a retrospective clinical study / J. Amaral Valladão, M. Freitas Monteiro, J.C. Joly // *Int J Implant Dent*. – 2020. - Vol. 6(1):72. doi: 10.1186/s40729-020-00266-y.

78. Anilkumar, R. Ridge Augmentation Is a Prerequisite for Successful Implant Placement: A Literature Review / R. Anilkumar, R.R. Koduganti, T.S. Harika [et al.] // *Cureus*. – 2022. – Vol. 14(1):e20872. doi: 10.7759/cureus.20872.
79. Ansari, M. Bone tissue regeneration: biology, strategies and interface studies / M. Ansari // *Prog Biomater*. – 2019. - Vol. 8(4). - P. 223-237. doi: 10.1007/s40204-019-00125-z.
80. Aprile, P. Membranes for guided bone regeneration: a road from bench to bedside / P. Aprile, D. Letourneur, T. Simon-Yarza // *Advanced healthcare materials*. – 2020. – Vol. 9. – №. 19. – P. 2000707.
81. Ashman, A. Ridge preservation: important buzzwords in dentistry / A. Ashman // *Gen Dent*. – 2000. – Vol. 48. №. 3. – P. 304-312.
82. Barbu, H.M. Guided Bone Regeneration with Concentrated Growth Factor Enriched Bone Graft Matrix (Sticky Bone) vs. Bone-Shell Technique in Horizontal Ridge Augmentation: A Retrospective Study / H.M. Barbu, S.A. Iancu, A. Rapani // *J Clin Med*. – 2021. – Vol. 10(17):3953. doi: 10.3390/jcm10173953.
83. Barreda Hale, M. Computer-assisted planning with 3D printing for mandibular reconstruction caused by a mandibular fracture with secondary osteomyelitis: A Case Report / M. Barreda Hale, P. Romero-Araya, M. Cea Herrera [et al.] // *Clin Case Rep*. – 2021. – Vol. 9(7):e04410. doi: 10.1002/ccr3.4410.
84. Basireddy, A. Demineralized freeze-dried bone allograft with or without platelet-rich fibrin in the treatment of mandibular Degree II furcation defects: A clinical and cone beam computed tomography study / A. Basireddy, S.K. Prathypaty, D.B. Yendluri [et al.] // *J Indian Soc Periodontol*. – 2019. – Vol. 23(3). – P. 242-248. doi: 10.4103/jisp.jisp_465_18.
85. Batas, L. PRGF as Adjunct to DBB in Maxillary Sinus Floor Augmentation: Histological Results of a Pilot Split-Mouth Study / L. Batas, L. Tsalikis, A. Stavropoulos // *Int. J. Implant Dent*. – 2019. – Vol. 5:14. doi: 10.1186/s40729-019-0166-6.
86. Benic, G. Guided bone regeneration with particulate vs. block xenogenic bone substitutes: A pilot cone beam computed tomographic investigation / G. Benic, D. Thoma,

- R. Jung [et al.] // Clin. Oral Implant. Res. – 2017. – Vol. 28. – P. 262–270. doi: 10.1111/clr.13011.
87. Bertol, J.W. TWIST1 interacts with β/δ -catenins during neural tube development and regulates fate transition in cranial neural crest cells / J.W. Bertol, S. Johnston, R. Ahmed [et al.] // Development. – 2022. – Vol. 149(15):dev200068. doi: 10.1242/dev.200068.
88. Bing, W. Recent advances in biofunctional guided bone regeneration materials for repairing defective alveolar and maxillofacial bone: A review / W. Bing, F. Chengmin, L. Yiming [et al.] // Japanese Dental Science Review. – 2022. – Vol. 58. – P. 233-248, ISSN 1882-7616, <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2022.07.002>.
89. Bjelić, D. The Role of Growth Factors in Bioactive Coatings / D. Bjelić, M. Finšgar // Pharmaceutics. – 2021. – Vol. 13(7):1083. doi: 10.3390/pharmaceutics13071083.
90. Blume, O. Efficacy and volume stability of a customized allogeneic bone block for the reconstruction of advanced alveolar ridge deficiencies at the anterior maxillary region: a retrospective radiographic evaluation / O. Blume, M. Back, E. Dinya [et al.] // Clin Oral Investig. – 2023. – Vol. 27(7). – P. 3927-3935. doi: 10.1007/s00784-023-05015-0.
91. Borden, M. Controlling the bone regeneration properties of bioactive glass: Effect of particle shape and size / M. Borden, L.E. Westerlund, V. Lovric [et al.] // J Biomed Mater Res B Appl Biomater. – 2022. - Vol. 110(4). – P. 910-922. doi: 10.1002/jbm.b.34971.
92. Brasinika, D. Mechanical Enhancement of Cytocompatible 3D Scaffolds, Consisting of Hydroxyapatite Nanocrystals and Natural Biomolecules, Through Physical Cross-Linking / D. Brasinika, E.P. Koumoulos, K. Kyriakidou [et al.] // Bioengineering. - 2020. – Vol. 7(3):96. doi:10.3390/bioengineering7030096.
93. Brouwers, J. Implant stability in patients treated with platelet-rich fibrin and bovine bone substitute for alveolar ridge preservation is associated with peripheral blood cells and coagulation factors / J. Brouwers, L.N. van der Vorm, S. Buis [et al.] // Clin Exp Dent Res. – 2020. – Vol. 6(2). – P. 236-243. doi: 10.1002/cre2.263.

94. Buenzli, P.R. Cell proliferation and migration explain pore bridging dynamics in 3D printed scaffolds of different pore size / P.R. Buenzli, M. Lanaro, C.S. Wong [et al.] // *Acta Biomater.* 2020. – Vol.114. – P. 285-295. doi: 10.1016/j.actbio.2020.07.010.
95. Chehata, I. Piezosurgery versus conventional rotary instrument for inferior alveolar nerve lateralization prior to implant placement: (comparative clinical study) / I. Chehata, G.M. Abdelmonim // *Egypt Dent J.* – 2021. – Vol. 67. – P. 2061–2073.
96. Choi, E. Characterization and intracellular mechanism of electrospun poly (ϵ -caprolactone) (PCL) fibers incorporated with bone-dECM powder as a potential membrane for guided bone regeneration / E. Choi, S. Bae, D.Y. Kim [et al.] // *J Ind Eng Chem.* – 2021. – Vol. 94. - P. 282-291.
97. De Santis, D. Digital Customized Titanium Mesh for Bone Regeneration of Vertical, Horizontal and Combined Defects: A Case Series / D. De Santis, F. Gelpi, G. Verlato [et al.] // *Medicina.* – 2021. – Vol. 57(1):60. doi:10.3390/medicina57010060.
98. Degidi, M. Eight-year results of site retention of anorganic bovine bone and anorganic bovine matrix / M. Degidi, V. Perrotti, A. Piattelli [et al.] // *J. Oral Implantol.* – 2013. – Vol. 39. – P. 727–732. doi: 10.1563/AAID-JOI-D-11-00091.
99. Dewan, H. Assessment of the Effect of Phototherapy and PRP on the Immediate Implants: An Original Research/ H. Dewan, S. Jain, Tushar [et al.]// *J Pharm Bioallied Sci.* 2023. - Vol. 15(Suppl 1). – P. 156-160. doi: 10.4103/jpbs.jpbs_443_22.
100. Dong, C. The function of immunomodulation and biomaterials for scaffold in the process of bone defect repair: A review / C. Dong, G. Tan, G. Zhang [et al.] // *Front Bioeng Biotechnol.* – 2023. – Vol. 11:1133995. doi:10.3389/fbioe.2023.1133995.
101. Dragonas, P. Plasma rich in growth factors (PRGF) in intraoral bone grafting procedures: A systematic review / P. Dragonas, J.H. Schiavo, G. Avila-Ortiz [et al.] // *J Craniomaxillofac Surg.* 2019. – Vol. 47(3). – P. 443-453. doi: 10.1016/j.jcms.2019.01.012.
102. Falacho, R. Collagenated Porcine Heterologous Bone Grafts: Histomorphometric Evaluation of Bone Formation Using Different Physical Forms in a Rabbit Cancellous Bone Model / R. Falacho, P. Palma, J. Marques [et al.] // *Molecules.* – 2021. – Vol. 26(5):1339. doi: 10.3390/molecules26051339.

103. Fernandez, G. Bone substitutes: a review of their characteristics, clinical use, and perspectives for large bone defects management / G. Fernandez, L. Keller, Y. Idoux-Gillet [et al.] // *Journal of Tissue Engineering*. – 2018. – Vol. 9:18. doi: 10.1177/2041731418776819.
104. Ferraz, M.P. Bone Grafts in Dental Medicine: An Overview of Autografts, Allografts and Synthetic Materials / M.P. Ferraz // *Materials (Basel)*. – 2023. – Vol. 16(11):4117. doi: 10.3390/ma16114117.
105. Ferroni, L. Methods to isolate adipose tissue-derived stem cells / L. Ferroni, F. De Francesco, P. Pinton [et al.] // *Methods Cell Biol*. – 2022. – Vol. 171. – P. 215-228. 10.1016/bs.mcb.2022.04.011.
106. Friedman, C.D. Остеосинтез и остеогенез мозгового и лицевого черепа / C.D. Friedman // *Пластическая и реконструктивная хирургия лица; под ред. А.Д. Пейпла, пер. с англ.* – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007. – Гл. 55. – С. 737–747.
107. Friedmann, A. Open healing of contained and non-contained extraction sockets covered with a ribose cross-linked collagen membrane: a pilot study / A. Friedmann, V. Meskeleviciene, M.S. Yildiz [et al.] // *J Periodontal Implant Sci*. – 2020. – Vol. 50(6). – P. 406-417. doi:10.5051/jpis.2000400020.
108. Fraile-Martínez, O. Applications of Polymeric Composites in Bone Tissue Engineering and Jawbone Regeneration / O. Fraile-Martínez, C. García-Montero, A. Coca [et al.] // *Polymers*. – 2021. – Vol. 13. – P. 3429. <https://doi.org/10.3390/polym13193429>.
109. Frenz-Wiessner, S. Generation of complex bone marrow organoids from human induced pluripotent stem cells / S. Frenz-Wiessner, S.D. Fairley, M. Buser [et al.] // *Nat Methods*. – 2024. doi: 10.1038/s41592-024-02172-2.
110. Frost, H. M. New targets for fascial, ligament and tendon research: a perspective from the Utah paradigm of skeletal physiology / H. M. Frost // *J. Musculoskelet Neuronal Interact*. – 2003. – Vol. 3, № 3. – P. 201–209.
111. Galindo-Moreno P. Algae-derived hydroxyapatite behavior as bone biomaterial in comparison with anorganic bovine bone: A split-mouth clinical, radiological, and histologic randomized study in humans / P. Galindo-Moreno, M. Padiál-Molina, L.

Lopez-Chaichio [et al.] // Clin. Oral Implant Res. – 2020. – Vol. 31. – P. 536–548. doi: 10.1111/clr.13590.

112. Giannotti, L. Progress in Regenerative Medicine: Exploring Autologous Platelet Concentrates and Their Clinical Applications / L. Giannotti, B. Di Chiara Stanca, F. Spedicato [et al.] // Genes (Basel). – 2023. – Vol. 14(9):1669. doi: 10.3390/genes14091669.

113. Guerrero, J. Influence of Scaffold Microarchitecture on Angiogenesis and Regulation of Cell Differentiation during the Early Phase of Bone Healing: A Transcriptomics and Histological Analysis / J. Guerrero, E. Maevskaia, C. Ghayor [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2023. – Vol. 24. P. 6000. <https://doi.org/10.3390/ijms24066000>.

114. Gupta, S. Vascular reconstruction of the decellularized biomatrix for whole-organ engineering-a critical perspective and future strategies/ S. Gupta, A. Sharma, G. Petrovski [et al.] // Front Bioeng Biotechnol. – 2023. – Vol. 11:1221159. doi:10.3389/fbioe.2023.1221159.

115. Hamdan, H.A. Evaluation of the split-crest technique with simultaneous implant placement in atrophic edentulous maxillary and mandibular bone: a 5-year follow-up study / H.A.Hamdan, G. Aoun, J. Nassar [et al.] // J Adv Med Med Res. – 2021. – Vol. 33. – P. 31–37.

116. Hamed, M. Horizontal alveolar ridge augmentation using xenogenic bone graft: a comparison between the flap and subperiosteal tunneling techniques / M. Hamed, M. El Arini // Egypt Dent J. – 2019. – Vol. 23. – P. 271–279.

117. Hanser, T. Extraction site management in the esthetic zone using autogenous hard and soft tissue grafts: a 5-year consecutive clinical study / T. Hanser, F. Khoury // Int. J. Periodontics Restorative Dent. – 2014. – V. 34, № 3. – P. 305–312.

118. Hathaway-Schrader, JD. Maintaining homeostatic control of periodontal bone tissue / J.D. Hathaway-Schrader, C.M. Novince // Periodontol 2000. – 2021. – Vol. 86(1). – P. 157– 187. doi: 10.1111/prd.12368.

119. Haugen, H. Bone grafts: which is the ideal biomaterial / H. Haugen, S. Lyngstadaas, F. Rossi [et al.] // J Clin Periodontol. – 2019. – Vol. 46:21. – P. 92-102. doi: 10.1111/jcpe.13058.

120. Hegarty-Cremer, S.G. Modelling cell guidance and curvature control in evolving biological tissues / S.G. Hegarty-Cremer, M.J. Simpson, T.L. Andersen [et al.] // *J Theor Biol.* – 2021. – Vol. 520:110658. doi: 10.1016/j.jtbi.2021.110658.
121. Helder, M. Bone Tissue Regeneration in the Oral and Maxillofacial Region: A Review on the Application of Stem Cells and New Strategies to Improve Vascularization/ M. Helder, N. Bravenboer, C. Brugomenkate [et al.] // *Hindawi Stem Cells International.* – 2019. – Vol. 6279721:15. doi: <https://doi.org/10.1155/2019/6279721>.
122. Hu, Y. Effect of Ultrasonic-Assisted Casting on the Hydrogen and Lithium Content of Al-Li Alloy / Y. Hu, R. Jiang, X. Li [et al.] // *Materials.* – 2022. – Vol. 15(3):1081. doi: <https://doi.org/10.3390/ma15031081>.
123. Huang, L. Spatially-directed angiogenesis using ultrasound-controlled release of basic fibroblast growth factor from acoustically-responsive scaffolds / L. Huang, C. Quesada, M. Aliabouzar [et al.] // *Acta Biomater.* 2021. – Vol. 129. – P. 73-83. doi:10.1016/j.actbio.2021.04.048.
124. Jafri, Z. An infrequent clinical case of mucosal fenestration: Treated with an interdisciplinary approach and regenerative therapy / Z. Jafri, N. Sultan, N. Ahmad [et al.] // *J Indian Soc Periodontol.* – 2019. – Vol. 23(2). – P. 168–171. doi: 10.4103/jisp.jisp_325_18.
125. Janjua, O.S. Autogenous Tooth Bone Grafts for Repair and Regeneration of Maxillofacial Defects: A Narrative Review / O.S. Janjua, S.M. Qureshi, M.S. Shaikh [et al.] // *Int J Environ Res Public Health.* – 2022. – Vol.19(6):3690. doi: 10.3390/ijerph19063690.
126. Júnior, L. The effect of hyperbaric oxygen therapy on bone macroscopy, composition and biomechanical properties after ionizing radiation injury / L. Júnior, P. Limirio, P. Soares [et al.] // *Radiat Oncol.* – 2020. – Vol. 15(1):95. doi:10.1186/s13014-020-01542-2.
127. Khoury, F. Mandibular bone block harvesting from the retromolar region: A 10-year prospective clinical study / F. Khoury, T. Hanser // *Int. J. Oral Maxillofac. Implant.* – 2015. – Vol. 30. – P. 688–697. doi: 10.11607/jomi.4117.

128. Kizu, Y. Retrospective study on the effect of adipose stem cell transplantation on jaw bone regeneration / Y. Kizu, R. Ishii, N. Matsumoto [et al.] // *Int J Implant Dent.* - 2024. – Vol. 10(1):3. doi: 10.1186/s40729-024-00523-4.
129. Kumar, Y. Evaluation of bone gain and implant survival after vertical and horizontal ridge augmentation using titanium mesh with simultaneous implant placement in deficient maxillary and mandibular ridge: a prospective clinical study / Y. Kumar, V. Bansal, P. Dubey // *Int J Appl Dent Sci.* – 2021. – Vol. 7. – P. 496–502.
130. Kyyak, S. Activation of human osteoblasts via different bovine bone substitute materials with and without injectable platelet rich fibrin in vitro / S. Kyyak, S. Blatt, E. Schiegnitz [et al.] // *Front. Bioeng. Biotechnol.* – 2021. – Vol. 9:71. doi: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.599224>.
131. Li, J. Biophysical and Biochemical Cues of Biomaterials Guide Mesenchymal Stem Cell Behaviors / J. Li, Y. Liu, Y. Zhang [et al.] // *Front. Cell Dev. Biol.* – 2021. – Vol. 9:640388. doi:10.3389/fcell.2021.640388.
132. Li, S. Hard tissue stability after guided bone regeneration: a comparison between digital titanium mesh and resorbable membrane / S. Li, J. Zhao, Y. Xie [et al.] // *Int J Oral Sci.* – 2021. – Vol. 13(1):37. doi: 10.1038/s41368-021-00143-3.
133. Li, Z. The application of CGF combined with GBR in alveolar bone increment for patients with anxiety disorder: A rare case report and literature review / Z. Li, C. Yang, J. Wang [et al.] // *Medicine (Baltimore).* – 2023. – Vol. 102(45):e35905. doi: 10.1097/MD.00000000000035905.
134. Lindström, M.J. Volumetric measurement of dentoalveolar defects by means of intraoral 3D scanner and gravimetric model / M.J. Lindström, M. Ahmad, R. Jimbo [et al.] // *Odontology.* – 2019. – Vol. 107(3). – P. 353-359. doi: 10.1007/s10266-018-00410-6.
135. Liu, Y. Bone regeneration capacities of alveolar bone mesenchymal stem cells sheet in rabbit calvarial bone defect / Y. Liu, H. Wang, H. Dou [et al.] // *J Tissue Eng.* – 2020. – Vol. 11:2041731420930379. – doi: 10.1177/2041731420930379.

136. Lokwani, B.V. The use of concentrated growth factor in dental implantology: A systematic review / B.V. Lokwani, D. Gupta, R.S. Agrawal [et al.] // *J. Indian Prosthodont. Soc.* – 2020. – Vol. 20. – P. 3–10.
137. Lukina, Y. Calcium Phosphate Cements as Carriers of Functional Substances for the Treatment of Bone Tissue / Y. Lukina, T. Safronova, D. Smolentsev [et al.] // *Materials (Basel)*. – 2023. – Vol. 16(11):4017. doi: 10.3390/ma16114017.
138. Lutzweiler, G. The Overview of Porous, Bioactive Scaffolds as Instructive Biomaterials for Tissue Regeneration and Their Clinical Translation / G. Lutzweiler, A. Ndreu Halili, N. Engin Vrana // *Pharmaceutics*. – 2020. – Vol. 12(7):602. doi: 10.3390/pharmaceutics12070602.
139. Lotfazar, M. Potentials of pure xenograft materials in maxillary ridge augmentation: A case series / M. Lotfazar, R. Amid, A. Moscowchi // *Saudi Dent J.* – 2024. – Vol.36(1). – P.187-191. doi: 10.1016/j.sdentj.2023.10.005.
140. Maia, F.R. Recent approaches towards bone tissue engineering. F.R. Maia, A.R. Bastos, J.M. Oliveira [et al.] // *Bone*. – 2022. – Vol. 154: 116256. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bone.2021.116256>.
141. McKinney, M.C. Visualizing mesoderm and neural crest cell dynamics during chick head morphogenesis / M.C. McKinney, R. McLennan, R. Giniunaite [et al.] // *Dev. Biol.* – 2020. – Vol. 461. – P.184–196. doi: 10.1016/j.ydbio.2020.02.010.
142. Mendoza-Azpur, G. Horizontal ridge augmentation with guided bone regeneration using particulate xenogenic bone substitutes with or without autogenous block grafts: A randomized controlled trial / G. Mendoza-Azpur, A. de la Fuente, E. Chavez [et al.] // *Clin Implant Dent Relat Res.* – 2019. – Vol. 21(4). – P. 521-530. doi: 10.1111/cid.12740.
143. Mishra, A.K. Allogenic bone grafts in post-traumatic juxta-articular defects: Need for allogenic bone banking / A.K. Mishra, R. Vikas, H.S. Agrawal // *Med. J. Armed Forces India.* – 2017. – Vol. 73. – № 3. – P. 282–286.
144. Mu, Z. Effects of injectable platelet rich fibrin on bone remodeling in combination with DBBM in maxillary sinus elevation: a randomized preclinical study / Z. Mu, Q. He, L. Xin [et al.] // *Am J Transl Res.* – 2020. – Vol. 12(11). – P. 7312-7325.

145. Murphy, M.P. The Role of Skeletal Stem Cells in the Reconstruction of Bone Defects / M.P. Murphy, D. Irizarry, M. Lopez [et al.] // *J Craniofac Surg.* – 2017. – Vol. 28(5). – P. 1136–1141. doi: 10.1097/SCS.00000000000003893.
146. Naenni, N. Five-Year Survival of Short Single-Tooth Implants (6 mm): A Randomized Controlled Clinical Trial. / N. Naenni, P. Sahrman, P.R. Schmidlin [et al.] // *J Dent Res.* – 2018. – Vol. 97(8): 887-892. doi: 10.1177/0022034518758036.
147. Nayak, V.V. Bone Tissue Engineering (BTE) of the Craniofacial Skeleton, Part I: Evolution and Optimization of 3D-Printed Scaffolds for Repair of Defects / V.V. Nayak, B. Slavin, E.T.P. Bergamo [et al.] // *J Craniofac Surg.* – 2023. – Vol. 34(7). – P. 2016-2025. doi: 10.1097/SCS.00000000000009593.
148. Neto, A.M.D. In Vivo Comparative Evaluation of Biocompatibility and Biodegradation of Bovine and Porcine Collagen Membranes / A.M.D. Neto, S.C. Sartoretto, I.M. Duarte [et al.] // *Membranes (Basel).* – 2020. – Vol. 10(12):423. doi:10.3390/membranes10120423.
149. Nie, L. Hydroxyethyl Chitosan-Reinforced Polyvinyl Alcohol/ Biphasic Calcium Phosphate Hydrogels for Bone Regeneration / L. Nie, Y. Deng, P. Li [et al.] // *ACS Omega.* – 2020. – Vol. 5. – P. 10948–10957.
150. Oliveira, É. Advances in Growth Factor Delivery for Bone Tissue Engineering / É. Oliveira, L. Nie, D. Podstawczyk [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol. 22:903. doi: 10.3390/ijms22020903.
151. Omar, A.M. Geometry-Based Computational Fluid Dynamic Model for Predicting the Biological Behavior of Bone Tissue Engineering Scaffolds / A.M. Omar, M.H. Hassan, E. Daskalakis [et al.] // *J Funct Biomater.* 2022.- Vol. 13(3):104. doi: 10.3390/jfb13030104.
152. Oppenheimer, A.J. Current and emerging basic science concepts in bone biology: implications in craniofacial surgery / A.J. Oppenheimer, J. Mesa, S.R. Buchman // *J. Craniofac. Surg.* – 2012. – Vol. 23. – № 1. – P. 30–36.
153. Pattanaik, S. Vascular Tissue Engineering Using Scaffold-Free Prevascular Endothelial-Fibroblast Constructs / S. Pattanaik, C. Arbra, H. Bainbridge [et al.] // *Biores Open Access.* 2019. – Vol. 8(1). – P. 1-15. doi:10.1089/biores.2018.0039.

154. Pires, T.H.V. Wall Shear Stress Analysis and Optimization in Tissue Engineering TPMS Scaffolds / T.H.V. Pires, J.W.C. Dunlop, A.P.G Castro [et al.] // *Materials* (Basel). – 2022. – Vol. 20:7375. doi: 10.3390/ma15207375.
155. Polykandriotis, E. Autonomously vascularized cellular constructs in tissue engineering: opening a new perspective for biomedical science / E. Polykandriotis, A. Arkudas, R.E. Horch [et al.] // *J. Cell Mol. Med.* – 2007. – Vol. 11. – № 1. – P. 6–20.
156. Retzepe, M. Guided Bone Regeneration: biological principle and therapeutic applications / M. Retzepe, N. Donos // *Clin. Oral Impl. Res.* – 2010. – Vol. 21. – P. 567–576.
157. Rodríguez-Merchán, E. C. Bone Healing Materials in the Treatment of Recalcitrant Nonunions and Bone Defects / E. C. Rodríguez-Merchán // *Int J Mol Sci.* – 2022. - Vol. 23(6):3352. doi: 10.3390/ijms23063352.
158. Roffi, A. Platelet-rich plasma for the treatment of bone defects: from pre-clinical rational to evidence in the clinical practice. A systematic review / A. Roffi, B. Di Matteo, G.S. Krishnakumar [et al.] // *Int Orthop.* – 2017. – Vol.41(2). – P. 221-237. doi: 10.1007/s00264-016-3342-9.
159. Saleh, R.N. Management of a severely atrophic maxilla using concentrated platelet-rich fibrin block. A case report. / R.N. Saleh, C. Ashhab, M.V. Kharoufeh [et al.] // *J Surg Case Rep.* – 2024. – Vol. 2024(3):153. doi: 10.3390/biomimetics9030153.
160. Salhotra, A. Mechanisms of bone development and repair / A. Salhotra, H.N. Shah, B. Levi [et al.] // *Nat Rev Mol Cell Biol.* – 2020. – Vol. 21(11). – P. 696–711. doi: 10.1038/s41580-020-00279-w.
161. Saralaya, S. Buccal fat pad in cleft palate repair-an institutional experience of 27 cases / S. Saralaya, A.K. Desai, R. Ghosh // *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* – 2020. – Vol. 137:110218. doi: 10.1016/j.ijporl.2020.110218. S0165-5876(20)30361-X.
162. Sartika, D. Human adipose-derived mesenchymal stem cells-incorporated silk fibroin as a potential bio-scaffold in guiding bone regeneration / D. Sartika, C.H. Wang, D.H. Wang // *Polymers.* – 2020. – Vol. 12. – №. 4. – P. 853.
163. Shah, S.A. Biological and esthetic outcome of immediate dental implant with the adjunct pretreatment of immediate implants with plateletrich plasma or

photofunctionalization: A randomized controlled trial / S.A. Shah, B.P. Singh, J. Rao [et al.] // *J Indian Prosthodont Soc.* – 2021. – Vol. 21. – P. 348–355.

164. Sheikh, Z. Natural and synthetic bone replacement graft materials for dental and maxillofacial applications / Z. Sheikh, N. Hamdan, M. Abdallah [et al.] // *Advanced Dental Biomaterials.* – 2019. – P. 347–376. doi: 10.1016/b978-0-08-102476-8.00015-3.

165. Shi, R. Current advances for bone regeneration based on tissue engineering strategies / R. Shi, Y. Huang, C. Ma [et al.] // *Front Med.* – 2019. – Vol. 13. – P. 160–188.

166. Shixaliyev, K.S. Determination of compatibility of polymer systems, skep, pu, khkpe and chemical features of their mixtures/ K.S. Shixaliyev, N.V. Abbasova, P.N. Qulizad [et al.] // *Theoretical & Applied Science.* – 2020. – Vol. 83(03): 307-318. doi: 10.15863/TAS.2020.03.83.57.

167. Solakoglu Ö. The use of plasma rich in growth factors (PRGF) in guided tissue regeneration and guided bone regeneration. A review of histological, immunohistochemical, histomorphometrical, radiological and clinical results in humans / Ö. Solakoglu, G. Heydecke, N. Amiri [et al.] // *Ann Anat.* – 2020. – Vol. 231:151528. doi: 10.1016/j.aanat.2020.151528.

168. Sun, Y. Resolving the missing link between single platelet force and clot contractile force / Y. Sun, O. Oshinowo, D.R. Myers, [et al.] // *iScience.* 2021. – Vol. 25(1):103690. doi: 10.1016/j.isci.2021.103690.

169. Tan, W.L. A systematic review of post-extractonal alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans / W.L. Tan, T.L. Wong, M.C. Wong [et al.] // *Clin Oral Implants Res.* – 2012. – Vol. 23 Suppl. 5. – P. 1-21. doi: 10.1111/j.1600-0501.2011.02375.x.

170. Tang, Z. Flow performance of porous implants with different geometry: Line, surface, and volume structures / Z. Tang, Y. Zhou, L. Ma [et al.] // *Int J Bioprint.* – 2023. – Vol. 9(3):700. doi: 10.18063/ijb.700.

171. Thompson, E. M. Recapitulating endochondral ossification: a promising route to in vivo bone regeneration / E. M. Thompson, A. Matsiko, E. Farrell O'Brien [et al.] // *J. Tissue Eng. Regen Med.* – 2015. – Vol. 9, № 8. – P. 889–902.

172. Titsinides, S. Bone grafting materials in dentoalveolar reconstruction: A comprehensive review / S. Titsinides, G. Agrogiannis, T. Karatzas // *Jpn. Dent. Sci. Rev.* – 2019. – Vol. 55. – P. 26–32. doi: 10.1016/j.jdsr.2018.09.003.
173. Tozawa, K. Megakaryocytes and platelets from a novel human adipose tissue-derived mesenchymal stem cell line / K. Tozawa, Y. Ono-Uruga, M. Yazawa [et al.] // *Blood.* – 2019. – Vol. 133. – P. 633–643. doi: 10.1182/blood-2018-04-842641.
174. Upadhayaya, V. Bioactive platelet aggregates: Prp, Prgf, Prf, Cgf and sticky bone/ V. Upadhayaya, A. Arora, A. Goyal // *IOSR J. Dent. Med. Sci.* – 2020. – Vol.16. – P. 5–11. doi: 10.9790/0853-1605060511.
175. Valamvanos, T.F. Recent Advances in Scaffolds for Guided Bone Regeneration / T.F. Valamvanos, X. Dereka, H. Katifelis [et al.] // *Biomimetics (Basel).* – 2024. – Vol. 9(3):153. doi: 10.3390/biomimetics9030153.
176. Van der Weijden, F. Alveolar bone dimensional changes of post-extraction sockets in humans: A systematic review / F. Van der Weijden, F. Dell'Acqua, D.E. Slot // *J. Clin. Periodontol.* – 2009. – Vol. 36. P. 1048–1058. doi: 10.1111/j.1600-051X.2009.01482.x.
177. Wang, W. Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review / W. Wang, K.W.K. Yeung // *Bioact Mater.* – 2017. – Vol. 2(4). P. 224-247. doi: 10.1016/j.bioactmat.2017.05.007.
178. Wickramasinghe, M.L. A novel classification of bone graft materials / M.L. Wickramasinghe, G.J. Dias, K.M.G.P. Premadasa // *J Biomed Mater Res.* – 2022. – Vol. 110(7). – P. 1724-1749. doi:10.1002/jbm.b.35029.
179. Wu, V. Long-Term Safety of Bone Regeneration Using Autologous Stromal Vascular Fraction and Calcium Phosphate Ceramics: A 10-Year Prospective Cohort Study / V. Wu, J. Klein-Nulend, N. Bravenboer [et al.] // *Stem Cells Transl Med.* – 2023. – Vol. 12(9). – P. 617-630. doi: 10.1093/stcltm/szad045.
180. Yao, L. Applications and safety of gold nanoparticles as therapeutic devices in clinical trials / Yao L, Bojic D, Liu M. // *J Pharm Anal.* – 2023. – Vol.13(9). P. 960-967. doi:10.1016/j.jpha.2023.06.001.
181. Yu, L. Biom mineralization of collagen-based materials for hard tissue repair / L. Yu, M. Wei // *International journal of molecular sciences.* – 2021. – Vol. 22. – №. 2. – P. 944.

182. Zakaria, O. Introduction of a novel guided bone regeneration memory shape based device / O. Zakaria, M. Madi, S. Kasugai // *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. – 2020. – Vol. 108. – №. 2. – P. 460-467.
183. Zayed, H.M. Gingival-derived mesenchymal stem cell therapy regenerated the radiated salivary glands: functional and histological evidence in murine model / H.M. Zayed, N.H. Kheir El Din, A.M. Abu-Seida [et al.] // *Stem Cell Res Ther*. – 2024. – Vol. 15(1):46. doi: 10.1186/s13287-024-03659-7.
184. Zhang, Y. Thermosensitive hydrogel loaded with concentrated growth factors promote bone repair in segmental bone defects / Y. Zhang, T. Wang, D. Zhang [et al.] // *Front Bioeng Biotechnol*. – 2022. – Vol. 10:1039117. doi: 10.3389/fbioe.2022.1039117.
185. Zhao, R. Bone Grafts and Substitutes in Dentistry: A Review of Current Trends and Developments / R. Zhao, R. Yang, P.R. Cooper [et al.] // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26(10):3007. doi.org/10.3390/molecules26103007.
186. Zhou, W.N. Comparative Outcomes of Block and Cancellous Iliac Bone Grafting in Older Unilateral Alveolar Cleft Patients / W.N. Zhou, Y.C. Pan, Y.C. Tang [et al.] // *Cleft Palate Craniofac J*. – 2019. – Vol. 56(7). – P. 936-943.
187. Zhu, C. Co-culture of the bone and bone marrow: a novel way to obtain mesenchymal stem cells with enhanced osteogenic ability for fracture healing in SD rats / C. Zhu, M. Sha, H. Jiang [et al.] // *J Orthop Surg Res*. 2019. – Vol. 14(1):293. doi: 10.1186/s13018-019-1346-z.