ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

DOI: 10.23868/201812043

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЙ НА ОСНОВЕ ОКТАКАЛЬЦИЕВОГО ФОСФАТА И СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ДЕСНЫ НА ОСТЕОИНТЕГРАЦИЮ ДЕНТАЛЬНЫХ ИМПЛАНТАТОВ

И.Я. Бозо[1–3], Р.В. Деев[1, 3–5], А.В. Волков[6], И.И. Еремин[3], И.Н. Корсаков[3], М.И. Ясиновский[3], К.Д. Устинов[3], В.О. Трофимов[1, 2], И.А. Рузин[7], Е.В. Пресняков[4], В.С. Комлев[8], А.А. Пулин[3]

[1] ООО «Гистографт», Москва, Россия
[2] Федеральный медицинский и биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия
[3] Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия
[4] Рязанский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, Рязань, Россия
[5] ПАО «Институт Стволовых Клеток Человека», Москва, Россия
[6] Городская клиническая больница № 70 имени Е.О. Мухина, Москва, Россия
[7] Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия
[8] Институт металлургии и материаловедения Российской академии наук им. А.А. Байкова, Москва, Россия

EVALUATION OF THE EFFECT OF TISSUE-ENGINEERED CONSTRUCTS BASED ON OCTACALCIUM PHOSPHATE AND GINGIVAL STROMAL CELLS ON DENTAL IMPLANTS OSTEOINTEGRATION

I.Y. Bozo[1–3], R.V. Deev[1, 3–5], A.V. Volkov[6], I.I. Eremin[3], I.N. Korsakov[3], M.I. Yasinovsky[3], K.D. Ustinov[3], V.O. Trofimov[1, 2], I.A. Ruzin[7], E.V. Presnyakov[4], V.S. Komlev[8], A.A. Pulin[3]

[1] Histograft, LLC, Moscow, Russia
[2] A.I. Burnazyan Federal Medical and Biophysical Center, FMBA Russia, Moscow, Russia
[3] Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia
[4] I.P. Pavlov Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia
[5] PJSC «Institute of Human Stem Cells», Moscow, Russia
[6] E.O. Mukhin City Clinical Hospital № 70, Moscow, Russia
[7] A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia
[8] A.A. Baykov Institute of Metallurgy and Materials Science of the RAS, Moscow, Russia

e-mail: bozo.ilya@gmail.com

Современное лечение пациентов с частичной и полной утратой зубов базируется на использовании дентальных имплантатов. В результате непрерывного совершенствования средств и методов лечения были разработаны протоколы установки дентальных имплантатов непосредственно после удаления зубов, которые в большинстве случаев требуют одномоментной костной пластики.

Целью настоящего исследования стала оценка особенностей остеоинтеграции дентальных имплантатов в условиях одномоментной костной пластики тканеинженерной конструкцией на основе керамики (октакальциевый фосфат (ОКФ)) и аутогенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток десны (ММСК) в эксперименте на кроликах.

Каждому животному в бугристости большеберцовых костей формировали сложный дефект, состоящий из двух смежных цилиндрических дефектов диаметрами 2,8 и 4,0 мм, глубиной 8 мм, окружности которых пересекались на уровне 5–7 часов условного циферблата верхнего дефекта. В верхний дефект устанавливали дентальные имплантаты 3,0×8 мм, нижний дефект заполняли «ОКФ+ММСК» в контакт с оголенной поверхностью дентального имплантата. В качестве контролей служили ОКФ без клеток, аутогенная костная ткань, кровяной сверток. Результаты оценивали через 1, 2 и 3 мес. с использованием компьютерной томографии (КТ) и гистологического исследования.

Выраженная остеоинтеграция наблюдалась в группах с керамикой на основе ОКФ, при этом в случае ОКФ+ММСК формировался достаточно больший объем костного регенерата. Аутогенная костная ткань показала результаты, сходные с дефектом, заполненным кровяным свертком. Таким образом, получены доклинические данные, подтверждающие возможность применения тканеинженерной конструкции «ОКФ+ММСК» для одномоментной с установкой дентальных имплантатов костной пластики.

Ключевые слова: дентальная имплантация, одномоментная костная пластика, тканеинженерная конструкция, ММСК, октакальциевый фосфат.

Current treatment of patients with partial and complete teeth loss is based on the use of dental implants. As a result of continuous improvement of the medical devices and methods of implantological treatment and according to modern protocols dental implants could be placed immediately after teeth removal, which in most cases required single-stage bone grafting.

The aim of this study was to evaluate the features of dental implants osseointegration under simultaneous bone grafting with tissue-engineered construction based on octacalcium phosphate (OCP) and autogenous gingival multipotent mesenchymal stromal cells (MMSC) in rabbits.

In the tibial tuberosity of each limb, we performed a complex defect consisting of two adjacent cylindrical defects with diameters of 2.8 and 4 mm, correspondingly, and a depth of 8 mm, the circumferences of which intersected at the level of 5–7 hours of the conditional dial of the upper defect. Dental implants of 3×8 mm were placed in the upper defect, the lower defect was filled with "OCP+MMSC" in direct contact with the exposed surface of the dental implant. We used OCP without cells, autogenous bone tissue, blood clot as controls. Results were assessed 1, 2, 3 months after surgery using CT and histological analysis.

Osteointegration was observed in both groups with OCP, while in the case of "OCP+ MMSC" a larger volume of newly formed bone tissue was formed. Autogenous bone fragments showed results similar to a defect filled with a blood clot. Thus, the preclinical evidence makes possible to use tissue-engineering constructs "OCP+MMSC" for single-stage with dental implants placement bone grafting.

Keywords: dental implantation, single-stage bone grafting, tissue-engineering construction, MMSC, octacalcium phosphate.

Утрату одного и более зубов в связи с осложненным кариесом, хроническим периодонтитом, пародонтитом, кистами челюстей, травмами, опухолями и псевдоопухолевыми заболеваниями переживает каждый человек в течение жизни [1]. Среди разработанных методов лечения адентии дентальная имплантация с последующим протезированием является наиболее эффективным и динамично развивающимся подходом, способным обеспечить долгосрочное восстановление функции и эстетики зубных рядов. Ежегодно, в мире устанавливается не менее 20 млн дентальных имплантатов [2]. Однако альвеолярный отросток верхней челюсти и альвеолярная часть нижней челюсти в области отсутствующих зубов в виду минимизации функциональной нагрузки постепенно претерпевают процессы ремоделирования, приводящие к атрофии, — уменьшению высоты и (или) ширины альвеолярного гребня челюстей. Для установки дентальных имплантатов оптимальной длины и диаметра, обеспечивающих долгосрочность их функционирования, в зонах сформировавшейся атрофии требуется костная пластика. Ее масштабы могут варьироваться от направленной костной регенерации в пределах одного отсутствующего зуба до тотальной пластики альвеолярного отростка верхней челюсти или альвеолярной части нижней челюсти с использованием костных аутотрансплантов (чаще из интраоральных источников, свода черепа). Через 4–6 мес. после костной пластики в случае достижения необходимого прироста костной ткани устанавливаются дентальные имплантаты, еще через 3–6 мес. выполняется протезирование на имплантатах (стандартный протокол) [3].

Чтобы предотвратить развитие атрофии, минимизировать сроки имплантологического лечения, а также обеспечить скорейшее восстановление жевательной функции и эстетики зубного ряда разработаны и широко применяются протоколы установки дентальных имплантатов непосредственно после удаления зубов, в том числе с немедленной реставрацией, немедленной или ранней функциональной нагрузкой [4, 5]. Зачастую, при таких вариантах часть поверхности дентального имплантата обращена в костный дефект и не контактирует с костной тканью, что требуется одномоментной костной пластики для обеспечения остеоинтеграции.

С момента опубликования исследований A. Schroeder с соавт. (1976) и P.I. Braunemark (1983) под остеоинтеграцией понимают прогнозируемое образование стабильной и биологически приемлемой связи между костной тканью реципиентного ложа и поверхностью имплантата [6, 7]. Большинство авторов считают, что для достижения надежной остеоинтеграции при выполнении костной пластики одномоментно с установкой дентального имплантата в непосредственный контакт с его оголенной поверхностью необходимо укладывать аутокостные фрагменты в виде крошки, а оставшуюся часть дефекта заполнять коммерчески доступным остеопластическим материалом [8, 9]. Причиной такого мнения являются сомнения в способности разрешенных для клинического применения медицинских изделий для костной пластики обеспечить формирование костного регенерата на всем протяжении контакта материала с поверхностью дентального имплантата.

В этой связи, целью нашего исследования стала оценка особенностей остеоинтеграции дентальных имплантатов при одномоментной костной пластике тканеинженерным остеопластическим материалом на основе октакальциевого фосфата (ОКФ) и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) десны в эксперименте.

Материал и методы

Дизайн исследования

Исследование выполнено на кроликах-самцах массой 2,5–3,0 кг (n=12) с соблюдением международных правил гуманного обращения с лабораторными животными в виварии ФГБНУ «НИИОПП». На предварительном этапе у каждого кролика забирали биоптаты слизистой оболочки альвеолярного отростка верхней челюсти с обеих сторон во фронтальном отделе размерами 2×2 мм для получения культур аутогенных ММСК и изготовления тканеинженерных конструкций. Затем каждому животному в области бугристостей обеих большеберцовых костей выполняли сложный дефект в виде «замочной скважины» на глубину 8 мм перпендикулярно продольной оси кости, в верхнюю, меньшую часть которого устанавливали по 1 дентальному имплантату (Straumann, Швейцария), а нижнюю, в которую была обращена часть обнаженной поверхности дентального имплантата, заполняли исследуемыми остеопластическими материалами или оставляли под кровяным свертком (рис. 1). Распределение групп по имплантированным материалам было следующим: 1 — кровяной сверток (контроль 1); 2 — аутогенная костная ткань в виде крошки, полученной костным скребком с поверхности большеберцовой кости (контроль 2); 3 — ОКФ (контроль 3), 4 — тканеинженерная конструкция на основе ОКФ и аутогенных ММСК слизистой оболочки альвеолярного отростка верхней челюсти кролика («ОКФ+ММСК», экспериментальная группа).

Животных выводили из эксперимента на сроках 30, 60 и 90 сут. после операции. Результаты оценивали с помощью дентальной компьютерной томографии (КТ) и гистологического исследования.

Создание тканеинженерной конструкции

Биопсия. После антисептической обработки полости рта под местным обезболиванием Sol. Ultracaini 0,3 мл и внутримышечной седацией Sol. Zoletili 100 вырезали фрагмент слизистой оболочки альвеолярного отростка верхней челюсти кролика во фронтальном отделе размерами 2×2 мм и помещали в стерильную траспортировочную среду, состоящую из смеси DMEM/F12 (1:1) (БиоЛот, Россия) и гентамицина (60 мкг/мл) (БиоЛот, Россия).

Получение культуры ММСК. После транспортировки в лабораторию биоптат отмывали в трех сменах стерильного раствора Хэнкса (БиоЛот, Россия) с добавлением гентамицина (60 мкг/мл). Ферментативную обработку биоптата десны проводили в растворе коллагеназы II типа (Sigma Aldrich, США), концентрация 200 ед./мл в растворе Хэнкса. Биоптат ферментировали в 5 мл раствора коллагеназы в инкубаторе (37°C, 5% CO_2) в течение 2 ч., регулярно встряхивая, до получения суспензии отдельных клеток. Добавляли к раствору 5 мл полной ростовой среды (DMEM/F12 (1:1) с добавлением 60 мкг/мл гентамицина и 10% сыворотки (BioInd, Израиль), центрифугировали 7 мин. при 400 g. Полученный осадок ресуспендировали в 2 мл полной ростовой среды, помещали на чашку Петри 35 мм (SPL, Южная Корея) и культивировали в стандартных условиях. Смену среды и визуальный контроль состояния культур при помощи инвертированного микроскопа с фазовым контрастом CKX41 (Olympus, Япония) проводили раз в 2–3 сут. При достижении 70–80% конфлуентности культуры пассировали. Для этого чашки промывали в трех сменах раствора Версена (БиоЛот, Санкт-Петербург) и обрабатывали 0,25% раствором трипсина (2 мин., 37°C), переносили полученную суспензию на новые чашки Петри с двукратным увеличением посевной площади и заливали полной ростовой средой. На следующие сутки после пассирования в чашках

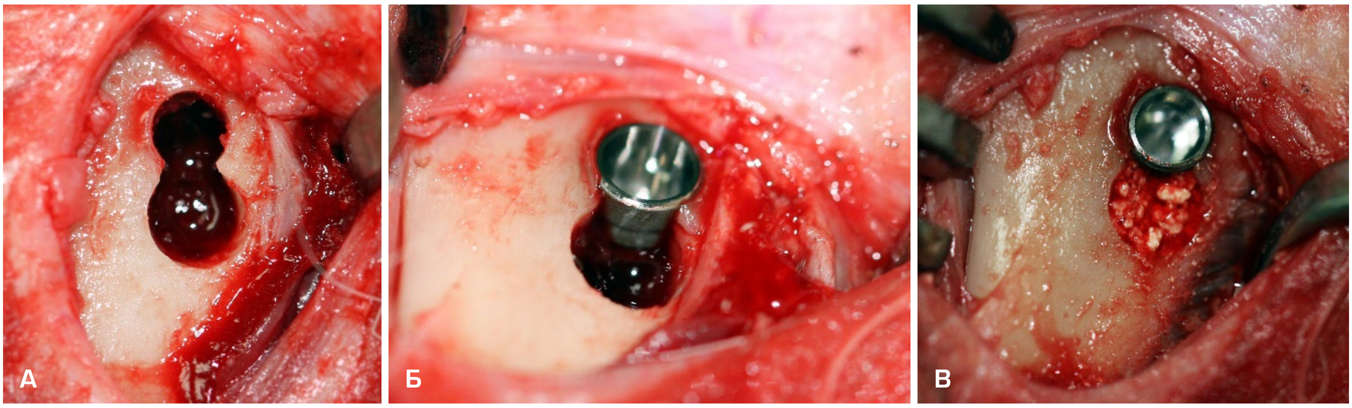

Рис. 1. Этапы операции: А — нанесен костный дефект в виде «замочной скважины», Б — в верхнюю часть дефекта установлен дентальный имплантат; В — нижняя часть дефекта заполнена остеопластическим материалом

меняли полную ростовую среду. Для заселения гранул ОКФ использовали культуры 3 пассажа.

ОКФ. Гранулы ОКФ синтезировали по ранее описанной методике [10, 11]. В исследовании в качестве матрикса-носителя для ММСК использовали гранулы диаметром около 500 мкм.

Совмещение матрикса-носителя и клеток. За 18 ч. до операции культуры ММСК снимали с пластика при помощи 0,25% раствора трипсина, центрифугировали 7 мин. при 100 g, а затем ресуспендировали в полной ростовой среде в концентрации 1×10^7 кл./мл и наносили по каплям 1 мл суспензии в течение 30 мин. на стандартные навески гранул ОКФ. После этого в чашку Петри добавляли культуральную среду и инкубировали до следующего дня. В день операции тканеинженерные конструкции извлекали стерильными инструментами и переносили в транспортировочные пробирки с питательной средой для доставки в операционную.

Оценка влияния ОКФ на ММСК in vitro. Для оценки остеоиндуктивного воздействия ОКФ на ММСК наносили 20 мкл полной ростовой среды, содержащей 1×10^5 клеток на навески гранул ОКФ массой 10 мкг, размещенные на стеклах в 6-луночных планшетах (SPL, Южная Корея). Через 20 мин. после нанесения суспензии клеток в лунки добавляли по 2 мл полной ростовой среды, планшет помещали в инкубатор. Эксперимент проводили в трех повторениях. Фиксацию клеток осуществляли на 1, 3 и 5 сут. культивирования. Перед фиксацией клетки трижды отмывали от остатков культуральной среды раствором фосфатно-солевого буфера (5 мин., значение pH=7,4). Материал фиксировали в 4% растворе параформальдегида (+4°C) в течение первых суток, затем фиксатор удаляли трехкратной сменой раствора фосфатно-солевого буфера (5 мин., значение pH=7,4). Клетки инкубировали с антителами мыши к белку кролика остеопонтину, конъюгированными с флуоресцентным белком FITC (Novus Biologicals, 89062F), в течение 1 ч. в темноте при комнатной температуре. Ядра клеток докрашивали красителем бис-бензимид (Hoechst 33258, Serva, Германия), который связывается только с двухцепочечной ДНК. Полученные препараты заключали в монтирующую среду витрогель (12-001, Биовитрум, Россия) и анализировали в ультрафиолетовом световом диапазоне с помощью лазерного сканирующего конфокального микроскопа Olympus Fluoview FV10 (Olympus, Япония).

Дентальная имплантация с одномоментной костной пластикой

После подготовки операционного поля под местным обезболиванием Sol. Lidocaini 2 мл и внутримышечной седацией Sol. Zoletili 100 каждому животному выполняли линейный вертикальный разрез мягких тканей до надкостницы диной 2 см над бугристостью большеберцовой кости. Поднадкостнично обнажали переднюю поверхность верхней трети большеберцовой кости. С использованием стандартного хирургического набора для установки дентальных имплантатов Straumann (Швейцария) в бугристости большеберцовой кости сверлами увеличивающегося диаметра наносили цилиндрический костный дефект 2,8×8 мм — ложе для дентального имплантата Straumann SLA Bone Level NC 3,3×8 мм (Straumann, Швейцария). В 2,4 мм ниже центра ложа имплантата и на одной вертикали с его центром наносили второй цилиндрический дефект 4×8 мм. В результате два дефекта пересекались на уровне 5–7 ч. условного циферблата, а сверху имели вид «замочной скважины» (рис. 1А). В верхний дефект устанавливали дентальный имплантат вровень с поверхностью кости, нижняя поверхность имплантата, обращенная в дефект большего диаметра, оставалась обнажена на всем протяжении от ортопедической платформы о верхушки. После установки дентального имплантата нижний дефект приобретал полулунную форму с расстоянием по средней линии от обнаженной поверхности дентального имплантата до нижней стенки дефекта — 3 мм (рис. 1Б). Костный дефект заполняли одним из исследуемых материалов (ОКФ, «ОКФ+ММСК») (рис. 1В), или аутогенной костной крошкой, предварительно полученной костным скребком с обнаженной поверхности большеберцовой кости, или оставляли под кровяным свертком. Введенные материалы находились в непосредственном контакте с обнаженной поверхностью дентального имплантата от ортопедической платформы до верхушки.

Животных выводили из эксперимента на сроках 1, 2 и 3 мес. после операции передозировкой Sol. Zoletili 100, резецировали верхние трети большеберцовых костей с зонами ранее выполненных оперативных вмешательств, фиксировали в емкостях с 10% раствором нейтрального формалина.

Компьютерная томография

Дентальную компьютерную томографию полученных материалов выполняли в течение 7 сут. после фиксации на компьютерном томографе OP-300 Maxio (KaVo Dental, Германия). Исследования каждого образца выполняли без извлечения из банки с фиксирующим раствором, при одинаковых режимах и параметрах сканирования: размер вокселя 0,08 мм, 80 мВ 2 мА.

Анализ компьютерных томограмм осуществляли стандартными инструментами в программном обеспечении OnDemand 3D Dental (KaVo Dental, Германия). Для количественного анализа плоскость среза размещали параллельно оси большеберцовой кости в сагиттальной плоскости таким образом, чтобы она проходила через ось дентального имплантата. Правильность положения проекции определялась выведением на экран всего диаметра дентального имплантата. С использованием стандартных инструментов определяли площадь (мм^2), заполненную остеопластическими материалами и костным регенератом, среднюю плотность регенерата на уровне костномозгового канала и кортикальной пластинки (в единицах Хаунсфилда, HU). Кроме того, оценивали длину дефекта кортикальной пластинки в случае его наличия на сроке наблюдения.

Гистологический анализ

Осуществляли стандартное обезвоживание и обезжиривание зафиксированных образцов. Полученные тканевые блоки заливали в метилметакрилат (Osteo-Bead, Sigma-Aldrich); в дальнейшем изготавливали первичные недекальцинированные спилы толщиной 100 мкм (Isomet 100), из которых формировали шлифы толщиной 40–50 мкм, после их просветления изготавливали гистологические препараты с окраской «небесный трихром» по А.В. Волкову для выявления различных тканей и функциональных клеток.

На полученных препаратах изучали ткани, контактирующие с поверхностью дентального имплантата на всем протяжении от ортопедической платформы до верхушки, оценивали признаки воспаления, гигантоклеточную реакцию, кровоизлияния, выраженность остеогенеза.

Статистический анализ

На первом этапе статистического анализа оценивали распределение количественных признаков закону нормального распределения для выбора методов представления данных и сравнения групп. Затем определяли средние значения, стандартные отклонения, медианы, нижний и верхний квартили количественных показателей в каждой группе. Учитывая распределение признаков, отличное от нормального, для межгрупповых сравнений использовали непараметрические критерии: Колмогорова-Смирнова для одномоментного сравнения сразу всех групп по одному из показателей и U-критерий Манна-Уитни для попарных межгрупповых сравнений.

Результаты и обсуждение

Разработка и внедрение в клиническую практику активированных остеопластических материалов с выраженной остеоиндукцией [12–14], а также изделий с оптимальными остеокондуктивными свойствами способствует более широкому применению протоколов ускоренного имплантологического лечения в стоматологии. В данном исследовании в качестве остеокондуктивного варианта остеопластического материала был использован ОКФ, а группу активированных представляла тканеинженерная конструкция, состоящая из ОКФ и ММСК. В качестве источника получения ММСК была выбрана слизистая оболочка альвеолярного отростка верхней челюсти в виду малой инвазивности и отсутствия существенных различий в остеогенном потенциале с ММСК костного мозга [15]. Экспериментальная модель для оценки особенностей остеоинтеграции дентальных имплантатов, установленных одномоментно с костной пластикой, была разработана нами специально для данного исследования на основе использованных другими авторами моделей [17] и с учетом принятых стандартов для доклинических исследований дентальных имплантатов [18].

Влияние ОКФ на ММСК in vitro

При культивировании ММСК на гранулах ОКФ отмечались изменения морфологии клеток и паттернов распределения синтезируемого ими остеопонтина в цитоплазме. Так, на 1 сут. со-культивирования определялись скопления фибробластоподобных клеток вытянутой формы, в околоядерной области цитоплазмы и вдоль клеточной мембраны которых идентифицировался остеопонтин. На третьи и пятые сутки визуализировались крупные клеточные скопления вытянутой фибробластоподобной формы, «рисунок миграции» клеток был характерным для ММСК, остеопонтин определялся преимущественно вдоль клеточной мембраны. Полученные данные коррелируют с результатами других исследований, показавших способность ОКФ стимулировать дифференцировку ММСК в остеобластическом направлении in vitro [18].

Влияние исследуемых материалов на остеоинтеграцию дентальных имплантатов

В ходе исследования 2 животных погибли ранее запланированных сроков выведения на 1 и 2 нед., соответственно, по несвязанным с операцией причинам. Материалы от погибших животных были исключены из анализа результатов.

По данным КТ, на всех сроках наблюдения и во всех группах дислокации дентальных имплантатов не наблюдалось; в группах с ОКФ и «ОКФ+ММСК» в зоне дефекта кортикальной пластинки и на всю глубину костномозгового канала в контакте с поверхностью дентального имплантата определялся регенерат с интегрированными в нем гранулами остеопластических материалов. Полной биорезорбции гранул ОКФ к сроку 3 мес. после операции не наблюдалось. Признаки формирования соединительнотканной капсулы не были обнаружены. В контрольных группах с трансплантацией аутокостной крошки и дефектами без костной пластики в костномозговом канале регенерат не определялся, формирование костной ткани происходило только в верхней части костного дефекта — на уровне дефекта кортикальной пластинки и контакта дентального имплантата с большеберцовой костью (рис. 2).

В ходе количественного анализа КТ не было выявлено статистически значимых различий при сравнении групп с ОКФ и «ОКФ+ММСК». Средняя площадь регенерата с гранулами материалов на основе ОКФ в указанных группах не отличалась на каждом их сроков наблюдения, составив в случае «ОКФ+ММСК» — 20,4±5,3 мм^2, «ОКФ» — 18,4±4,1 мм^2. При этом плотность регенерата в этих группах была статистически значимо большей, чем в контрольных с трансплантацией аутокостной крошки и без костной пластики.

Отсутствие статистически значимых различий в группах с костной пластикой материалами на основе ОКФ обусловлены тем, что материал матрикса-носителя характеризуется исходно высокой плотностью (2000 HU), превосходящей плотность кортикального вещества пластинчатой костной ткани. В этой связи, выявленная динамика по снижению средней плотности отражает процессы биорезорбции матрикса-носителя на основе ОКФ, а об особенностях формирования костного регенерата между гранулами можно судить только по данным гистологического исследования.

При гистологическом исследовании в большинстве исследуемых образцов каждого из сроков наблюдения всех групп, кроме второй контрольной (введение аутокостной крошки) достигалось восстановление целостности кортикальной пластинки к сроку в 3 мес. после операции. Иными словами, в группах 1, 3 и 4 наблюдалась

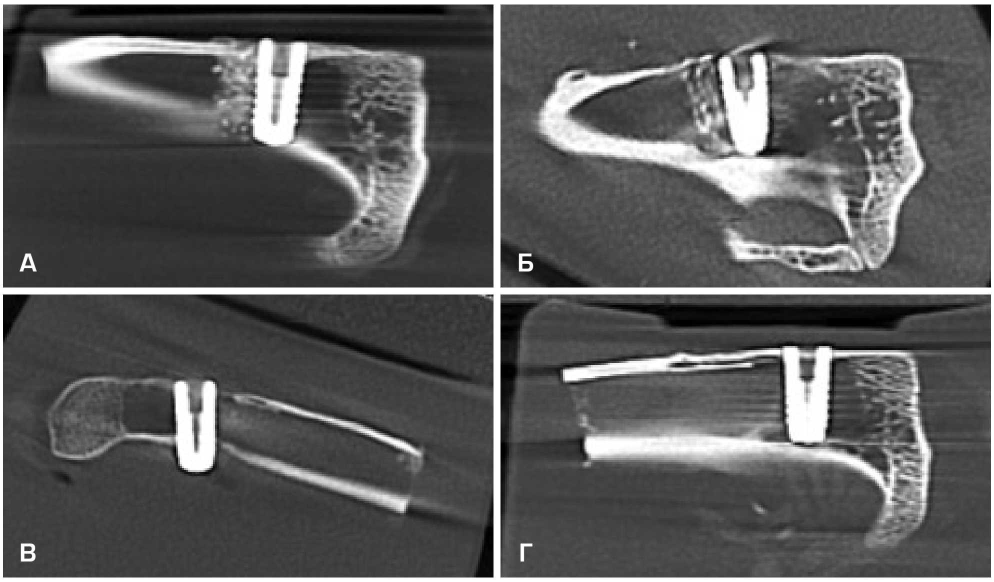

Рис. 2. Фрагменты большеберцовых костей кроликов с установленными в зоны дефектов дентальными имплантатами и костной пластикой, 3 мес. после операции с имплантацией: А — ОКФ; Б — «ОКФ+ММСК», В — аутокостной крошки, Г — без костной пластики

Таблица 1. Средняя плотность регенерата на уровне костномозгового (КМ) канала и дефекта кортикальной пластинки (КП) в группах исследования на разных сроках после операции.

Группа	Плотность регенерата разной локализации в различные сроки, HU					
	1 мес.		2 мес.		3 мес.	
	Уровень КМ канала	Уровень дефекта КП	Уровень КМ канала	Уровень дефекта КП	Уровень КМ канала	Уровень дефекта КП
ОКФ	1293±135,7*#	1157±502,0*#	1161±293,1*#	1107,5±13,4*#	1060,3±178,6*#	1047,5±116,7*#
ОКФ+ММСК	1249,0±101,4*#	953,7±110,3*#	877,5±116,9*	994,1±207,3*#	1028,9±321,4*#	1127,6±148,3*#
Аутокостная крошка	400,7±45,3*	668,2±167,5*	812,5±935,5*	378,5±116,9	274,5±120,3	421,3±119,8
Без костной пластики	259,5±197,3	217,5±133,6	241,0±74,9	383,0±257,4	307,0±12,7	773,5±342,9

* различия при сравнении с дефектом без костной пластики статистически значимы (p<0,05);
\# различия при сравнении с пластикой аутокостной крошкой статистически значимы (p<0,05).

остеоинтеграция верхней части дентальных имплантатов, локализованной на уровне кортикальной пластинки большеберцовой кости.

При имплантации ОКФ на всех сроках наблюдения на уровне верхней части имплантата наблюдался активный процесс формирования ретиулофиброзного костного регенерата, который захватывал кортикальную пластинку диафиза. В ряде случаев это приводило к тому, что даже через 1 мес. после операции внутренний канал дентального имплантата был обтурирован костной тканью. Вместе с тем, вокруг гранул ОКФ, локализованных в области костномозгового канала, активного остеогенеза не наблюдалось. На более поздних сроках (2 и 3 мес.) было выявлено восстановление целостности кортикальной пластинки за счет вновь образованной костной ткани смешанного строения — участки ретикулофиброзного типа замещались на ткань пластинчатой организации (рис. 3). Регенерат связывал поверхность дентального имплантата и гранулы ОКФ, в его структуре определялись каналы для прохождения сосудисто-нервных структур. На уровне костномозгового канала вокруг мелких гранул ОКФ также формировались новообразованные трабекулы костного регенерата смешанного строения, которые, однако, не на всем протяжении достигали поверхности дентального имплантата. Костномозговой канал был заполнен жировым костным мозгом с существенной долей кроветворных структур.

В группе «ОКФ+ММСК», как и в случае ОКФ, к 2–3 мес. после операции наблюдалось восстановление целостности костной ткани на уровне кортикальной пластинки, костный регенерат, связывающий стенку дефекта и поверхность дентального имплантата, содержал интегрированные гранулы тканеинженерной конструкции (рис. 3). На уровне костномозгового канала часть гранул материала были окружены вновь образованной костной тканью, переходящей в непосредственный контакт с поверхностью дентального имплантата.

Без имплантации каких-либо материалов также наблюдалось восстановление целостности кортикальной пластинки, однако к срокам 2 и 3 мес. процесс ремоделирования ретикулофиброзной костной ткани в пластинчатую не завершался (рис. 3). На уровне костномозгового канала признаки остеогенеза не наблюдались, поверхность дентального имплантата контактировала

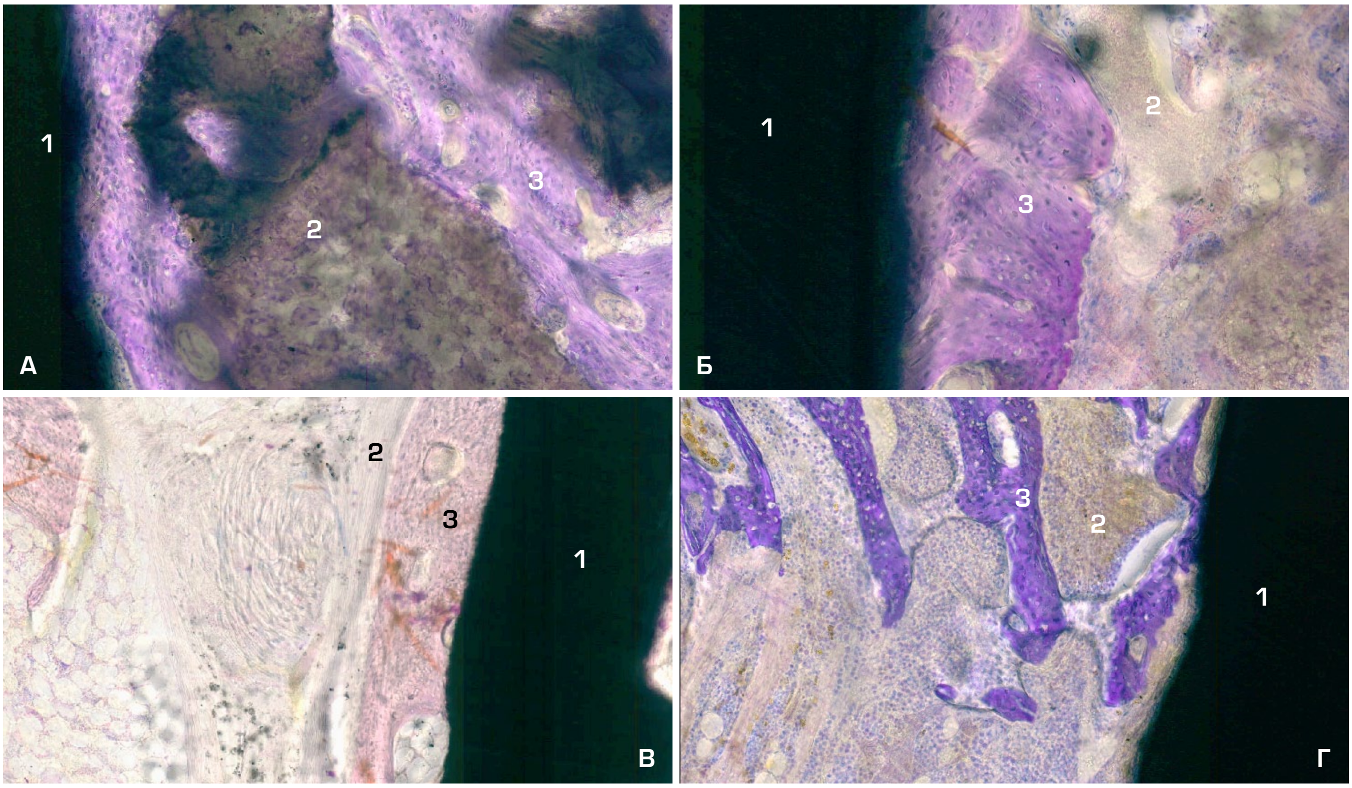

Рис. 3. Верхняя часть костного дефекта через 2 мес. после установки дентального имплантата с одномоментной костной пластикой: А — ОКФ; Б — «ОКФ+ММСК», В — аутокостной крошкой, Г — без костной пластики. 1 — верхняя часть дентального имплантата; 2 — гранула ОКФ; 3 — костный регенерат. Окраска: «небесный трихром» по А.В. Волкову. Ув.: А, Б ×250, В, Г ×200

с элементами костного мозга и волокнистой соединительной тканью.

В группе с «золотым стандартом» костной пластики — трансплантацией аутокостной ткани в виде крошки — на всех сроках наблюдения в большинстве случаев костный дефект кортикальной пластинки сохранялся и был заполнен плотной волокнистой соединительной тканью. При этом на поверхности дентального имплантата на уровне верхней половины костномозгового канала в некоторых случаях определялись участки костного регенерата, объем которого был недостаточен для обеспечения адекватной остеоинтеграции (рис. 4). В костном дефекте как на уровне костномозгового канала, так и кортикальной пластинки определялись фрагменты трансплантированной костной ткани — свободнолежащие, лишенные остеоцитов, истонченные, наиболее вероятно, лишенные кровоснабжения, большая часть практически полностью резорбированы. В верхней части дефекта определялись единичные, умеренно развитые трабекулы ретикулофиброзной костной ткани. Межбалочные пространства были заполнены полнокровными, тонкостенными кровеносными сосудами. Отрицательные результаты применения аутокостной крошки могли быть обусловлены активизацией процесса биорезорбции трансплантированных костных фрагментов, интенсивность которого превзошла репаративный остеогенез. В другом исследовании, где авторы использовали сходную экспериментальную модель костные аутотрансплантаты, но в виде блоков из гребня подвздошной кости, были получены положительные результаты [17].

Рис. 4. Фрагмент большеберцовой кости с зоной дентальной имплантации и костной пластики, 3 мес. после операции: 1 — компактная костная ткань диафиза; 2 — дентальный имплантат; 3 — костномозговой канал; 4 — костный регенерат, 5 — волокнистая соединительная ткань. Окраска: «небесный трихром» по А.В. Волкову. Ув.: ×4

Заключение

Таким образом, в данной экспериментальной модели как тканеинженерная конструкция «ОКФ+ММСК», так и ОКФ обеспечивали остеоинтеграцию дентальных имплантатов с превалированием объема костного регенерата на уровне кортикальной пластинки большеберцовой кости. Детализация различий между указанными группами требует гистоморфометрического анализа. При этом «золотой стандарт» костной пластики — аутокостная крошка — оказался неэффективным; причины такого результата требуют дальнейших исследований. Полученные данные формируют предпосылки для пересмотра существующих рекомендаций относительно особенностей костной пластики при ее выполнении одномоментно с установкой дентального имплантата: в непосредственный контакт с поверхностью дентального имплантата может быть уложен остеопластический материал с остеоиндуктивным действием или, как минимум, выраженной остеокондукцией. Такой концепции придерживаются ряд авторов [19].

Благодарности

Финансирование проекта осуществлялось за счет средств гранта РНФ № 17-75-30066.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Müller A., Hussein K. Meta-analysis of teeth from European populations before and after the 18th century reveals a shift towards increased prevalence of caries and tooth loss. Arch. Oral Biol. 2017; 73: 7–15.
2. Annual Report 2017. Straumann Group. https://www.straumann.com/group/en/discover/annualreport/2017.html. Дата посещения: 01.12.2018.
3. Brånemark P.I., Hansson B.O., Adell R. et al. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Suppl. 1977; 16: 1–132.
4. Attard N.J., Zarb G.A. Immediate and early implant loading protocols: a literature review of clinical studies. J. Prosthet. Dent. 2005; 94(3): 242–58.
5. Morton D., Ganeles J. Протоколы протезирования в имплантологической стоматологии. Международная группа по имплантологии. Руководство по имплантологии, Том 2. ООО «Издательство «Квинтэссенция»: Москва, 2011.
6. Schroeder A., Pohler O., Sutter F. Tissue reaction to an implant of a titanium hollow cylinder with a titanium surface spray layer. SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd. 1976; 86(7): 713–27.
7. Brånemark P.I. Osseointegration and its experimental background. J. Prosthet. Dent. 1983; 50(3): 399–410.
8. Checchi V., Felice P., Zucchelli G. et al. Wide diameter immediate post-extractive implants vs delayed placement of normal-diameter implants in preserved sockets in the molar region: 1-year post-loading outcome of a randomised controlled trial. Eur. J. Oral Implantol. 2017; 10(3): 263–78.
9. Weigl P., Strangio A. The impact of immediately placed and restored single-tooth implants on hard and soft tissues in the anterior maxilla. Eur. J. Oral. Implantol. 2016; 9 (Suppl 1): S89–106.
10. Komlev V.S., Barinov S.M., Bozo I.I. et al. Bioceramics composed of octacalcium phosphate demonstrate enhanced biological behavior. ACS Appl Mater Interfaces. 2014; 6(19): 16610–20.
11. Бозо И.Я., Деев Р.В., Дробышев А.Ю. и др. Эффективность ген-активированного остеопластического материала на основе октакальциевого фосфата и плазмидной днк с геном VEGF в восполнении «критических» костных дефектов. Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова 2015; 1: 35–42.
12. Деев Р.В., Дробышев А.Ю., Бозо И.Я. Ординарные и активированные остеопластические материалыВестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова 2015; 1: 51–69.
13. Деев Р.В., Дробышев А.Ю., Бозо И.Я. и др. Создание и оценка биологического действия ген-активированного остеопластического материала, несущего ген *VEGF* человека. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2013; 8(3): 78–85.
14. Деев Р.В., Цупкина Н.В., Бозо И.Я. и др. Тканеинженерный эквивалент кости: методологические основы создания и биологические свойства. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2011; 6(1): 62–7.
15. Зорин В.Л., Зорина А.И., Еремин И.И. и др. Сравнительный анализ остеогенного потенциала мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток слизистой оболочки полости рта и костного мозга. Гены и Клетки; 2014; 9(1): 50–57.
16. Ribeiro M., Fraguas E.H., Brito K.I.C. et al. Bone autografts & allografts placed simultaneously with dental implants in rabbits. J Craniomaxillofac Surg. 2018; 46(1): 142–7.
17. ISO 10993–6:2007. Biological evaluation of medical devices — Part 6: Tests for local effects after implantation.
18. Anada T., Kumagai T., Honda Y. et al. Dose-dependent osteogenic effect of octacalcium phosphate on mouse bone marrow stromal cells. Tissue Eng. Part A. 2008; 14(6): 965–78.
19. Felice P., Pistilli R., Barausse C. et al. Immediate non-occlusal loading of immediate post-extractive versus delayed placement of single implants in preserved sockets of the anterior maxilla: 1-year post-loading outcome of a randomised controlled trial. Eur. J Oral Implantol. 2015; 8(4): 361–72.

Поступила: 25.11.2018