

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

На правах рукописи

Косарева Ольга Сергеевна

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТИ
НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ КРЫС ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАЗЛИЧНЫХ
ТКАНЕИНЖЕНЕРНЫХ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ**

1.5.22. Клеточная биология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, доцент
Дровосеков Михаил Николаевич

Новосибирск – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.	5
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. МЕТОДЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ДЕФЕКТОВ КОСТНОЙ ТКАНИ.	12
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.	34
2.1 Материал исследовательской работы.	34
2.2 Модель эксперимента.	38
2.3 Методика оперативного вмешательства.	39
2.3.1 Методика оперативного вмешательства животных 1-й группы при замещении дефекта аутооттрансплантатом.	39
2.3.2 Методика оперативного вмешательства животных 2-й группы при замещении дефекта хондротрансплантатом.	40
2.3.3 Методика оперативного вмешательства животных 3-й группы при замещении дефекта остеотрансплантатом.	40
2.3.4 Методика оперативного вмешательства животных 4-й группы без заполнения дефекта.	40
2.4 Забор и хранение материалов.	41
2.5 Методы исследования.	42
2.5.1 Морфологический метод.	43
2.5.2 Электронная микроскопия.	43
2.5.3 Конусно-лучевая компьютерная томография для исследования плотности кости.	43
2.5.4 Иммунофлуоресцентный анализ.	45
2.5.5 Полимеразная цепная реакция.	47
2.5.6 Морфометрические исследования.	48
2.5.7 Статистическая обработка данных.	48
2.6 Характеристика аутооттрансплантата и его получение.	49
2.7 Характеристика хондротрансплантата и его получение.	50
2.8 Характеристика остеотрансплантата и его получение.	56

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.	66
3.1 Результаты исследования структуры кости в области замещения дефекта аутоотрансплантатом.	66
3.1.1 Исследование морфологии костной ткани.	66
3.1.2 Данные морфометрии кости.	70
3.1.3 Исследование плотности костной ткани.	72
3.2 Структурные особенности нижней челюсти в области заполнения дефекта хондротрансплантатом.	75
3.2.1 Исследование морфологии костной ткани.	75
3.2.2 Данные морфометрии экспериментальной группы 2 при замещении дефекта хондротрансплантатом.	79
3.2.3 Исследование плотности кости экспериментальной группы 2 при замещении дефекта хондротрансплантатом.	79
3.3 Строение кости в области замещения дефекта нижней челюсти остеотрансплантатом.	82
3.3.1 Исследование морфологии костной ткани.	82
3.3.2 Данные морфометрии экспериментальной группы 3 при замещении дефекта остеотрансплантатом.	85
3.3.3 Исследование плотности кости экспериментальной группы 3 при замещении дефекта остеотрансплантатом.	87
3.4 Морфологические особенности кости в области дефекта нижней челюсти без использования костнозамещающего материала (контрольная группа) ...	90
3.4.1 Исследование морфологии костной ткани контрольной группы.	90
3.4.2 Данные морфометрии экспериментальной группы 4 (без заполнения дефекта)	93
3.4.3 Исследование плотности кости экспериментальной группы 4.	95
ГЛАВА 4 СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЗУЛЬТАТОВ ЭКСПЕРИМЕНТА.	99
4.1 Сравнительный анализ морфологических особенности кости при замещении дефекта аутоотрансплантатом и в группе без замещения дефекта. .	99

4.2 Сравнение структуры кости нижней челюсти в группе при заполнении дефекта остеотрансплантатом с группой без заполнения дефекта.	103
4.3 Сравнительная характеристика костных структур в области замещения дефекта аутотрансплантатом и при использовании остеотрансплантата.	107
ОБСУЖДЕНИЕ.	112
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.	117
ВЫВОДЫ.	118
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.	119
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.	120
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.	121
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА.	138

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы

Одной из актуальных проблем современной стоматологии является восстановление функциональности зубочелюстной системы при утрате зубов. С внедрением в практику метода дентальной имплантации открылись широкие перспективы в ортопедической стоматологии [1, 3, 11, 18, 28]. Протезирование дефектов зубного ряда конструкциями с опорой на дентальные имплантаты позволило врачам-стоматологам восстанавливать утерянную функциональность зубочелюстной системы вследствие потери зубов ортопедическими конструкциями с достижением высоких эстетических показателей. Однако, дефекты, возникающие в результате удаления зубов, травм, воспалительных процессов, новообразований, неизбежно ведут к атрофии альвеолярного отростка, что существенно ухудшает условия для проведения дентальной имплантации и требует специальной подготовки перед началом протезирования [2, 10, 26].

При планировании ортопедической конструкции перед врачом-стоматологом ортопедом стоит задача определить достаточно ли количество костной ткани для установки дентальных имплантатов. Установка дентального имплантата требует наличия костной ткани определенной толщины и высоты, окружающей имплантат со всех сторон. Минимальная необходимая толщина кости составляет 1 мм, иначе существует риск нарушения нормального процесса остеогенеза, возможной резорбции костной ткани и последующего формирования фиброзной, либо грануляционной ткани вокруг имплантата. Такое нарушение объясняется тем, что после подготовки костного ложа под имплантат возможна гибель костной ткани глубиной до 0,5 мм из-за травматического воздействия. Дополнительно повреждение сосудов при отслойке слизистых оболочек и надкостницы способно вызвать некроз поверхностных слоев альвеолярного отростка. Если расстояние между поверхностью имплантата и внешним краем кости оказывается менее 1 мм, создается вероятность формирования сплошной зоны некроза и отсутствия

достаточного слоя здоровых клеток кости, необходимых для правильного остеогенеза [7].

Помимо минимальной толщины, важна и высота костной ткани. Согласно клиническим рекомендациям, любые анатомические структуры должны находиться на расстоянии минимум 1 мм от имплантата. Более того, между самим имплантатом и соседними зубами или другими имплантатами должно оставаться пространство шириной не менее 1,5 мм. Основанием для этих правил служат данные о распространенности зон некроза после аккуратного препарирования кости [7].

Для восстановления анатомического объема кости альвеолярного отростка челюстей и в целом костей челюстно-лицевой области используются различные материалы природного и инженерного происхождения [14, 22, 31, 58, 121]. Несмотря на широкий ряд существующих остеопластических материалов такие недостатки как: травматизация в дополнительной зоне, ограничение по объему забранного костного материала, сложность изготовления и хранения, повышенный риск инфицирования, отсутствие резорбции, бионесовместимость способствуют непрерывному поиску остеопластического материала, отвечающего всем требованиям в одном [45, 74, 140].

Для внедрения в клиническую практику остеопластический материал, использующейся с целью восстановления костной ткани дефектов челюстно-лицевой области, должен отвечать определенным требованиям, а именно: обладать высокими остеоиндуктивными и остеокондуктивными свойствами, быть тканеспецифичным и биорезорбируемым, обладать биосовместимостью, иммунотолерантностью и отсутствием цитотоксичности [58].

Перспективными материалами, которые отвечают требованиям, предъявляемым к остеопластическим материалам, являются трехмерный хондротрансплантат и остеотрансплантат, полученные методом тканевой инженерии.

Степень разработанности темы диссертации

Восстановление анатомического объема кости нижней челюсти является актуальной и активно исследуемой областью в современной стоматологии. В последние годы наблюдается активное развитие технологий тканевой инженерии, что связано с потребностью в эффективных методах восстановления костной ткани после травм, опухолей и хирургических вмешательств [126]. Результаты немногочисленных проведенных исследований позволяют сделать выводы, что применение тканеинженерных трансплантатов способствуют ускорению замещения костных дефектов морфогенетически идентичной костной тканью [28, 29].

Проанализированные данные, представленные в источниках литературы, позволяют сделать выводы о недостаточной изученности полученных результатов применения тканеинженерных трансплантатов для восстановления дефектов кости, полученных методом инженерии. В связи с чем актуально проведение дальнейших исследований, направленных на изучение механизмов регенерации кости и долгосрочных эффектов использования, что позволит повысить эффективность лечения и улучшить результаты у пациентов с нарушениями в области нижней челюсти.

Цель исследования

Изучить морфологические особенности регенерации кости при замещении дефекта нижней челюсти хондротрансплантатом и остеотрансплантатом, полученных методом тканевой инженерии.

Задачи исследования:

1. Установить морфологические особенности регенерации кости в зоне дефекта нижней челюсти при имплантации хондротрансплантата.
2. Определить структурные особенности регенерации кости в области дефекта нижней челюсти при введении остеотрансплантата.

3. Оценить плотность кости в зоне дефекта при имплантации хондротрансплантата и остеотрансплантата.

4. Провести сравнительный анализ сформированной кости в области дефекта нижней челюсти при введении аутоотрансплантата и остеотрансплантата.

Научная новизна

Впервые изучены и получены результаты морфологических особенностей регенерации дефекта кости нижней челюсти при введении тканеинженерных трансплантатов, на основании которых установлено, что при замещении дефекта кости нижней челюсти хондротрансплантатом формируется грануляционная ткань без признаков остеогенеза, при замещении дефекта кости нижней челюсти остеотрансплантатом формируется органоспецифическая кость.

Впервые проведен сравнительный анализ морфологических особенностей перестройки кости дефекта нижней челюсти при имплантации аутоотрансплантата и остеотрансплантата, в ходе которого установлено, что кость, сформированная при регенерации дефекта нижней челюсти, заполненного остеотрансплантатом, превосходит по показателям плотности кости сформированную кость при замещении дефекта аутоотрансплантатом.

Теоретическое и практическое значение работы

Полученные данные о структурных особенностях регенерации кости нижней челюсти расширяют представления о свойствах костнозамещающих тканеинженерных материалов. Полученные результаты исследования позволяют оценить морфологические особенности регенерации кости при использовании хондротрансплантата и остеотрансплантата. В ходе исследования подтверждена эффективность применения тканеинженерного остеотрансплантата для регенерации кости дефекта нижней челюсти в качестве остеопластического материала, полученного методом культивирования. Полученные результаты являются основой для разработки клинических рекомендаций с целью использования трехмерного остеотрансплантата в челюстно-лицевой хирургии и

клинической стоматологической практике в качестве остеопластического материала.

Методология и методы диссертационного исследования

Фундаментальной основой диссертационной работы являлось изучение данных литературы по теме научной работы, проведение экспериментального исследования и использование принципов статистического анализа полученных результатов. Проведена электронная микроскопия, иммунофлуоресцентный анализ и полимеразная цепная реакция (ПЦР) с целью подтверждения тканевой принадлежности, полученных *in vitro* трансплантатов, световая микроскопия, денситометрия кости. Экспериментальное исследование проведено на основании полученного положительного решения Комитета по этике ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 133 от 25.03.2021) с соблюдением положений Директивы Европейского парламента и совета ЕС о защите животных, используемых в научных целях.

Положения, выносимые на защиту

1. При замещении дефекта кости нижней челюсти хондротрансплантатом формируется грануляционная ткань различной степени зрелости во всех периодах наблюдения, без признаков остеогенеза.
2. Регенерация дефекта нижней челюсти, замещенного трехмерным остеотрансплантатом, происходит с образованием органоспецифической кости.

Степень достоверности

Достоверность полученных результатов исследования подтверждается достаточным количеством наблюдений (120 животных) и применением современных методов исследования. Статистический анализ полученных результатов проведен в соответствии с поставленной целью и задачами.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с паспортом научной специальности 1.5.22. Клеточная биология.

Апробация работы

Основные материалы и положения работы доложены и обсуждены на: первой межрегиональной стоматологической конференции студентов и молодых ученых с международным участием (Новосибирск 2015); 9-й и 10-й Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Цивьяновские чтения» (Новосибирск 2016, 2017); 15-м, 17-м, 18-м и 19-м Сибирском конгрессах «Стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» (Новосибирск 2020, 2022, 2023, 2024).

Диссертационная работа апробирована на заседании проблемной комиссии «Морфологические основы компенсаторно-приспособительных реакций» ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Новосибирск, 2025).

Диссертация выполнена в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России по теме «Изучение закономерностей развития нормальных и патологических процессов в организме при действии факторов экзо- и эндогенной природы: межклеточные и межсистемные взаимодействия при остром и хроническом воспалении, репаративной регенерации, онкогенезе, фиброзировании, дисплазии соединительной ткани; возможности диагностики, профилактики, лечения», номер государственной регистрации 121061500014-3.

Внедрение результатов исследования

Результаты диссертационного исследования внедрены в преподавательскую и научную практику: кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии им. проф. М. Я. Субботина, кафедры хирургической стоматологии, стоматологической имплантации и челюстно-лицевой хирургии, кафедры ортопедической

стоматологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России

Публикации

По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 1 патент на изобретение и 4 статьи в научных журналах и изданиях, включённых в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 1 статья в журнале, входящем в международные реферативные базы данных и систем цитирования Scopus и Web of Science.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 145 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, раздела результатов исследования, главы сравнительной характеристики, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка иллюстративного материала. Список литературы представлен 155 источниками, из которых 122 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 14 Таблиц и 62 Рисунков.

Личный вклад автора

Автором проведен подбор и анализ литературы по теме диссертации, сформулированы цели и задачи, проведены экспериментальные исследования и статистическая обработка полученных данных. Сформулированы выводы и обсуждены полученные результаты в научных публикациях и на конференциях. С участием автора разработан способ восстановления дефекта костной ткани, получен патент на изобретение (Пат. 2580754 РФ МПК А61В 17/58, 2015106506/14, 25.02.2015, опубл. 10.04.2016 Бюл. № 10).

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.

МЕТОДЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ДЕФЕКТОВ КОСТНОЙ ТКАНИ

Регенерация дефектов кости челюстей является актуальной проблемой стоматологии [58]. Особое значение восстановление кости приобретает при планировании ортопедического лечения с опорой на имплантаты. Протезирование дефектов зубного ряда позволяет полноценно восстанавливать функции зубочелюстной системы и добиваться высокого эстетического результата. Однако при нарушениях развития зубов (адентии) и челюстей, травмах, новообразованиях челюстей, воспалительных заболеваниях пародонта, атрофии после удаления зубов выявляется дефицит альвеолярной кости, который ухудшает условия, или делает невозможным установку имплантатов без специальной подготовки. В настоящее время для восстановления анатомического объема костной ткани альвеолярного отростка используются различные материалы.

На сегодняшний период времени «золотым стандартом» среди остеопластических материалов для восстановления дефектов кости человеческого организма является аутооттрансплантат [28]. Данный материал характеризуется высокой биосовместимостью, регенераторной способностью и иммуннотолерантностью. Аутооттрансплантат является биорезорбируемым материалом, за счет того, что представлен фрагментом аутологической кости [49, 126]. Аутооттрансплантат содержит активные жизнеспособные клетки – остеобласты, стимулирующие остеогенез. На сегодняшний день существует ряд донорских зон для забора аутогенного костного трансплантата с целью реконструкции альвеолярного отростка верхней челюсти и альвеолярной части нижней челюсти, а именно подбородочный симфиз является перспективной зоной забора в связи с тем, что при заборе в данной зоне возможно формирование блока кости большого размера. При этом полученный аутооттрансплантат из подбородочного симфиза характеризуется быстрым приживлением, высокой плотностью забранного костного блока и минимальным процентом резорбции.

Процедура забора костного блока из подбородочного симфиза не требует госпитализации, не формирует дополнительные косметические дефекты и имеет короткий реабилитационный период. Однако существует риск травматизации зубов во время оперативного вмешательства при заборе костного блока из подбородочного симфиза [109].

Альтернативной зоной забора костного блока является ветвь нижней челюсти. Данная область применяется для получения аутотрансплантатов седловидной формы, способных восстановить анатомический объем кости в области дефекта как по ширине, так и по высоте и часто применяется для восстановления дистальных дефектов кости нижней челюсти. В связи с тем, что ветвь нижней челюсти парное анатомическое образование забор костных блоков можно произвести в больших объемах. При проведении забора костного блока из ветви нижней челюсти возможны развития осложнений в виде: перелома нижней челюсти и травматизация зубов.

Костные трансплантаты, полученные из теменной кости, обладают низким уровнем резорбции, трансплантаты возможно получить достаточно больших размеров. Сама процедура забора костного блока не требует длительной госпитализации и быстрая послеоперационная реабилитация. Однако такие недостатки как: ограниченная толщина получаемых трансплантатов, видимые дефекты в зоне забора, повреждения твердой оболочки головного мозга ограничивают использование теменной кости в качестве донорской зоны.

На клинической практике активно применяются трансплантаты, полученные из гребня подвздошной кости. Данные трансплантаты можно получить больших размеров соответственно применимы для восстановления любых дефектов кости челюстей и челюстно-лицевой области в целом. Забор костного блока сопровождается дополнительной травматизацией, болезненностью и потерей чувствительности в области забора, ограничением подвижности в послеоперационном периоде.

Менее перспективной донорской зоной является венечный отросток челюстей. Полученный трансплантаты из данной области имеют ограниченные

размеры, обусловленные плоской формой венечного отростка, и применяются для восстановления небольших дефектов кости челюстей и челюстно-лицевой области. Например, измельченную стружку, полученную из фрагментов кости при удалении зуба, применяют при костной пластике во время установки дентального имплантата [19].

Оперативное вмешательство с использованием аутотрансплантатов имеет риск осложнений в виде инфицирования с последующим процессом некротизирования установленных трансплантатов. С целью профилактики инфекционных осложнений оперативное вмешательство сопровождается антибактериальной терапией. Одним из важных условий помимо соблюдения правил асептики и антисептики для достижения успешного результата костной пластики при применении аутотрансплантата, является достаточный объем мягких тканей, закрывающий аутотрансплантат. В условиях недостаточного объема мягких тканей, покрывающих аутотрансплантат, и послеоперационного отека возможно расхождение краев раны, что приведет к инфицированию и отторжению аутотрансплантата [114, 131].

Активно применяющимися материалами для регенерации дефектов кости являются материалы, представленные в виде фрагментов кости (блоки, стружка разного размера) забор которых произведен у трупного материала. В зависимости от принадлежности донора выделяют аллотрансплантаты – донором которых является трупный материал человека и ксенотрансплантаты донором которых является трупный материал животного (крупнорогатый скот, свинья, раковины моллюсков) [50, 51, 76, 88].

По данным литературы процесс регенерации дефектов кости при использовании аллотрансплантата протекает за счет ложа реципиента и сформированной соединительной ткани вокруг трансплантированного материала путем дифференцировки. За счет растущих сосудов из зоны реципиента в зону дефекта и поступающих факторов из окружающих тканей происходит процесс преобразования аллогенного трансплантата в виде клеточной дифференцировки с дальнейшей их пролиферацией, резорбции некротизированной кости, образования

примитивных костных структур с дальнейшей перестройкой и минерализацией [12].

Аллогенные трансплантаты существуют в трех вариациях в зависимости от способа предварительной обработки материала после забора, влияющего на химико-физические свойства трансплантата. Нативный аллотрансплантат сохраняет природную структуру костной ткани и оптимальное соотношение минералов и органических составляющих. Альтернативный вариант – деминерализованный аллотрансплантат, в котором сохраняются только органические компоненты костной ткани, а минералы отсутствуют. Третья вариация аллогенного трансплантата, характеризуется сохранением минеральных компонентов кости при этом не содержащий органические компоненты (депротеинизированный) [12]. Забор аллогенных аллотрансплантатов позволяет формировать костные трансплантаты различных размеров и форм, что является преимуществом данных трансплантатов для применения в клинической практике.

Фрагменты депротенизированной аллокости обладают меньшей иммуногенностью, по сравнению с нативными костными фрагментами, поскольку в процессе обработки лишаются органического компонента кости. Кроме того, процесс депротенизации повышает вирусную и бактериальную безопасность аллокости, на которую постоянно ссылаются производители синтетических костезамещающих материалов. По сути, полученный подобным образом костный материал представляет собой карбонатгидроксиапатит аллогенного происхождения с сохраненной архитектоникой и микроэлементным составом. Деминерализованные костные аллоимплантаты за счет освобождения от минерального компонента не обладают прочностными свойствами. Целая группа факторов роста, содержащихся в деминерализованной костной ткани, стимулирует как пролиферацию и дифференцировку родоначальников остеодифферона, так и ангиогенез. Уникальные свойства деминерализованной кости позволяют создавать на ее основе костно-пластические материалы с остеоиндуктивными свойствами [12].

Альтернативным материалом для получения трансплантатов является костная ткань мертворожденных детей или плода [22]. Однако брeфотрансплантаты – запрещены к применению во многих стран мира по этическим соображениям.

Ксенотрансплантаты, полученные от животных, в частности от крупного рогатого скота, и природный коралл нашли широкое применение в практике восстановления дефекта кости челюстно-лицевой области. Перед использованием ксенотрансплантаты проходят предварительную подготовку, которая включает удаление белка, выделение компонентов с пониженной антигенностью и сохранение механических характеристик, аналогичных свойствам человеческой кости. Для снижения риска иммунных реакций применяются различные способы: замораживание, сушка вымораживанием, обработка гамма-излучением и химические средства. Главная задача ксеногенного трансплантата – создать опорный каркас, на основе которого начнется формирование новой костной ткани путем аппозиционного роста. Важно отметить, что такие трансплантаты обладают пористой структурой [62].

Ксенотрансплантаты источником которых является природный коралл обладают остеокондуктивными свойствами и отсутствием риска передачи инфекций реципиентам. Трансплантаты источником которых является бычья кость обладают схожей структурой с костью человека. По факту это органический гидроксиапатит, содержащий поры микро и макроразмеров кортикальной и губчатой кости, сохранившиеся после химического или термического удаления органических веществ [50, 51, 74, 76, 88]. Наличие пористой структуры, возможность длительного хранения ксенотрансплантатов, отсутствие дополнительной травматизации, неограниченный объем материала являются положительными свойствами. Однако, возможность развития реакции гистонесовместимости и инфицирования ограничивают применение данного материала [43].

Применение синтетических материалов, имитирующих минеральную основу костной ткани, для восполнения костных дефектов широко изучается

специалистами [132]. Особенно востребованы среди биоактивных керамических материалов гидроксиапатит и трикальцийфосфат, которые не только отлично совмещаются с костной тканью, но и способны постепенно растворяться в организме [146].

Гидроксиапатит относится к биологическим материалам с высокими характеристиками биосовместимости и поверхностной активности. Обладая схожей с естественной костной тканью кристаллической структурой, этот минерал практически идеально воспроизводит химический состав твердой ткани человека, не провоцируя иммунных реакций отторжения [91]. Частицы гидроксиапатита привлекают к себе костный морфогенетический белок, который необходим для запуска процессов регенерации костной ткани. Постепенно материал растворяется в межклеточном пространстве, приобретая форму тонких пластинок, которые затем поглощаются клетками костной ткани. Помимо этого, гидроксиапатит участвует в контроле обмена кальция и фосфора, увеличивает скорость деления остеобластов, улучшает процессы репарации костной ткани и уменьшает проницаемость клеточных мембран и стенок сосудов [2, 93, 94, 118, 129].

Несмотря на ряд положительных свойств гидроксиапатит не обладает высокими механическими свойствами и является по скорости низкодеградируемым материалом. Невысокая скорость деградации гидроксиапатита провоцирует хронические воспалительные реакции, вследствие которых возникает процесс вторичного остеолизиса кости [94].

Альтернативный представитель биокерамики - бета-трикальций фосфат, представленный смесью фосфора и кальция в соотношениях 3:1. Данный материал обладает остеоиндуктивными и остекондуктивными свойствами и является биodeградируемым материалом [68, 108, 151].

Перспективными материалами для применения в различных тканеинженерных конструкциях являются синтетические биodeградируемые полимеры представленные полимолочной (PLA) и полигликолиевой кислотой (PGA). Продуктами распада этих полимеров являются гликолевая и молочная

кислота, которые естественным образом содержатся в организме человека и поэтому удаляются естественными путями метаболизма [52, 135].

Использование PLGA, который представляет собой сополимер, образованный PLA и PGA, для регенерации костной ткани широко изучено и одобрено для клинического использования в США [99]. Основным недостатком синтетических полимеров являются их плохие механические свойства, даже когда они имеют форму стержней или сплошных винтов. Другой потенциальный недостаток – высокие локальные концентрации кислотных продуктов деградации, которые могут влиять на дифференцировку клеток на каркасах *in vitro* и могут вызвать воспалительную реакцию *in vivo* [138].

Современные достижения в области биоматериалов включают в себя создание новых стеклокристаллических композиций, которые соединяют в себе стеклянную основу и мелкие кристаллы размером нескольких микрон [12]. В России была реализована программа под названием «Биоситалл», в результате которой было разработано и начато массовое производство местного продукта – биоситаллов. Примером такого материала является рентгеноконтрастный продукт «Биосит-СР» отечественного производства. Он производится на основе биоситалла М-31 и включает в себя уникальную биологически активную кристаллическую фазу, представляющую собой карбоксигидроксиапатитат, который аналогичен минералу костей человека – даллиту. Этот материал состоит из оксидов кремния, фосфора, алюминия, кальция, магния и цинка, и применяется в хирургической практике для лечения различных повреждений костной ткани. Его используют для заполнения костных пустот, лечения пародонтита и устранения последствий удаления зубных имплантатов, а также в других случаях, связанных с заболеваниями челюстно-лицевой области [46].

Особенностью биостекол и биоситаллов является отсутствие образования капсулы вокруг имплантата, что позволяет обеспечить прямой контакт с живой костной тканью. Важнейшим фактором успешного взаимодействия биоматериала с тканями организма является формирование на его поверхности тонкого слоя апатита, возникающего вследствие химического взаимодействия между

материалом и жидкостями организма. Хотя такой материал проявляет высокую биологическую активность, он не способен самостоятельно стимулировать рост костной ткани и не отличается достаточной механической прочностью.

Однако применение искусственных материалов иногда сопровождается негативными последствиями, такими как воспаление и необходимость повторного хирургического вмешательства для извлечения самого материала вместе с частью поврежденной кости и прилегающих мягких тканей. Причина заключается в особенностях технологии изготовления материалов (использование высоких температур, давления и процессов спекания), которые повышают прочность изделий, но ухудшают их способность естественным образом разлагаться в организме и замещаться собственной костной тканью пациента [53].

Материал, созданный на основе альгината и разработанный с использованием технологии 3D-печати, вызывает особый интерес. Альгинат представитель линейного полисахарида, выделяемый из красных и бурых водорослей, используется для улучшения механических и адгезивных свойств [137]. Альгинат представляет собой сочетание мономера β -D-маннуронової кислоты и α -L-гулууронової кислоты. В присутствии двухвалентных катионов, таких как Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} и Sr^{2+} , эти полисахариды подвергаются ионотропному гелеобразованию [112]. По результатам исследования данный материал обладает высокой пористостью, прочностью и адгезивными свойствами поверхности. Совокупность полученных данных открывает перспективы к совершенствованию 3D конструкций, как основы остеопластических материалов [58].

Современные методы восстановления костей нижней челюсти включают использование специального каркаса, изготовленного из никелида титана. Этот искусственно созданный материал помогает воссоединять костные элементы согласно законам биомеханики и стимулирует естественный процесс заживления поврежденных участков. Характеристики материалов на основе никелида титана – бионейтральность, наличие пористой структуры, способность восстанавливать форму и высокую эластичность – делают их идеальными для данной процедуры.

Исследования показывают, что вокруг имплантируемого изделия формируется плотный защитный слой соединительных тканей, предотвращающий проникновение окружающих мягких тканей. Костный дефект постепенно замещается новой губчатой тканью, чья плотность превышает аналогичные показатели здоровых областей примерно вдвое. К финальной стадии исследований минеральный состав восстановленной кости практически сравнялся с показателями здоровой губчатой кости верхней части диафиза.

Процесс формирования новой костной ткани осуществляется посредством мембранного и аппозиционного остеогенеза, при этом воспалительные процессы не наблюдаются [17]. Пористая поверхность волокон имплантата способствует прикреплению клеток остеобластов, формированию прочного соединения между костью и материалом, а также обеспечивает проводящие способности. Капилляры имплантата впитывают собственные белки организма, способствующие росту костной ткани, усиливая эффективность восстановления [69]. Однако существует ряд недостатков: высокая цена материала и риск возникновения аллергии на компоненты никелида титана.

В настоящее время в медицине активно используются разные факторы роста, особенно морфологические белки, известные как BMP (bone morphogenetic proteins), которые играют ключевую роль в процессе остеогенеза костной ткани. Эти морфологические белки представляют собой низкомолекулярные растворимые гликопротеины с трансмембранной структурой, которые существуют в виде димеров, соединённых дисульфидными связями. Морфологические белки регулируют процессы деления и выживания клеток и способствуют дифференцировке мезенхимальных стволовых клеток в хондробласты и остеобласты.

По результатам проведенных исследований определено и охарактеризовано до 50 различных морфогенетических молекул, которые активно экспрессируются на ранних этапах заживления дефектов костной ткани. Эти молекулы становятся основным фактором процесса репаративного хондрогенеза и остеогенеза [16]. Преимуществом морфогенетических молекул является

возможность получения их методом генной инженерии *in vitro*. Из выделенных белков к наиболее значимым факторам роста относятся: фактор роста тромбоцитов, фактор роста фибробластов, инсулиноподобные факторы роста, трансформирующий фактор роста бета и эпидермальный фактор роста.

Тромбоцитарный фактор роста (PDGF) представляет собой димер, образованный соединением двух белков (А и В). Данный фактор секретируется клетками включая тромбоциты, моноциты, макрофаги и клетки эндотелия [133]. В зависимости от их комбинаций, молекулярная масса этого фактора варьируется от 28 до 35 килодальтон. PDGF обладает митогенной активностью, влияя на остеобласты и их предшественников, а также участвует в ангиогенезе, который необходим для образования новых кровеносных сосудов в тканях. По результатам исследований при участии пациентов, приведенных в литературе, показали, что при применении PDGF регенерация кости дефекта с образованием зрелой костной ткани происходит в течении трёх месяцев. Одной из последних разработок было предложено применение геля, содержащий аутогенный тромбоцитарный фактор роста, который ускоряет процесс регенерации тканей после хирургических вмешательств. Присутствие факторов роста непосредственно в зоне трансплантации костных материалов значительно ускоряет процесс регенерации тканей [123].

Фактор роста фибробластов (FGF) включает в себя семейство из девяти полипептидных структур, которые синтезируются в моноцитах, макрофагах, хондроцитах и остеобластах. Эти факторы активируют клетки мезодермального и нейроэктодермального происхождения и играют активную роль в хондрогенезе. Они первыми появляются в гематоме перелома и действуют на ранних стадиях сращения кости. В отличие от большинства других факторов роста, FGF может стимулировать как *in vitro*, так и *in vivo* пролиферацию различных клеточных компонентов, участвующих в процессе заживления [9].

Инсулиноподобные факторы роста, обозначаемые как IGF I и IGF II, также играют важную роль в регенерации тканей. Эти молекулы синтезируются различными клетками, включая клетки печени и остеобласты. Данный фактор

значительно усиливает синтез коллагена и других белков, составных элементов костной ткани, а также активирует пролиферацию и рост остеобластов. Инсулиноподобный фактор получил данное наименование за счет того, что имеет схожую структуру со структурой инсулина. Главная функция данного фактора роста заключается в воздействии на процессы роста и развития, а также в стимуляции клеточной активности, необходимой для формирования костной ткани в области регенерации. IGF-I и IGF-II способствуют не только пролиферацию остеобластов, но и увеличивают их метаболическую активность, что является критически важным для успешного восстановления костной ткани [9].

Альтернативным фактором роста является - сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), играющий ключевую роль в процессе энхондральной оссификации и ангиогенезе в костной мозоли. Это белковое соединение существует в нескольких изоформах, где VEGF-A является наиболее изученным и обеспечивает ангиогенез, тогда как функции VEGF-B пока не исследованы. Изоформы VEGF-C и VEGF-D важны для лимфоангиогенеза. VEGF может синтезироваться различными клетками, включая хондроциты, эндотелиальные клетки, макрофаги, фибробласты и остеобласты. Этот фактор роста сохраняет свою активность на всех стадиях заживления переломов, начиная с первых часов после травмы до многих месяцев, когда происходит ремоделирование костной мозоли [16].

Эпидермальный фактор роста (EGF) представляет собой глобулярный белок, состоящий из 53 аминокислот, который является мощным митогеном для клеток различного происхождения (энтодермального, эктодермального и мезодермального). EGF обнаруживается в различных тканях и жидкостях организма, включая слюну и желудочные соки, его основной источник – слюнные железы. Данный фактор роста оказывает влияние на развитие и пролиферацию клеток кожи и эпителия, включая такие клетки, как фибробласты. Кроме того, он играет важную роль в процессе резорбции костной ткани и выделения кальция из нее.

Трансформирующий фактор роста бета (TGF- β) состоит из пяти белков и синтезируется различными клетками: макрофаги, лимфоциты, тучные клетки. Данный фактор роста влияет на множество процессов, включая клеточный рост и дифференцировку, а также создание межклеточного вещества.

Клинические и экспериментальные исследования указывают на то, что препараты на основе BMP-2 значительно эффективнее традиционных костно-пластических материалов. Например, в одном из исследований прирост костной ткани в области дефектов альвеолярного гребня, восстановленных с использованием материала NOVOSIS-Dent, составил 35,2 %, в то время как при использовании BioOss этот показатель равнялся 28,9 %. В другом сравнительном исследовании, о котором сообщается статьей Canan и коллег, анализировался объем образовавшейся кости у детей, перенесших операции на альвеолярном отростке при устранении расщелин, с использованием различных методов: аутологичной костной ткани в виде костного блока из гребня подвздошной кости, материала InFUSE и периостеопластики. Результат показал, что через 6 месяцев минимальный показатель объема кости был в группе применения аутооттрансплантата (105,7 мм³), средний показатель объема кости достиг в группе наблюдения при применении материала InFUSE (346,2 мм³) и в третьей группе наблюдения объем кости составил 502,9 мм³ [61].

Однако, несмотря на положительные результаты, существуют противопоказания для использования факторов роста, включая индивидуальную непереносимость, наличие воспалительных процессов, а также возрастные ограничения для пациентов с незавершенным формированием костей. Активность факторов роста непродолжительная и варьируется от 1 до 4 часов от момента производства. Сам процесс производства является дорогостоящим, что ограничивает применение данных материалов.

Обзор публикаций, касающихся использования остеопластических материалов с содержанием BMP-белков в челюстно-лицевой хирургии, выявил основной нежелательный эффект – продолжительный сильный отек мягких тканей. Причина развития отека связана с активацией BMP-2,

провоцирующей выделение провоспалительных веществ и формирование воспаления с накоплением жидкости. Помимо этого, отмечено образование антител против BMP-2 и BMP-7 в организме пациента после хирургических вмешательств с использованием препаратов, содержащих указанные молекулы.

Высокая концентрация BMP-2, быстро освобождаемого из препарата, ускоряет созревание остеокластов, вызывая разрушение кости этими клетками. Относительно наиболее серьезного риска – возможного канцерогенного эффекта – мнения ученых расходятся. Установлено, что BMP-2 и BMP-7 способны усиливать рост некоторых видов злокачественных новообразований, таких как опухоли простаты, молочной железы, легкого, поджелудочной железы, однако одновременно действуют как подавляющие факторы при онкологических заболеваниях желудка, почки, толстой кишки и остеосаркоме. Теоретически это ограничивает применение BMP-препаратов при лечении ряда стоматологических доброкачественных опухолей, таких как цементомы, дентиномы, остеофибромы и одонтомы [99, 125].

Широкие перспективы в создании новых материалов для костной пластики открыли клеточные технологии. Активно исследовались эмбриональные стволовые клетки (ЭСК), которые имеют неограниченный потенциал для пролиферации и могут образовывать любую ткань человеческого организма [14]. ЭСК характеризуются способностью дифференцировки в любой тип тканей и клеток трех зародышевых слоев: энтодермы, эктодермы и мезодермы за исключением клеток внезародышевых органов. Однако, проблема этичности и ряд факторов такие как: отсутствие возможности контроля направленной дифференцировки и как следствие высокий риск развития онкологических образований, иммунологическая несовместимость ограничивают применение данных клеток и запрещены к применению во многих странах на законодательном уровне [148].

Одним из перспективных подходов к восстановлению дефектов костной ткани является использование мезенхимальных стволовых клеток (МСК), которые отличаются своей способностью превращаться в разные типы

специализированных клеток [37, 103, 155]. Обычно источниками таких клеток становятся костный мозг и жировая ткань. Стволовые клетки костного мозга могут трансформироваться в фибробласты, остеогенные, хрящевые и жировые клетки, особенно при воздействии специальных стимуляторов [79, 139]. Эти клетки играют важную роль в регенеративных процессах костной ткани, способствуя росту новой кости и оказывая влияние на иммунную систему, подавляя воспалительные процессы и регулируя реакцию иммунитета [149]. Когда организм сталкивается с повреждением, уровень определенных сигнальных молекул повышается, привлекая МСК к зоне травмы и вызывая развитие новой костной ткани [82, 144].

Кроме того, мезенхимальные стволовые клетки влияют на иммунитет, ограничивая размножение и активность некоторых типов иммунных клеток, предотвращая чрезмерную воспалительную реакцию. Еще одним важным аспектом деятельности МСК является их антибактериальное действие, проявляющееся как прямым влиянием на бактерии, так и косвенно через выделение особых защитных белков, таких как кателицидин и бета-дефензины [41, 142, 150]. Стволовые клетки содержат особые рецепторы (так называемые Toll-подобные рецепторы), реагирующие на молекулы бактерий и усиливающие выработку бактерицидных агентов, что способствует борьбе с инфекциями. Воздействие бактерий на эти рецепторы стимулирует клетки производить вещества, поддерживающие противовоспалительные механизмы, помогая контролировать интенсивность воспаления и поддерживать баланс в иммунной системе [27, 44].

Так по данным литературы применение аутологических мезенхимальных клеток костного мозга для замещения дефекта костной ткани в эксперименте показало заполнение дефекта молодой костной тканью и формирование структур костного мозга в срок 2 недели, в срок 4–5 месяцев закрытие дефекта органоспецифической костной тканью [35, 77, 119, 143].

Описаны работы применения мезенхимальных стволовых клеток костного мозга в сочетании обогащенной тромбоцитарной плазмой. Обогащенная

тромбоцитарная плазма (PRP) – состоит из тромбоцитов, содержащие факторы роста: трансформирующий фактор роста, тромбоцитный фактор роста, сосудистый фактор роста, эпидермальный фактор роста, инсулиноподобный фактор роста и фибробластический фактор роста [78, 124].

Большинство современных специалистов считают, что использование обогащённой тромбоцитами плазмы (PRP) даёт возможность достичь естественного уровня собственных факторов роста организма, что делает её привлекательной для экспериментов в медицине, посвящённых повышению темпов регенерации тканей с низкой восстановительной способностью. Например, введение PRP в область перелома сокращает срок заживления костной раны на 8–10 % [97]. Эксперименты на крысах доказывают, что инъекция тромбоцитарной массы в участок бедренного костного дефекта ослабляет местные воспалительные реакции, а комбинация PRP с коллагеном заметно ускоряет восстановление костной ткани. Другое исследование подтвердило положительный эффект PRP при восстановлении после сложных переломов: в группе пациентов, которым использовалась технология PRP, образование костной мозоли началось быстрее, чем у тех, кто получал стандартное лечение.

Ещё одно экспериментальное исследование на собаках выявило, что местное введение сочетания PRP с аскорбиновой кислотой и глюкозой существенно ускоряет заживление переломов тазобедренной области в ранний посттравматический период [13].

Наибольшее применение обогащенная тромбоцитарная плазма нашла в стоматологической практике. Для улучшения качества и объёма новообразующейся костной ткани при операциях по увеличению размера альвеолярной области верхней челюсти предлагается применять обогащённую тромбоцитами плазму (PRP) одновременно с пересадкой собственной костной ткани пациента и использованием различных остеозамещающих материалов. Ключевым механизмом регенерации является улучшение кровоснабжения тканей за счёт активации процесса образования новых сосудов (ангиогенеза), вызванного разрушением тромбоцитов и высвобождением ими факторов роста. Именно в

обогащённой тромбоцитами плазме содержатся полипептидные факторы роста в строго определённых природой пропорциях, что обеспечивает эффективное восстановление костной ткани [67, 72, 127, 134].

По данным литературы стволовые клетки, полученные из жировой ткани, обладают остеогенным потенциалом и являются перспективным материалом для замещения костных дефектов. [111, 150]. Впервые группа исследователей под руководством Zuk et al. продемонстрировала, что человеческая жировая ткань является значительным источником мультипотентных стволовых клеток. Авторы сообщили, что из всего лишь 300 мл человеческого жира возможно выделить от 10 до 20 миллионов клеток, которые получили обозначение «стволовые клетки обработанного липоаспирата» [89]. Методика, предложенная авторами, предполагала следующий порядок действий: жировая ткань, добытая путем липосакции, измельчалась и обрабатывалась ферментативным агентом — коллагеназой. Конкретнее, частицы жировой ткани инкубировались при температуре тела (37 °C) в 0,075-процентном растворе коллагеназы первого типа в течение 30 минут. Эта процедура позволяла разделить жировую ткань на отдельные компоненты. Последующая центрифуга полученной суспензии привела к её расслоению на две фракции: верхний прозрачный слой содержал зрелые жировые клетки (адипоциты), нижний слой состоял преимущественно из клеток с примесями кроветворных элементов. Чтобы очистить полученную суспензию от ненужных примесей, исследователи предприняли дополнительные шаги. Эритроциты удалялись путем обработки лизирующим раствором хлорида аммония, а остальные клетки крови, обладавшие низким уровнем адгезивности, устранялись в ходе процедуры переведения клеток в состояние покоя [25, 81].

Позже американский исследователь M. Rodbell провёл более глубокое изучение строения жировой ткани, применяя механические и биохимические методики. С помощью механических способов дробления, энзиматического гидролиза и дифференциального центрифугирования он смог выделить две ключевые фракции жировой ткани: зрелые адипоциты и более компактную клеточную массу, которую назвал стромально-сосудистой фракцией (ССФ).

Дальнейшие исследования показали, что эта стромально-сосудистая фракция неоднородна по своему составу и включает разнообразные типы клеток: клетки крови, фибробласты, перициты, эндотелиальные клетки и преадипоциты. Оказалось, что именно эта фракция богата мезенхимальными стволовыми клетками, которые имеют огромный потенциал для превращения в клетки различного происхождения, в зависимости от внешних условий. Таким образом, жировая ткань оказалась уникальным ресурсом, предоставляющим значительный запас универсальных стволовых клеток, способных преобразовываться в различные типы клеток в организме [31].

Основным преимуществом данных клеток являются доступность и простота получения клеток, а также их пролиферативная активность, не зависящая от возраста донора. Экспериментально показано, что после удаления зуба и восстановления костной ткани с использованием мультипотентных стволовых клеток жировой ткани через 4 месяца определяется увеличение высоты кортикальной пластинки. Морфологически формируется костная ткань трабекулярного строения [36, 60, 71, 105].

Несмотря на достигнутые результаты, в применении клеточных технологий нерешенными остаются вопросы фиксации культуры клеток (в ходе операции) в области дефекта, а также ограничение вероятности миграции по организму клеток (в послеоперационном периоде). Одним из решений данной проблемы является применение клеток, помещенных на носители на основе природных полимеров (скаффолды) [38, 96].

Скаффолды – это трехмерные конструкции с пористой структурой, предназначенные служить механическим каркасом для клеток и создавать благоприятные условия для их жизнедеятельности и специализации. Чаще всего для создания таких конструкций используются природные полимеры, среди которых наиболее популярны коллаген, хитозан, эластин, целлюлоза, гиалуроновая кислота, альгинат, фибрин и желатин. Преимуществом природных материалов является наличие естественных сигналов, способствующих прикреплению клеток и облегчающих интеграцию трансплантата в тело

реципиента. Полимеры легко перерабатываются клетками хозяина, позволяя регулировать их форму и пористую структуру при изготовлении скаффолдов [14].

Наиболее популярным материалом для создания скаффолдов считается коллаген. Представляющий собой фибриллярный белок, коллаген играет ключевую роль в структуре соединительных тканей, обеспечивая эластичность и прочность тканей организма [116]. Коллаген характеризуется волокнистой структурой, что позволяет его использовать в качестве скаффолда, и высокой способностью к адгезии. Материалы на основе коллагена хорошо сочетаются с другими компонентами (МСК, гидроксиапатит, трикальций фосфат) и биологически совместимы [63, 65]. Коллаген может быть использован в различных формах: желатиновой, денатурированной, нативной, а также за счет технологического процесса обработки возможно получение скаффолдов различной структуры пористых или волокнистых [38, 85, 141].

Недостатком данного материала является быстрая биорезорбция за счет воздействия на белковую структуру коллагена специфических коллагеназ. Коллаген обладает низкими механическими свойствами, что является недостатком для применения коллагена в качестве скаффолда [55, 75, 117].

Фибронектин – это природный белок, составляющий структуру межклеточного матрикса. Он абсолютно нетоксичен и не вызывает воспалительных реакций. Основная функция фибронектина – формирование межклеточного вещества и обеспечение связей между белковыми и углеводными компонентами. Его свойство способствовать адгезии клеток обусловлено способностью взаимодействовать с транспортными белками [47]. Тем не менее, известны случаи возникновения аллергии при использовании фибронектина в стоматологической практике [115].

Альтернативным материалом, применяемым в качестве скаффолда является целлюлоза по своей структуре, которая является природным полисахаридом и входит в состав клеточных стенок растений [80, 145]. Материал на основе целлюлозы имеет высокую прочность и гидрофильность, обладает биосовместимостью и способствует адгезии клеток [102, 107]. Целлюлоза

устойчива к растяжениям и легко подвергается механической обработки [54]. Недостатком данного материала является низкая скорость биodeградации, за счет плотной структуры целлюлозы и отсутствия ферментов у человека, отвечающих за расщепление [95, 104, 106].

Широкие перспективы для применения в качестве скаффолда открыл хитозан, представленный производным полисахарида молекулы которого представлены β -(1-4)-D глюкозамина и ацетил-D-глюкозамина. Хитозан выделяют из хитина ракообразных или стенки грибов путем нагревания и обработки щелочным раствором [100]. Хитозан является биodeградируемым материалом, что позволяет использовать данный материал в практической медицине и тканевой инженерии в качестве скаффолда для фиксации клеточной культуры и различных биологических компонентов. Материал на основе хитозана обладает противомикробными и антибактериальными свойствами, высокой биосовместимостью и иммунотолерантностью [40, 56, 64, 153]. Недостатком данного материала является недостаточная механическая прочность, что является важным критерием при выборе скаффолда. [38].

В качестве пластического материала для замещения дефектов костной ткани используются композиционные костно-пластические материалы или композиты – это смесь (композиция) нескольких синтетических и/или биологических материалов для придания им синергичных свойств. Применяются разновидности композиционных материалов в виде гранул, лент, блоков, состоящих, например, из смеси гидроксиапатита (от 30 до 50 %) и связующих биополимеров, в основном коллагена. Одним из самых распространенных композиционных костно-пластических материалов является смесь на основе хитозана и коллагена [49, 84].

Продукты, созданные на основе хитозана и коллагена, нашли широкое применение в тканевой инженерии, выступая в роли каркасов для выращивания новых тканей [48, 59, 70]. Известны изделия вроде медицинских повязок, пористых губок и мембран, изготавливаемые методом лиофильного высушивания. Некоторые исследователи создали сетчатые структуры из волокон

хитозана и коллагена, используя технологию электроспиннинга [42, 57, 92]. Такие композиции можно дополнить разными веществами, придавая им противомикробные или ранозаживляющие свойства. Материалы из хитозана и коллагена улучшают прилипание и деление как первичных, так и перевиваемых культур фибробластов. Были проведены исследования, показавшие, что хитозан-коллагеновые губки увеличивают секрецию цитокинов этими клетками [48]. Другие учёные изучали хитозан-коллагеновые каркасы вне живого организма и на животных моделях, отмечая активное появление новых сосудов в развивающихся тканях и быстрое затягивание ран. Дополнительные опыты подтвердили ускорение деления клеток и усиленную клеточную адгезию кератиноцитов в лабораторных условиях [130, 152].

Композиционные костнопластические материалы ценятся главным образом за свою гибкость и удобство в использовании: их размеры можно легко адаптировать прямо во время операции, а сами материалы достаточно пластичны для точного заполнения дефектов костной ткани. Коллаген, входящий в их состав, частично усваивается организмом и становится строительным элементом новой костной ткани. Вместе с тем существуют недостатки: зачастую доля органического компонента значительно превышает потребности организма в образовании новой кости, кроме того, используемые виды коллагена могут вызывать нежелательные иммунные реакции.

Научные публикации предлагают сравнить эффективность материалов на основе разных полимеров (коллаген, хитозан, альгинат, фибрин) в комбинации с трикальцийфосфатом. Исследование показало, что материалы на основе хитозана и альгината хорошо совместимы с человеческим телом, быстро рассасываются и способствуют процессу заживления костной ткани. Но, несмотря на положительные качества, остаточные элементы этих материалов, такие как хитин (хитозан) и полифенолы (альгинат), замедляют восстановление кости. Фибрин лишен этих проблем: при его расщеплении образуются соединения, активизирующие работу макрофагов, фибробластов и капилляров, а центр гранул трикальцийфосфата успешно замещается новообразованной костной тканью [90].

Комбинация гидроксиапатита с коллагеном ускоряет регенерацию кости, поскольку коллаген имеет хорошую биосовместимость и усиливает сцепление клеток [4].

Хотя использование в терапии носителей (скаффолдов) решает проблему миграции стволовых клеток из зоны дефекта, все-таки, остается риск неконтролируемой дифференцировки клеток, вплоть до развития онкологического заболевания.

Это привело к возникновению потребности в разработке методик, основанных на применении клеток с управляемой направленной дифференцировкой. Среди таких клеток особый интерес представляют клетки, произошедшие из нервного гребня, такие как клетки зубной пульпы, периодонтальной связки, зубного сосочка, а также клетки слизистой оболочки полости рта. МСК, культивированные из пульпы зачатка зуба или пульпы удаленного зуба способны обладают высокой пролиферативной активностью и способны дифференцироваться в остеогенном направлении [73, 125].

Исследования показали, что стволовые клетки слизистой оболочки нёба демонстрируют высокие регенеративные возможности, способные активизировать экспрессию костных маркеров и стимулировать остеогенез, особенно эффективно проявляясь при лечении остеопороза у лабораторных животных [87]. При сопоставлении остеогенного потенциала мезенхимальных клеток слизистой ротовой полости и костного мозга выяснилось, что клетки слизистой характеризуются более высоким уровнем размножения и лучшей способностью прикрепляться к подложке, хотя по остальным параметрам, таким как способность к остеогенной дифференцировке и иммунофенотипическому профилю, существенных различий выявлено не было.

Отдельного внимания заслуживают стволовые клетки, изолированные из зубного фолликула, обладающие уникальной способностью превращаться в специализированные клетки тканей пародонта. Экспериментально доказано, что на дифференциальной питательной среде клетки зубного фолликула формируют специализированные клеточные популяции уже через две недели [86].

Исследователи отмечают, что сочетание мезенхимальных стволовых клеток дентального сосочка с богатой тромбоцитами плазмой обеспечивает значительную регенерацию костной ткани уже на четвёртой неделе эксперимента, а на восьмой неделе формируются полноценные зрелые губчатые костные структуры с обширными участками костного мозга. Несмотря на высокий потенциал этих клеток, длительные сроки адаптации и потребность в длительном процессе синтеза матрикса, характерных протеогликанов и коллагена требуют разработки новых технологий тканевой инженерии [34, 39, 83].

Сегодня значительное внимание уделяется методикам тканевой инженерии, применяемым для создания тканевых трансплантатов. Примером служит, разработанный профессором А. М. Зайдман, трехмерный тканевый инженерный остеотрансплантат, изготовленный путем направленной дифференцировки клеток [23].

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материал исследовательской работы

С целью изучения морфологических особенностей регенерации кости дефекта нижней челюсти при введении хондротрансплантата и остеотрансплантата проведено экспериментальное исследование на 120 самцах крыс линии Wistar, возрастом 3 месяца, массой 300 г (Рисунок 1). Проведение экспериментального исследования основывалось на соблюдении норм, установленных Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации, а также соответствующих российских нормативных актов, утвержденных Приказом Министерства здравоохранения РФ №226 от 19 марта 2003 года, регламентирующих работу с лабораторными животными.



Рисунок 1 – Экспериментальное животное, крыса линии Wistar

Проводилась имплантация костного аутоотрансплантата, трехмерного хондротрансплантата, трехмерного остеотрансплантата в сформированный дефект в проекции угла нижней челюсти (Рисунки 2 и 3). Исследование

проводилось на четырех группах животных, каждая из которых насчитывала по 30 особей (Таблица 1). Группы различались типом использованного пластического материала. В частности, первая группа получила костный аутоотрансплантат, представлявший собой фрагмент кортикальной кости размерами до 2,0 мм, полученный непосредственно во время операции при создании дефекта в области угла нижней челюсти. Во 2 группе использовался трехмерный хондротрансплантат, полученный *in vitro* (Рисунок 4), в 3 группе использовался трехмерный остеотрансплантат, полученный *in vitro* (Рисунок 5). В 4 группе сформированный дефект не заполнялся, заживление происходило под кровяным сгустком.

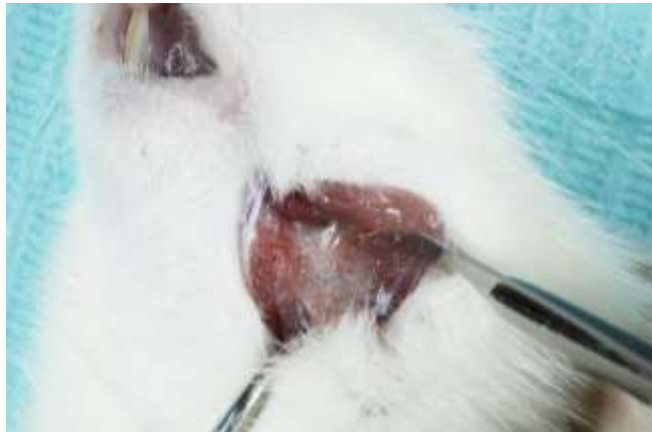


Рисунок 2 – Левосторонний доступ к углу нижней челюсти



Рисунок 3 – Сформированный дефект в области угла нижней челюсти



Рисунок 4 – Хондротрансплантат в культуральной среде



Рисунок 5 – Остеотрансплантат в культуральной среде

Таблица 1 – Структура эксперимента (крысы, n = 120)

№ экспериментальной группы животного	Имплантационный материал	Сроки наблюдения, (сутки)	Количество животных (шт)
I	Аутотрансплантат	14	5
		30	10
		90	10
		180	5
II	Хондротрансплантат	14	5
		30	10
		90	10
		180	5
III	Остеотрансплантат	14	5
		30	10
		90	10
		180	5
IV	Без заполнения (контрольная группа)	14	5
		30	10
		90	10
		180	5

Во время эксперимента ежедневно проводили мониторинг жизненных показателей животных. Животные в послеоперационный период содержались в одинаковых условиях, с одинаковыми условиями питания. В течение 1 часа наблюдение проводилось каждые 15–20 минут, далее раз в 1–2 часа до способности животного самостоятельно есть корм и пить воду. В течение первых суток отмечалась вялость животных, отказ от пищи. В последующий период увеличивалась активность животных. К концу третьих суток животные полностью восстановились. Заживление ран происходило первичным натяжением. Швы резорбировались в течение 21 дня. По истечению сроков наблюдения животных выводили из эксперимента, извлекали костную ткань в области сформированного дефекта, органы иммунной системы, герметично упаковывали в транспортную

среду, доставляли для проведения исследований.

2.2 Модель эксперимента

С целью изучения морфологических особенностей регенерации дефекта кости челюсти в области угла нижней челюсти при замещении хондротрансплантатом и остеотрансплантатом в сравнении с остеогенезом на основе аутоотрансплантатом сформированы 4 модели (Рисунок 6).

- *1 группа:* модель дефекта сформирована в области угла нижней челюсти диаметром 2,5 мм и заполнена костным аутоотрансплантатом.
- *2 группа:* модель дефекта сформирована в области угла нижней челюсти диаметром 2,5 мм и заполнена трехмерным хондротрансплантатом.
- *3 группа:* модель дефекта сформирована в области угла нижней челюсти диаметром 2,5 мм и заполнена трехмерным остеотрансплантатом.
- *4 группа (контроль):* модель дефекта сформирована в области угла нижней челюсти диаметром 2,5 мм без заполнения дефекта.



Рисунок 6 – Модель дефекта нижней челюсти

2.3 Методика оперативного вмешательства

Экспериментальное исследование проводилось в специализированном виварии под наркозом «Домитор» 1 мг/мл, животному весом 300 г вводили 0,3 мл. Через 5–10 минут вводили «Золетил» в дозе 50 мг/мл на 100 г веса – 1,25 мг вещества на 300 г (1,25 мл раствора). Исследование проводилось с соблюдением всех правил и норм асептики и антисептики.

2.3.1 Методика оперативного вмешательства животных 1-й группы при замещении дефекта аутотрансплантатом

Во время оперативного вмешательства для доступа к угловой области нижней челюсти животного закрепляли в позиции лежа на боку. В проекции угла нижней челюсти производили надрез длиной 5 миллиметров с помощью скальпеля. Используя медицинский инструмент (распатор), аккуратно отслаивали жевательную мышцу, открывая доступ к кости нижней челюсти. Специальным шаровидным бором с непрерывным водяным охлаждением создавали костный дефект диаметром 2,5 миллиметра на расстоянии 3 мм выше нижнего края челюсти с наружной (вестибулярной) стороны. Животным 1 экспериментальной группы дефект заполняли костным аутотрансплантатом, представленный фрагментами кости, полученными интраоперационно. После трансплантации остеопластического материала укладывали гемостатическую губку с целью фиксации трансплантата в области дефекта. На рану послойно накладывали швы («Vicryl» 5.0).

2.3.2 Методика оперативного вмешательства животных 2-й группы при замещении дефекта хондротрансплантатом

Во время оперативного вмешательства для доступа к угловой области нижней челюсти животного закрепляли в позиции лежа на боку. В проекции угла нижней челюсти производили надрез длиной 5 миллиметров с помощью скальпеля. Используя медицинский инструмент (распатор), аккуратно отслаивали жевательную мышцу, открывая доступ к кости нижней челюсти. Специальным шаровидным бором с непрерывным водяным охлаждением создавали костный дефект диаметром 2,5 миллиметра на расстоянии 3 мм выше нижнего края челюсти с наружной (вестибулярной) стороны. Животным 2 группы дефект заполняли хондротрансплантатом. Трансплантационный материал плотно прилегал к краям дефекта за счет трехмерной структуры и эластичной консистенции. На рану послойно накладывали швы («Vicryl» 5.0).

2.3.3 Методика оперативного вмешательства животных 3-й группы при замещении дефекта остеотрансплантатом

Животным третьей группы костный дефект заполняли остеотрансплантатом. Благодаря трехмерному строению и упругой консистенции трансплантат плотно соприкасался с краями образовавшегося отверстия. Перед наложением швов («Vicryl» 5.0) жевательную мышцу возвращали на место поверх остеотрансплантата, расположенного в области дефекта нижней челюсти.

2.3.4 Методика оперативного вмешательства животных 4-й группы без заполнения дефекта

У животных четвертой группы (контрольной) искусственно созданный дефект кости нижней челюсти диаметром 2,5 мм оставался незаполненным. На

поверхность дефекта помещали жевательную мышцу, после чего накладывали швы нитью «Vicryl» калибра 5.0.

2.4 Забор и хранение материалов

Сроки наблюдения после оперативного вмешательства проводили в 14, 30, 90 и 180 дней. По окончании экспериментального наблюдения животных выводили путем эвтаназии используя углекислый газ (CO₂). В данные сроки визуально оценивали наличие дефекта, выраженность гипертрофии мягких и твердых тканей в области трансплантации. После чего изымали костную ткань в области сформированного дефекта (Рисунок 7а, 7б).





Рисунок 7 – Забор фрагмента нижней челюсти и органов иммунной системы

2.5 Методы исследования

В исследовании были применены методы:

- 1) морфологический метод использовался с целью определения структуры кости регенерата и определение его клеточного состава;
- 2) электронная микроскопия использовалась с целью подтверждения тканевой принадлежности трансплантатов;
- 3) КЛКТ – конусно лучевая компьютерная томография с целью определения плотности регенерата и интактной кости нижней челюсти;
- 4) иммунофлуорисцентный анализ использовался с целью подтверждения тканевой принадлежности;
- 5) полимеразная цепная реакция (ПЦР) использовалась с целью подтверждения тканевой принадлежности;
- 6) морфометрический метод использовался с целью определения количества клеток и сосудов в области замещения дефекта;

7) метод статистического анализа использовался с целью оценки достоверности полученных данных.

2.5.1 Морфологический метод

Выделенные макропрепараты фиксировали в забуференном 10 % растворе формалина в течение трех суток, проводили декальцинацию в растворе Трилона «Б», изготавливали парафиновые блоки, производили срезы толщиной 5 мкм, окрашивали методом гематоксилин-эозином. Анализ полученных результатов производили с использованием микроскопа «Carl Zeiss EVO – 50».

2.5.2 Электронная микроскопия

Ультраструктурное строение клеток полученных трансплантатов оценивали методом электронной микроскопии. Для этого трансплантаты после фиксации препаратов в параформе, помещали в эпонаралдит. На ультратоме производили ультратонкие срезы, полученные срезы подвергали контрастированию (уранилацетатом). Готовые препараты анализировали с помощью электронного микроскопа «НІТАСНІ 600».

2.5.3 Конусно-лучевая компьютерная томография для исследования плотности кости

При исследовании плотности кости оценивали показатели плотности в трех точках – центральная зона дефекта (Т1), периферическая зона дефекта (Т2), данная зона располагается на границе с ложем реципиента и зона интактной кости угла нижней челюсти (Т3) (Рисунок 8).

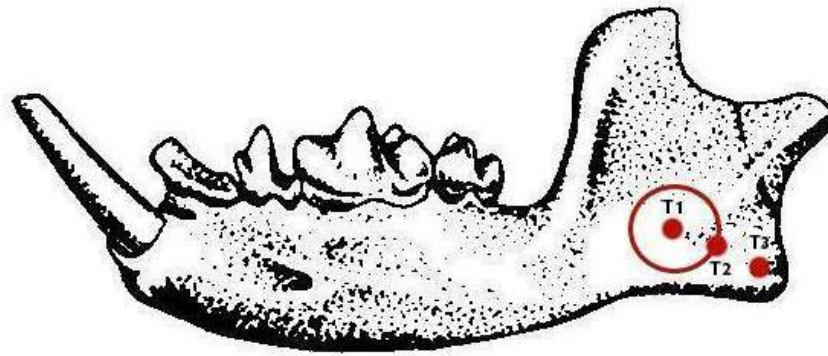


Рисунок 8 – Точки (зоны) измерения плотности кости нижней челюсти

Животным после выведения из экспериментального исследования проводили рентгенологическое исследование в виде конусно-лучевой компьютерной томографии на 3D-томографе KaVo 3D OP 300 Maxio (Германия). В полученных сканах проводили измерение плотности кости в трех точках в программе OnDemand 3D.

Конусно-лучевая компьютерная томографию является современным методом диагностики твердых структур. Данный метод основан на способности тканей в разной степени поглощать рентгеновское излучение в зависимости от своей структуры. Конусно-лучевые томографы обладают подвижной рентгеновской трубкой и конусной формой генерируемого пучка излучения, за счет чего сканирование проводится одномоментно во всех плоскостях, получая послойное трехмерное изображение, на котором возможно четко производить замеры, определять форму и характер той или иной структуры. В процессе построения изображения каждому пикселю определяется числовое значение, выраженное в единицах ослабления (единицах Хаунсфилда), которое определяется тем, насколько ослабляется луч по отношению к дистиллированной воде, проходя через данную единицу объема, показывая, таким образом, ориентировочную плотность структуры организма (Рисунок 9).



Рисунок 9 – Шкала единиц плотности по Хаунсфилду (HU)

По полученным результатам КЛКТ оценивали качество костной ткани по Классификация Misch, которая предусматривает четыре категории, различающиеся по толщине и плотности [110]:

- 1) D1 – толстый слой плотной компактной кости с показателем плотности $\geq 1\,250$ HU;
- 2) D2 – толстая кость с наличием пористого компактного вещества и развитым губчатым веществом, плотность варьируется от 850 до 1 250 HU;
- 3) D3 – тонкий слой кости с пористым компактным веществом и рыхлым губчатым веществом, плотность колеблется в пределах от 350 до 850 HU;
- 4) D4 – тонкая, рыхлая компактная кость с плотностью ≤ 350 HU.

2.5.4 Иммунофлуоресцентный анализ

При проведении исследования методом иммунофлуоресценции трансплантаты подвергались фиксации в растворе 4 % формальдегида на протяжении 12 часов при низкой температуре $+4\,^{\circ}\text{C}$. Затем осуществляли трехкратную промывку образцов в фосфатном буфере и последующую обработку в среде PBS, дополненной 30 % сахарозой, продолжительностью 24 часа при той же температуре ($+4\,^{\circ}\text{C}$). Подготовленные образцы подвергали заморозке при

минусовых температурах (-20°C) с использованием специального реагента «Tissue-Tek OCT Compound» производства фирмы «Sakura». Для дальнейшего анализа использовали микротом «Microm HM 505», позволяющий получать тонкие срезы ткани толщиной от 8 до 10 мкм, которые размещали на предварительно подготовленных предметных стёклах, покрытых слоем, поли-D-лизина. Что касается клеток, предназначенных для иммунохимического окрашивания, то они были предварительно выращены непосредственно на поверхности тех же предметных стёкол. Процедура включала фиксацию препаратов в растворе 4 % формалина в течение десяти минут, далее переход в среду с содержанием 0,4 % Тритона X-100 на четверть часа и двукратную тщательную промывку в фосфатном буфере (PBS) дважды по четверти часа каждая процедура. Следующим этапом была обработка препаратов блокирующим раствором (бычий сывороточный альбумин в концентрации 25 мг/мл, разбавленный на 10 % бычьей сывороткой в PBS) в течение получаса, последующее двухчасовое воздействие первичными антителами и однократная часовая экспозиция вторичных антител. Иммунохроматографический анализ выполнялся с применением различных специфических антител, направленных против таких молекул, как агрекан (ab3778-1), коллаген II типа (ab3092), фибронектин (ab6328), белок SOX9 (Epr14335-7), остеонектин (NCL-O-Nectin, окраска красным цветом), рецептор CD44 (14-0441-82, зелёная маркировка), а также коллаген I типа (ab34710, тоже окрашен зелёным пигментом). Завершающим этапом каждого этапа иммунной реакции было повторное двукратное полоскание препаратов в фосфатном буфере PBS по четверти часа каждое полоскание. Анализ полученных результатов проводился с использованием среды «Vectashield Mounting Medium», содержащей вещество DAPI, с последующей визуализацией под флуоресцентным микроскопом модели «Nikon X100» [30].

2.5.5 Полимеразная цепная реакция

Хондробласты служили источником выделения иРНК, которое проводилось с использованием метода TRIZOL. Полученный раствор РНК очищался от примеси ДНК путем добавления фермента ДНК-аза и соответствующего буфера. Смесь инкубировалась при температуре 37 °С на протяжении 30 минут. Затем добавлялся равный объем фенола и снова тщательно перемешивался. Чтобы завершить процесс разделения фаз, вводился хлороформ, после чего препарат центрифугировался пять минут. Водную фракцию осторожно переносили в новую стерильную пробирку, туда же добавляли эквивалентный объем изопропанола и оставляли на десять минут. Осадок промывался смесью, состоящей из 75 % этилового спирта, после чего вновь центрифугировался в течение пяти минут. После высушивания осадок растворялся в воде и дополнительно выдерживался при температуре 55 °С на протяжении десяти минут перед началом следующей стадии – обратной транскрипции. Процесс инициировался предварительным нагреванием раствора с добавлением олигонуклеотидных праймеров (Oligo d(T) при температуре 70 °С в течение пяти минут, последующим быстрым охлаждением и небольшим встряхиванием. Затем последовательно добавлялись компоненты для проведения обратимой транскрипции, включая специальный буфер, набор нуклеотидов и фермент M-MTLV, после чего реакционная смесь инкубировалась один час при температуре 37 °С. Генетические фрагменты исследуемых белков, такие как агрекан и контрольный ген GAPDH, определялись методом мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР). Использовался аппарат «Терцик», обеспечивающий оптимальные условия для всех этапов процесса. В состав реактивов входили необходимые компоненты, такие как дезоксинуклеотиды, специальные праймеры и термостабильная ДНК-полимераза. Проводилась предварительная денатурация ДНК при высокой температуре (95 °С), после чего следовало циклическое проведение реакций денатурации, отжига и удлинения цепи ДНК. По завершении процесса продукты реакции анализировались методом электрофореза в агарозном геле, позволяющем

визуально оценить размер и количество синтезированных фрагментов ДНК. Гель сканировался в ультрафиолете для детекции интересующих полос. Используемые праймеры соответствовали генам агрекана и GAPDH человека [30].

2.5.6 Морфометрические исследования

При проведении морфометрических исследований структуры кости в области дефекта нижней челюсти оценивали численность кровеносных сосудов и количество клеточных элементов остеогенного ряда на единицу площади среза. Для подсчета использовался квадрат площадью 10^5 мкм², общее количество клеток принимали за 100 % после чего определяли относительное количество клеток остеогенного ряда в данном квадрате.

2.5.7 Статистическая обработка данных

Полученные данные плотности кости обработаны и проанализированы с использованием статистики методов. Статистическая оценка различий между групповыми показателями проводилась с использованием критерия Манна – Уитни, предназначенного для выявления значимых отличий между двумя несвязанными выборками. Если речь шла о сравнении одной пары показателей, то отличия считались достоверными при значении P меньше 0,05. При анализе множества сравниваемых пар применялась поправка Бонферрони, согласно которой порог уровня значимости делился на число проведенных сравнений. Так, для случая с тридцатью парами сравнения, критическое значение P составило $0,05 / 30 = 0,01666$.

Данные морфометрии структурных компонентов (остеогенные клетки, сосуды) получены и обработаны с использованием описательной статистики. Межгрупповое сравнение производили с использованием критерия Краскала – Уоллиса, при котором сравниваются средние значения в трех и более выборках.

Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью программного обеспечения IBM SPSS Statistics (версия 21.0).

2.6 Характеристика аутотрансплантата и его получение

Аутотрансплантат представлен в виде кортикальной части кости, размером до 2,0 мм, полученной интраоперационно во время формирования дефекта в области угла нижней челюсти. Основными компонентами аутотрансплантата являются остеогенные клетки, минерализованный межклеточный матрикс и миелоидная ткань красного костного мозга.

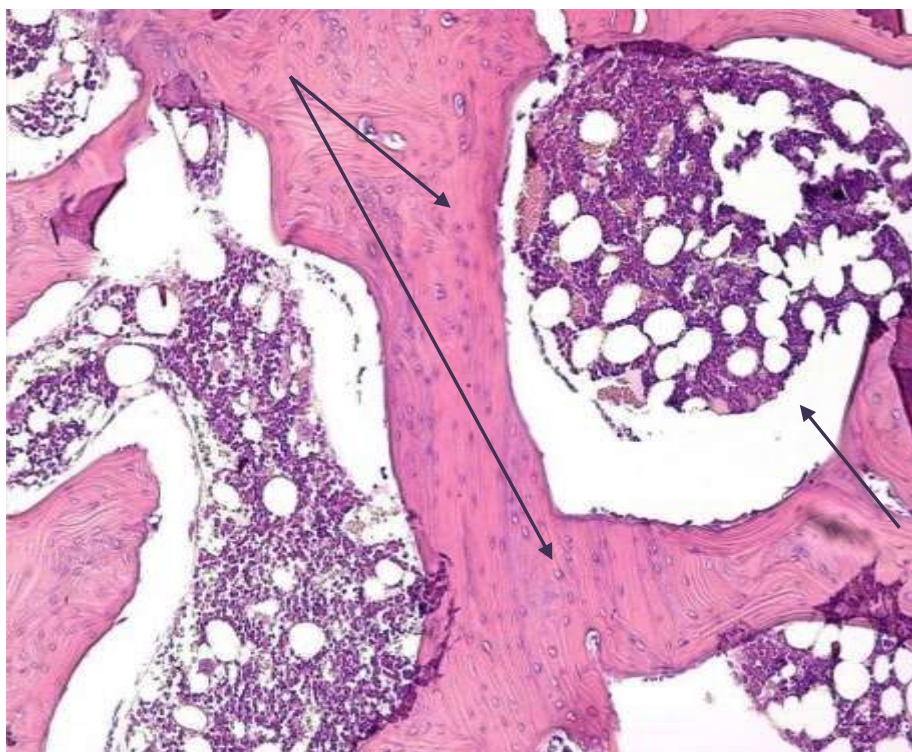


Рисунок 10 – Компоненты аутотрансплантата: сформированные костные балки, миелоидная ткань красного костного мозга. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$

2.7 Характеристика хондротрансплантата и его получение

Культивирование хондротрансплантатов происходило следующим образом: исходным материалом выступали хондробласты, полученные из позвоночника новорожденных свиней в стерильной камере. Измельченный хрящ обрабатывали раствором коллагеназы в течение 5–8 часов в инкубаторе. Полученная таким образом взвесь проходила фильтрацию через нейлоновый фильтр и последующую очистку путём центрифугирования при скорости вращения 1 500 оборотов в минуту в течение 10 минут. После этого клетки высаживались в специализированную питательную среду ДМЕМ/F12 в пропорции 1 : 1, куда добавлялась плазма эмбрионов крупного рогатого скота в объёме 20 %. Температура культивации составляла 37 градусов Цельсия, плотность посадки клеток достигала 3×10^5 клеток на миллилитр. Периодичность обновления культуральной среды предусматривалась каждые трое суток, а разделение клеток производилось дважды в неделю с уменьшением количества клеток вдвое-трое. При достижении определённой плотности культуры (около 60 миллионов клеток) происходила дополнительная очистка клеток с помощью смеси растворов трипсина и ЭДТА, после чего клетки отделялись центрифугированием при скорости 2 000 оборотов в минуту на протяжении 10 минут. Собранные клетки засеивали в лунки планшета объёмом шесть лунок, используя среду RPMI 1 640 с добавлением 10 % сыворотки плода телёнка. Срок выращивания составлял от четырёх до шести недель, среда обновлялась дважды в неделю. Подтверждение успешности формирования хондротрансплантата осуществлялось несколькими методами: морфологическим наблюдением, иммунофлуоресцентным анализом и полимеразной цепной реакцией (ПЦР) [23].

Основными структурными компонентами хондротрансплантата являются клетки, представленные хондробластами различной стадии дифференцировки и внеклеточным матриксом (Рисунок 11). Хондробласты имеют мелкие размеры, крупное овальное ядро, окруженное узким ободком цитоплазмы. В цитоплазме определяются хондроитинсульфаты и гликоген. В ядре визуализируется от 1 до

2 ядрышек. Основной объем цитоплазмы занимает эндоплазматическая сеть. Аппарат Гольджи расположен в преобласти ядра и контактирует с эндоплазматической сетью. Овальные по форме митохондрии имеют плотный матрикс и контурирующие кристы. Местами определяются лизосомы и фагосомы (Рисунок 12) [30].

Второй тип клеток имеют круглую форму, в цитоплазме визуализируются хондроитинсульфаты, гранулы гликогена. Клетки окружены гликозаминогликанами в высокой концентрации. В центральной части клетки круглое ядро, визуализируются полиморфные митохондрии. Цитоплазма клеток содержит широкую эндоплазматическую сеть и равномерно располагающийся аппарат Гольджи. Вокруг клеток в гомогенном матриксе отмечаются протеогликаны.

Хондротрансплантат содержит крупные клетки овальной формы, в цитоплазме которых отмечаются хондроитинсульфат и гликоген. Клетки имеют периферически расположенное ядро, развитой эндоплазматической сетью и многочисленными эндо- и экзо- везикулами. Клетки локализуются в лакунах и идентифицированы как хондробласты на разной стадии дифференцировки. Клеточная мембрана имеет на поверхности множество отростков. Встречаются двуядерные клетки. Митохондрии овальной формы, содержат просветленный матрикс и контурирующие кристы [30].

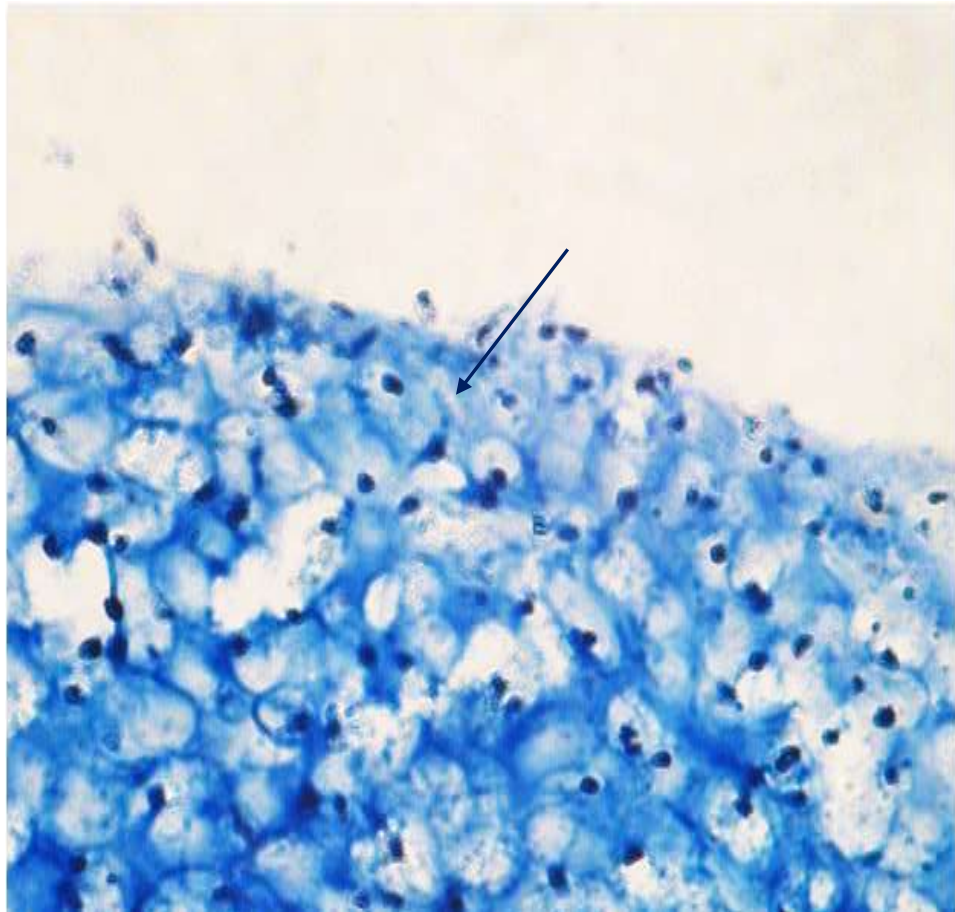


Рисунок 11 – Компоненты хондротрансплантата – клетки и межклеточный матрикс содержат высокополимерные протеогликаны.

Окраска альциановый синий, $\times 200$

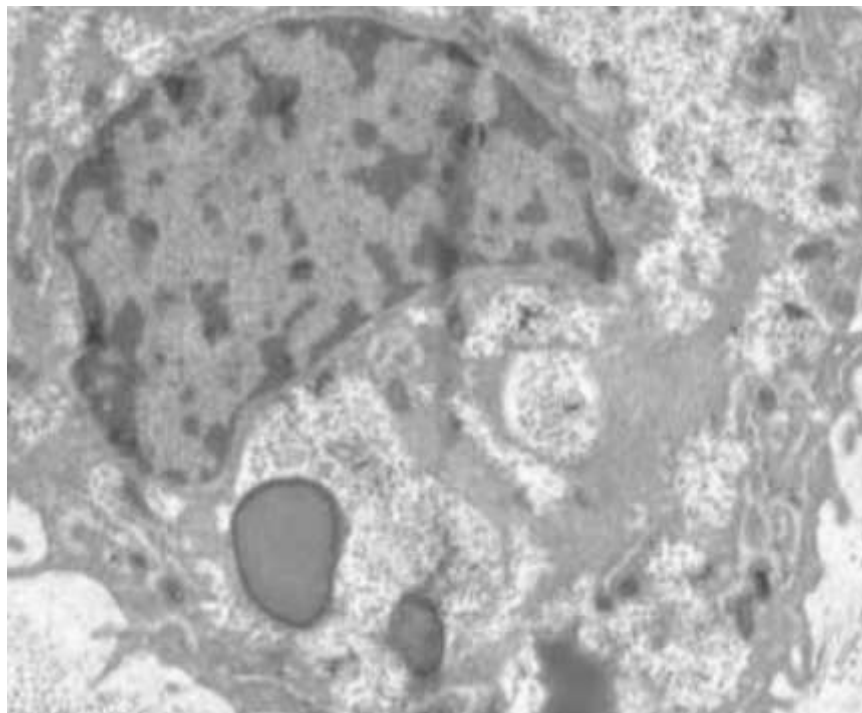


Рисунок 12 – Хондробласт из тканеинженерного хондротрансплантата.

Увеличение $\times 5\,000$

Хондротрансплантат содержит агрекан, коллаген II типа, фибронектин, в ядрах хондробластов – Sox9, что подтверждается методом иммунофлуорисцентного анализа (Рисунки 13, 14, 15 и 16) и ПЦР-реакции (Рисунок 17).

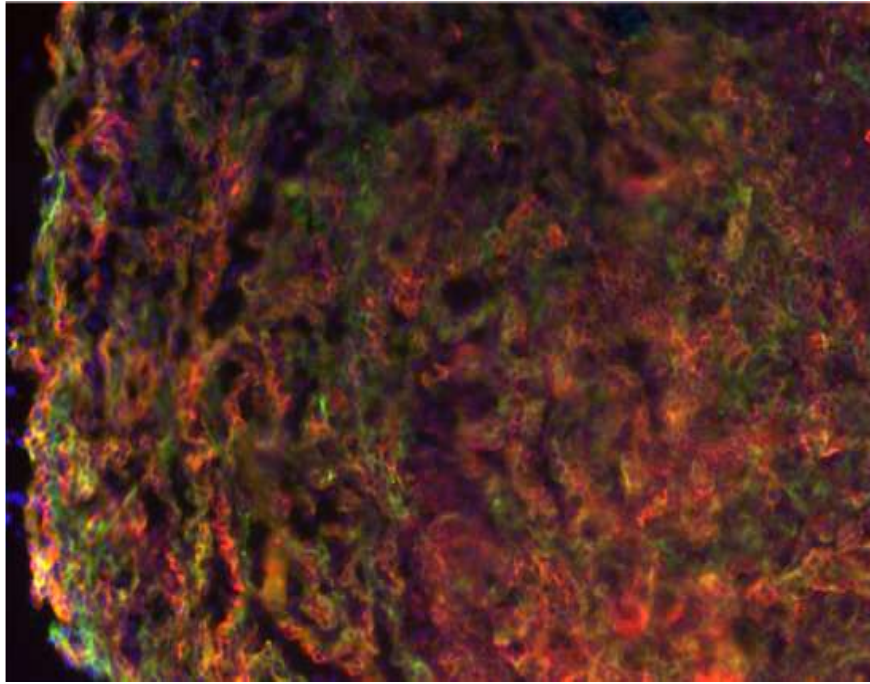


Рисунок 13 – Иммунофлуоресцентный анализ, антитела к коллагену II типа
(ab 3092, красный)

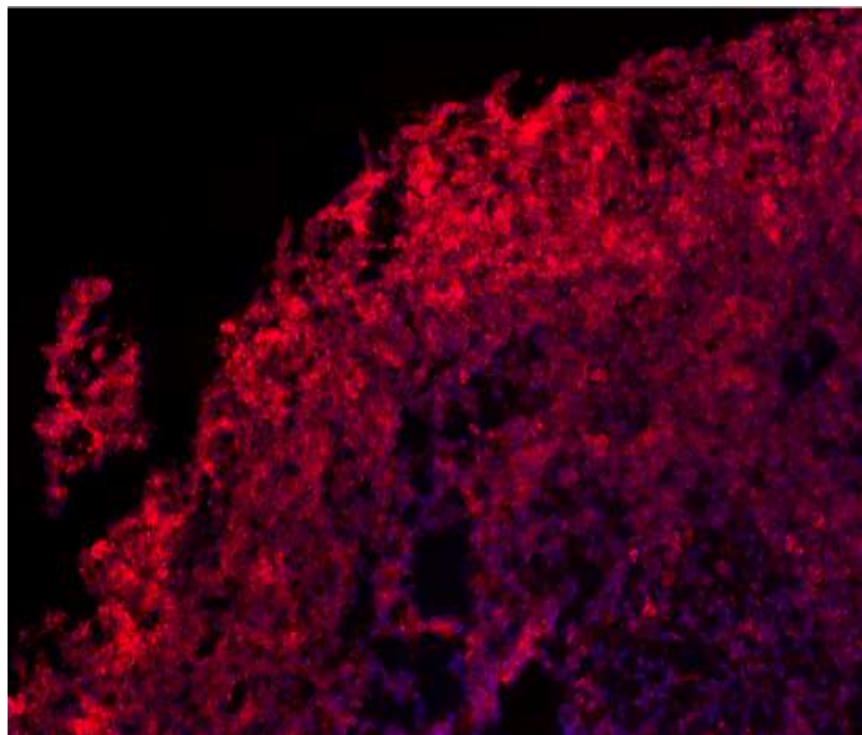


Рисунок 14 Иммунофлуоресцентный анализ, антитела к агрекану
(ab3778-1, красный)

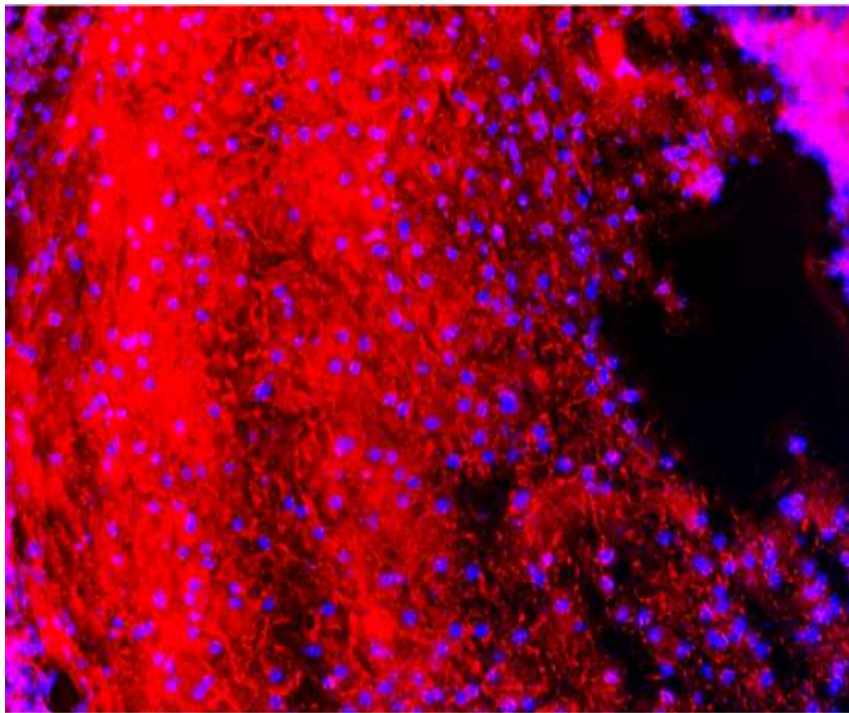


Рисунок 15 – Иммунофлуоресцентный анализ, антитела к фибронектину
(ab6328, красный)

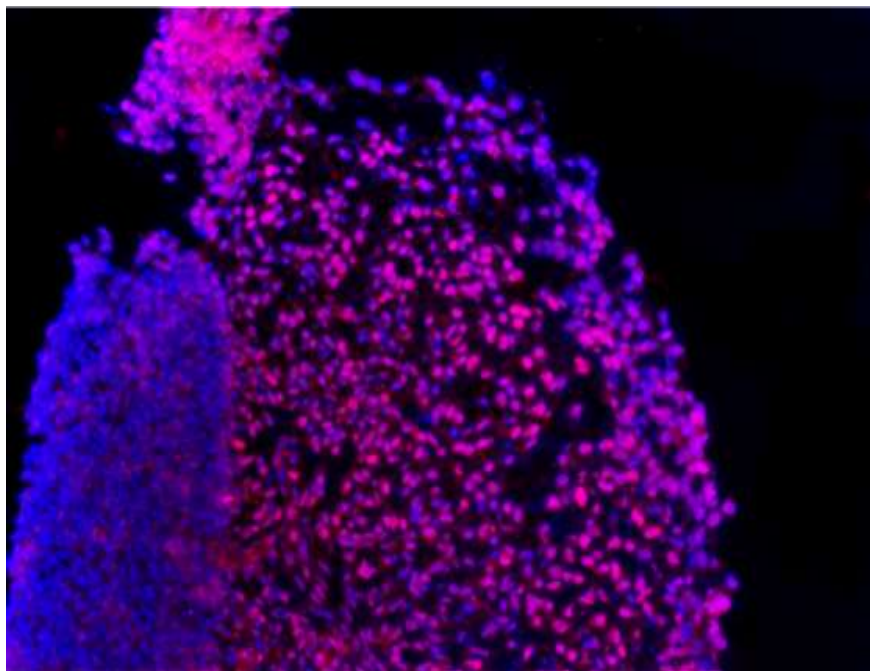


Рисунок 16 – Иммунофлуоресцентный анализ, антитела к Sox 9
(Epr14335-78, розовый)



Рисунок 17 – Экспрессия генов хондротрансплантата: агрекан (Acan), коллаген II типа (Col2), бигликан (Bgn), люмикан (Lum) и транскрипционный фактор SOX-9 (данные представлены $M \pm SD$, вертикальные отрезки).

2.7 Характеристика остеотрансплантата и его получение

Материалом для культивирования послужили хондробласты, извлечённые из позвоночных дисков новорождённого мини-поросёнка под общей анестезией. В асептических условиях в ламинарном шкафу извлекали пластины роста межпозвонковых тел, которые дважды омывались фосфатным буферным раствором и разрезались на мелкие кусочки в чашке Петри. Затем кусочки переносили в пробирки с раствором коллагеназы (концентрацией 1,5 %) в среде RPMI 1 640, дополненной 20 % фетальной бычьей сывороткой (FBS). Раствор инкубировали в течение 12 часов. Впоследствии суспензия дважды отмывалась от остатков коллагеназы фосфатным буфером, а клетки повторно разводились в фосфатно-солевом буфере (PBS). Оценка жизнеспособности хондробластов проводилась с помощью красителя трипан синего в специальной счётной камере

Горяева. Далее полученные хондробласты культивировали в инкубаторе при стабильной температуре 37 °С, относительной влажности воздуха 90 % и содержании углекислого газа 5 % в чашках Петри. Питательная среда состояла из RPMI 1 640, обогащённая 20 % FBS и антибиотиком гентамицин (1 г/л). Продолжительность культивирования составляла 3–4 недели. Затем клетки проходили процедуру пассажа с использованием смеси растворов 0,25 % трипсина и 0,02 % ЭДТА. Центрифугирование клеток проводилось при 2 000 об/мин в течение 10 мин. После отделения клеток их перенесли в 6-луночный планшет, где продолжали выращивать в среде с 10 % FBS ещё 4–6 недель, меняя питательную среду дважды в неделю до момента созревания хондротрансплантата.

Через семь дней после начала культивирования, в планшеты с готовым хондротрансплантатом вносили питательную среду DMEM-F12, содержащую 15 % FBS, антибиотики (пенициллин и стрептомицин), антигрибковое средство амфотерицин и индукторы остеогенеза (β -глицерофосфат, дексаметазон и аскорбиновая кислота). Дальнейшее культивирование осуществлялось в данной среде в течение трёх недель до полной трансформации хондротрансплантата в остеотрансплантат [120].

Дифференцировка хондротрансплантата, помещенного в культивированную среду с остеогенными индукторами, в остеотрансплантат происходит в несколько последовательных этапов. На поверхности трансплантата к 7–10 суткам в виде оболочки выстраиваются клетки мезенхимального происхождения по морфологическому строению которые имеют вытянутую форму, узкую цитоплазму и ацентрично расположенное ядро (рисунок 18). В матриксе хондротрансплантата определяются клетки, имеющие полигональную форму. Данные клетки содержат эозинофильные включения – сиалопротеины.

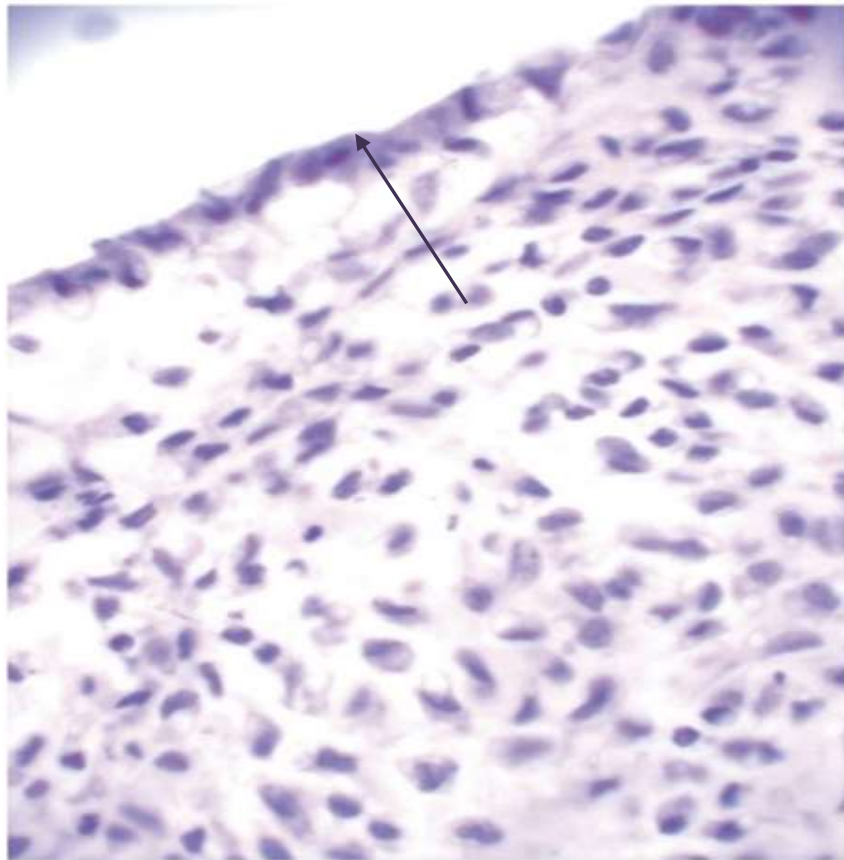


Рисунок 18 – Мезенхимальные клетки на поверхности остеотрансплантата - прототип будущей надкостницы, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$

Клетки трансплантата содержат включения, идентифицированы как гранулы щелочной фосфатазы (Рисунок 19), позволяющие охарактеризовать данные клетки как активные остеобласты. Матрикс содержит коллагеновые волокна I типа и остеонектин (Рисунок 20 а, б). Частично у клеток утеряна связь и находятся в апоптозе, в результате чего формируются полости. Коллагеновые волокна связываются с остеонектином, формируя остеоидные трабекулы и образование кальцификатов (Рисунок 21).



Рисунок 19 – Гранулы щелочной фосфатазы в остеобластах, полученных из трехмерного остеотрансплантата, $\times 1\,000$

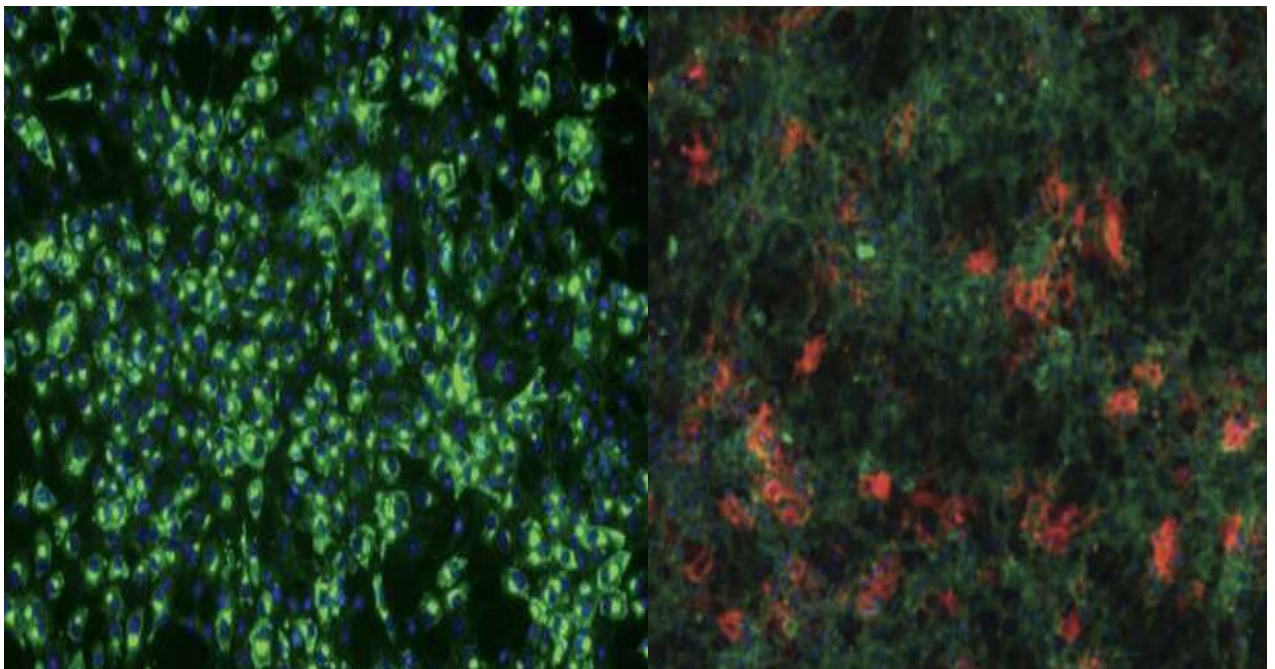


Рисунок 20 – Иммунофлуоресцентный анализ, антитела к: А – коллагену I (ab34710, зеленый), Б – остеонектин (NCL-O-Nectin, красный) $\times 200$



Рисунок 21 – Кальцификаты в остеотрансплантате,
окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$

Вторая стадия – стадия формирования сосудов в остеотрансплантате через 10–14 суток после начала культивирования. Хондротрансплантат подвергается изменению клеточного состава и состава матрикса за счет компонентов остеогенной среды. В клеточном составе преобладают преостеобласты. В составе матрикса наблюдаются полости, внутренняя поверхность которых покрыта эндотелием. Эти полости активно вырабатывают гены, кодирующие фактор Виллебранда и изолектин, что подтверждает их принадлежность к сосудистой системе (Рисунки 22 и 23) [120].

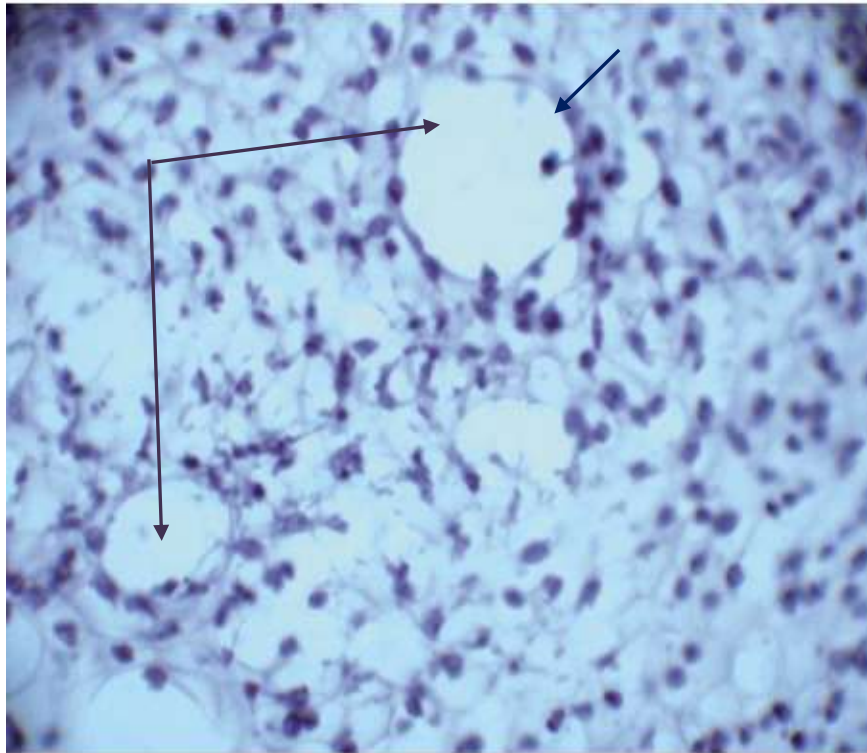


Рисунок 22 – Полые структуры в матриксе остеотрансплантата, выстланные эндотелием, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$

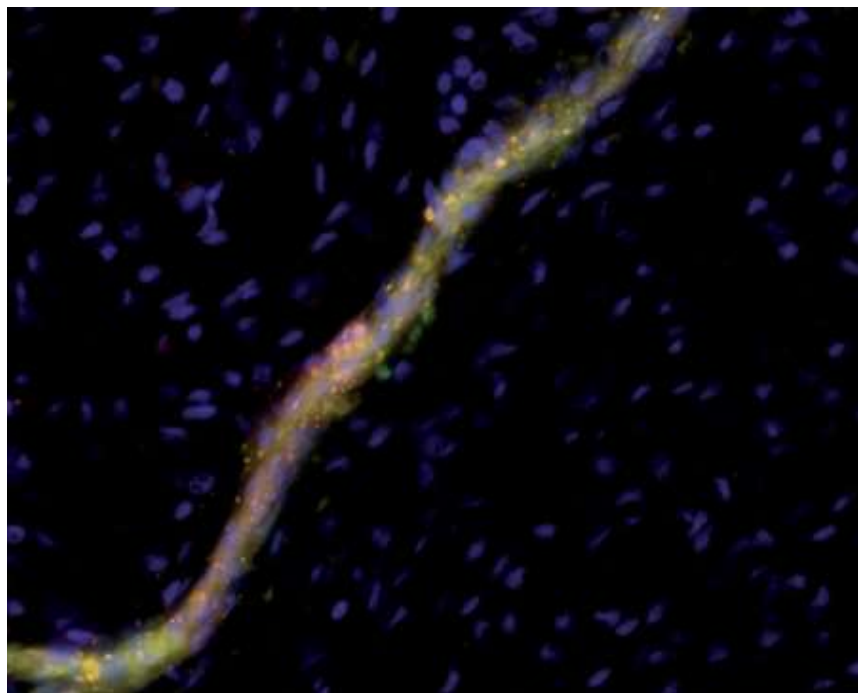


Рисунок 23 – Иммунофлуоресцентный анализ: определение антител к фактору фон Виллебранда (ab6994) и изолектину B4 (I21413), $\times 200$

Клетки трансплантата активно производят специфические для костной ткани гены: сиалопротеин (Bsp), щелочная фосфатаза (Alp), транскрипционный фактор Runx2, остеонектин (On) и остеопонтин (Opn) (Рисунок 24) [120].

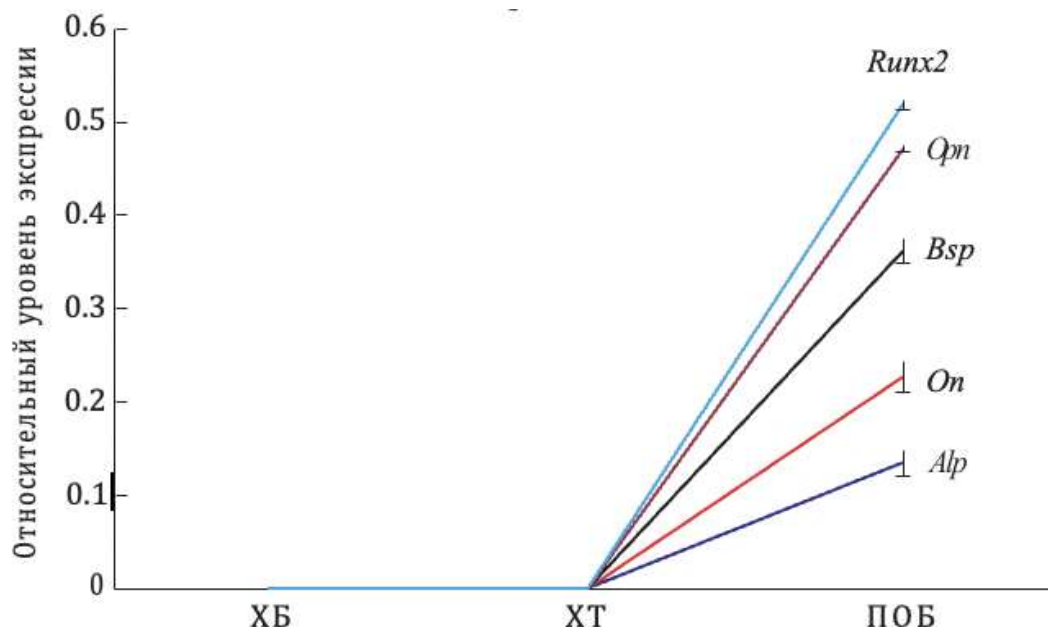


Рисунок 24 – Экспрессия генов, реакция ПЦР: ХБ – хондробласты, ХТ – хондротрансплантат, ПОБ – преостеобласты. Данные представлены ($M \pm SD$, вертикальные отрезки)

На 14–30 сутки остеогенной дифференцировки хондрансплантат представлен «примитивной» костью, клетки которой имеют различную стадию дифференцировки. В клетках присутствуют внутриклеточные полости – вакуоли, содержимое которых варьирует по цвету от светлого до тёмного в зависимости от степени зрелости клетки. Эти образования называют матричными пузырьками, содержащие щелочную фосфатазу, способствующая связыванию кальцификатов с коллагеном I типа вдоль коллагенового волокна при формировании остеоида (Рисунки 25 и 26).

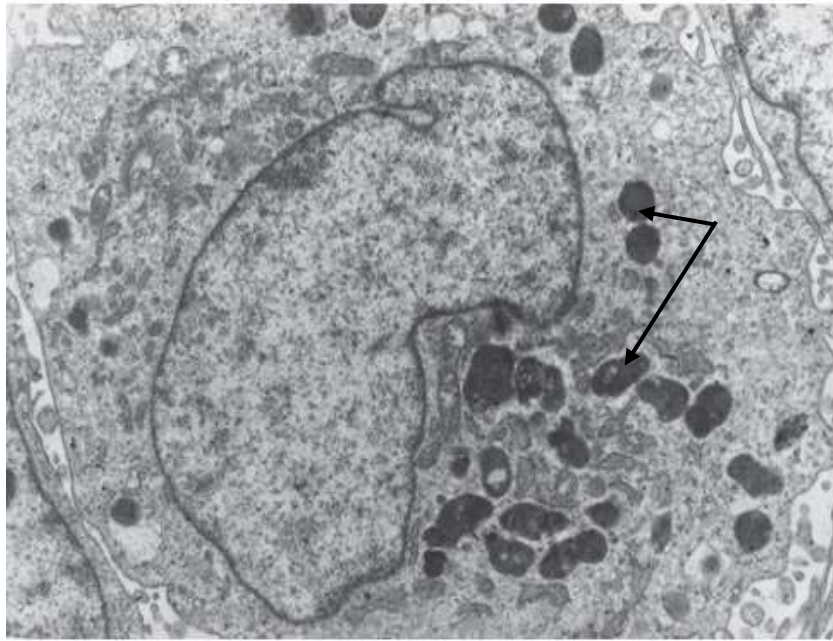


Рисунок 25 – Электронная микроскопия остеобласта, содержащего матричные везикулы в цитоплазме на этапе остеогенной дифференцировки остеотрансплантата $\times 1\,000$

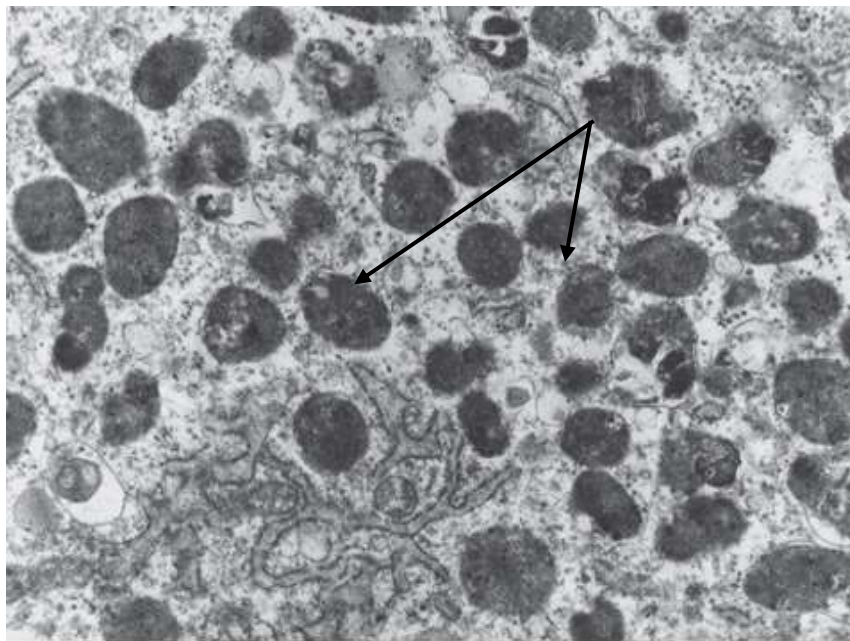


Рисунок 26 – Матричные везикулы в цитоплазме остеобласта на этапе остеогенной дифференцировки остеотрансплантата $\times 5\,000$

С целью установки тканевой принадлежности полученного остеотрансплантата, после остеогенной дифференцировки, проводили световую микроскопию, иммунофлуоресцентный анализ и реакцию ПЦР. По данным световой микроскопии остеотрансплантат на 30 сутки культивирования представлен остеогенными клетками различной степени дифференцировки и матриксом, содержащий сосудистые полости и кальцификаты (Рисунок 27) [120].

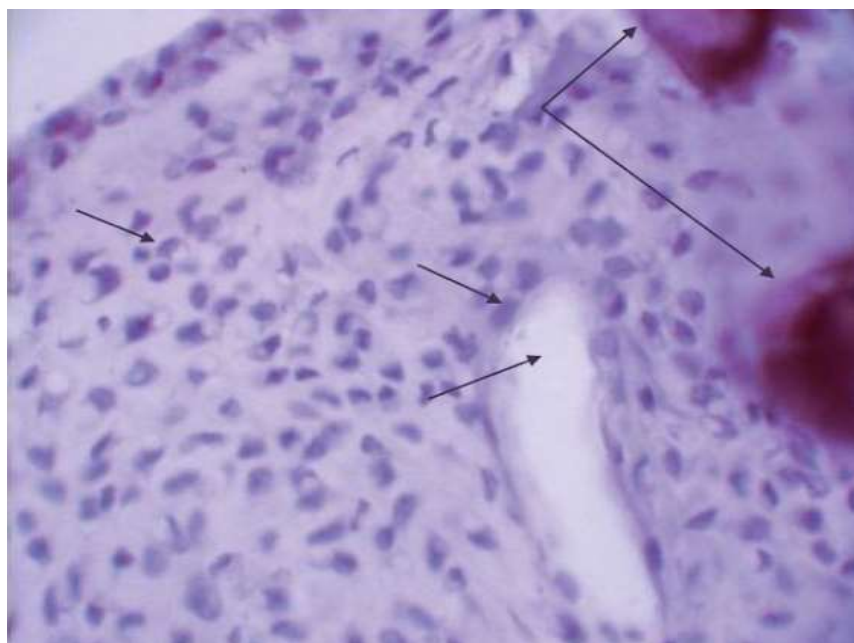


Рисунок 27 – Остеотрансплантат в процессе остеогенной дифференцировки: содержащий кальцификаты, остеогенные клетки и сосудистые полости.

Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$

В клетках фиксируется экспрессия генов: щелочной фосфотазы (Alp), остеонектина (On), сиалопротейна (Bsp), остеопонтина (Opn), транскрипционного фактора RUNK2 (Рисунок 28).

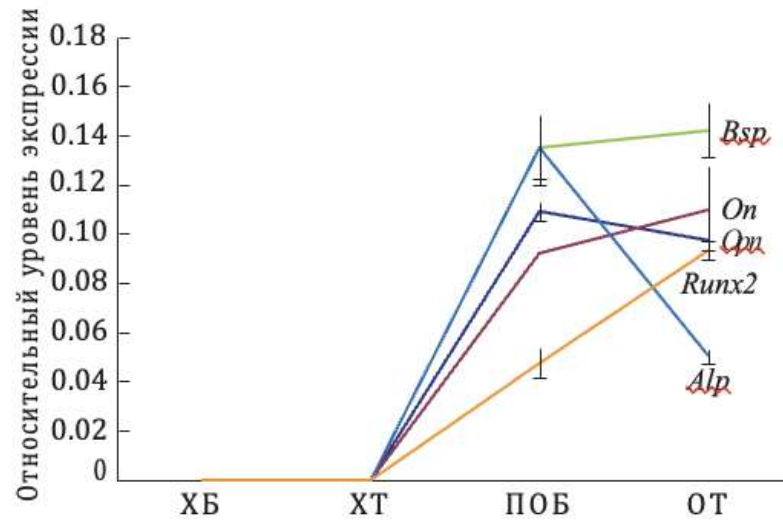


Рисунок 28 – Уровень экспрессии генов в остеотрансплантате; ПЦР в режиме реального времени: ХТ – хондротрансплантат, ОТ – остеотрансплантат, сиалопротеина (Bsp), остеонектина (On), остеопонтина (Opn), щелочной фосфатазы (Alp) и Runx2 (данные представлены $M \pm SD$)

Матрикс представлен коллагеном I типа и белками: фибронектин, остеонектин и антиген CD44 (Рисунок 29).

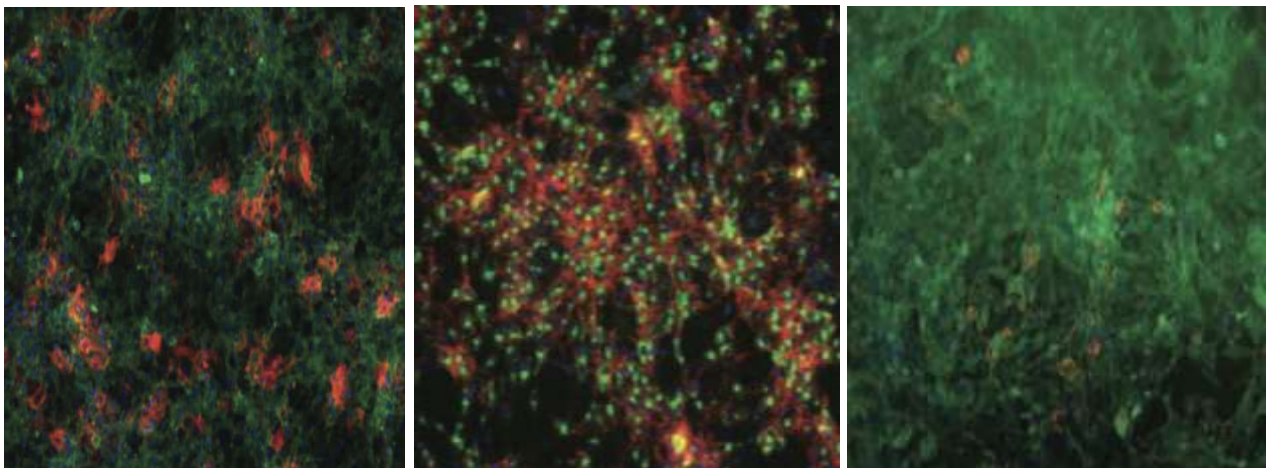


Рисунок 29 – А – Реакция иммунофлуоресценции с антителами:
 А – к остеонектину (NCL-0-Nectin, красный), CD 44 (14-0441-82, зеленый),
 Б – коллагену I (ab34710, зеленый), фибронектину (ab6328, красный),
 В – агрекану (ab3778-1, красный), CD 44 (зеленый)

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Результаты исследования структуры кости в области замещения дефекта аутотрансплантатом

Проанализированы итоги эксперимента, проведенного на группе животных, у которых искусственно созданная модель костного дефекта в области угла нижней челюсти диаметром 2,5 мм заполнена собственным костным трансплантатом (аутотрансплантат).

3.1.1 Исследование морфологии костной ткани

Через 14 дней в области дефекта аутотрансплантат плотно прилежит к кости нижней челюсти. В препаратах зона дефекта кости заполнена рыхло-волокнистой структурой, содержащей мелкие фрагменты в виде костных балок (частично резорбируемых), окружённые соединительной тканью, признаки остеогенеза отсутствуют. В периостальной области отмечается выраженная лимфогистиоцитарная инфильтрация с примесью незначительного количества нейтрофилов, большое количество капилляров с набухшими эндотелиальными клетками (Рисунок 30).

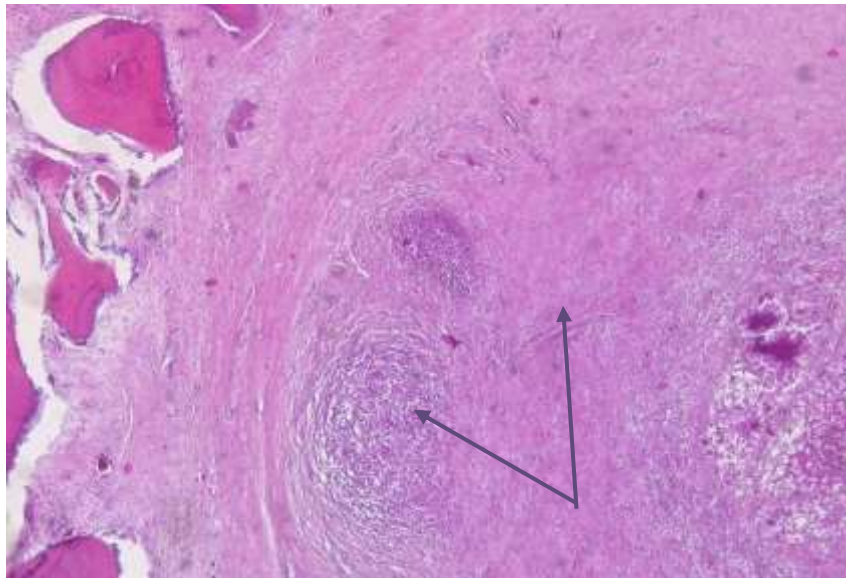


Рисунок 30 – Зона дефекта кости при имплантации аутотрансплантата через 14 дней, заполнена грануляционной тканью с диффузно-очаговой лимфо-лейкоцитарной инфильтрацией. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$

Через 30 дней область моделированного дефекта кости выполнена остеогенной тканью и примитивными костными балками. Костные балки нерегулярного строения располагаются беспорядочно. Вокруг примитивных костных балок умеренно выражена остеобластическая реакция, поля «нежного» остеоида. В окружающей соединительной ткани большое количество капилляров. Отмечена активная остеокластическая резорбция в области перестраивающихся структур, что может свидетельствовать о начинающемся процессе перестройки молодых костных балок в более зрелые и специфические.

В периостальной области обнаруживаются пролиферирующие клеточные элементы, преимущественно фибробластического ряда и немногочисленные остеобласты, что указывает на активацию системы мононуклеарных фагоцитов и их дифференцировку в макрофаги (Рисунок 31).

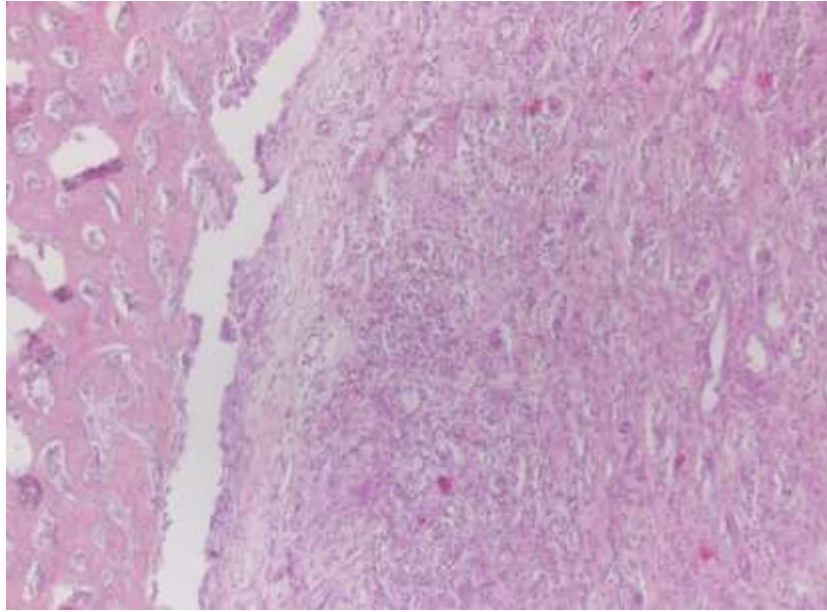


Рисунок 31 – Зона дефекта кости при имплантации аутотрансплантата через 30 дней, заполнена формирующейся костной тканью с «нежным» остеοидом, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$

Через 90 дней в области бывшего оперативного дефекта кости челюсти, находятся формирующиеся костные балки, окруженные клеточно-волокнуистой, высоко васкулизированной соединительной тканью. Костные балки окружены остеобластами. В отдельных участках происходит ремоделирование примитивной кости с формированием зрелых трабекул (Рисунок 32).

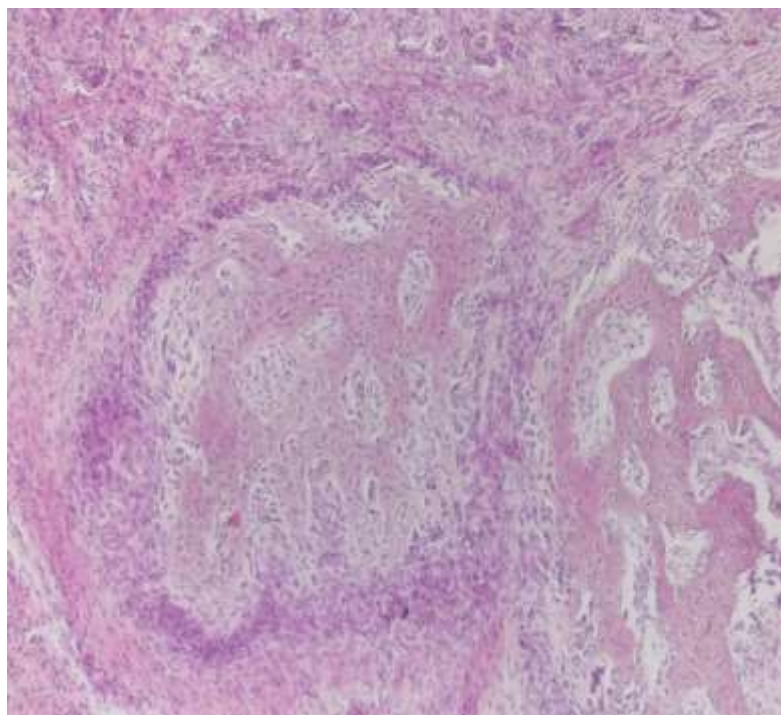


Рисунок 32 – Формирование губчатой кости в зоне дефекта кости при имплантации аутотрансплантата через 90 дней, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$

Через 180 дней кость нижней челюсти в области бывшего дефекта представлена участками грубоволокнистой и частично формирующейся пластинчатой костной тканью. Определяются участки, содержащие формирующиеся остеоны с нечеткими границами (Рисунок 33).

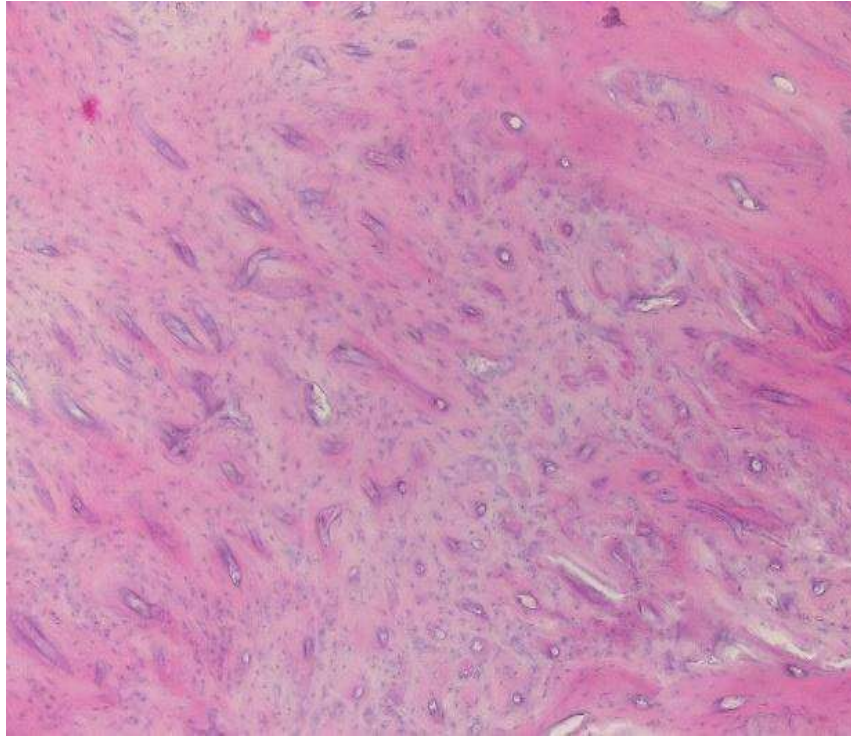


Рисунок 33 – Зона дефекта кости нижней челюсти при имплантации аутоотрансплантата через 180 дней, представлена грубоволокнистой костной тканью, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$

3.1.2 Данные морфометрии кости

По данным морфометрии кости в экспериментальной группе животных 1 при трансплантации аутоотрансплантата через 14 суток количество остеогенных клеток составляло – 2,56, количество сосудов на данном сроке наблюдения составляло – 2,67 (Таблица 2).

Через 30 дней отмечается увеличение количества остеогенных клеток и сосудов в 1,8 раза относительно срока 14 дней и составляло 4,50 и 4,86 соответственно ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). Увеличение количества остеогенных клеток и сосудов в зоне дефекта свидетельствует о факте наличия активного процесса остеогенеза.

Через 90 дней по данным морфометрии количество клеток остеогенного ряда увеличилось в 1,4 раза и достигло максимального значения относительно

всего периода наблюдения эксперимента – 6,41 ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). Количество сосудов увеличилось в 1,05 раза и составило 5,13 ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). Полученные данные показали продолжение процесса активного остеогенеза и наличие сформированной кости.

Через 180 дней в области дефекта, заполненного аутотрансплантатом, показатель количества остеогенных клеток в 1,9 раза уменьшился относительно срока 90 дней наблюдения и составил – 3,41 ($P < 0,001666$, с учетом поправки Бонферрони). Количественный показатель сосудов в данный период в 2,8 раза уменьшился относительно предыдущего срока наблюдения и достиг минимального значения относительно всех сроков наблюдений ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). Полученные показатели подтверждают факт отсутствия процесса активного остеогенеза и наличия сформированной кости в исследуемой зоне (Таблица 2).

Таблица 2 – Данные морфометрии кости в группе 1 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони

Структурные компоненты	Сроки наблюдения			
	14-й день	30-й день	90-й день	180-й день
Остеогенные клетки	$2,52 \pm 1,3$	$4,44 \pm 1,9$	$6,34 \pm 1,8$	$3,39 \pm 1,3$
Сосуды	$2,67 \pm 1,34$	$4,86 \pm 1,76$	$5,13 \pm 1,92$	$1,86 \pm 1,1$

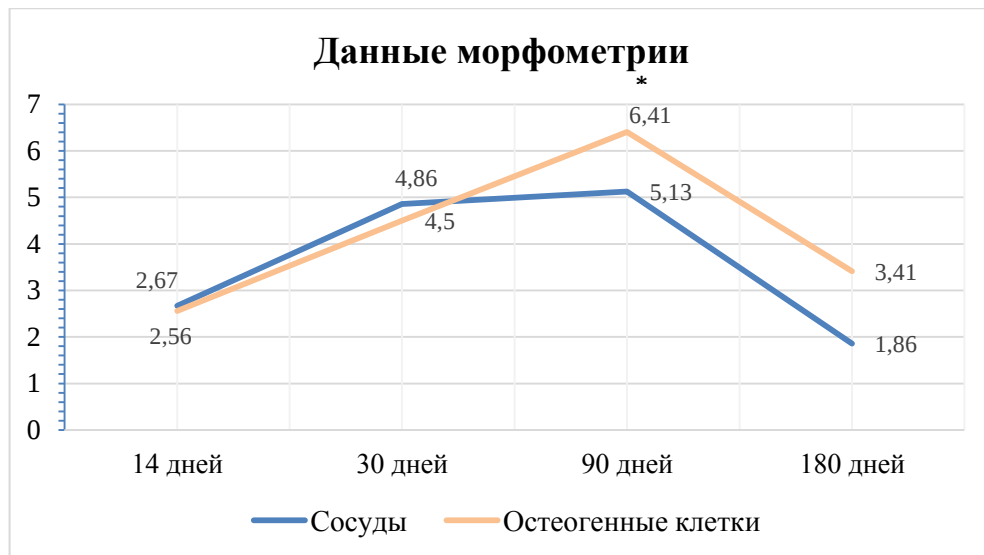


Рисунок 34 – Данные морфометрии области дефекта кости, заполненный аутоотрасплатом

3.1.3 Исследование плотности костной ткани

Анализ показателей плотности кости в экспериментальной группе животных 1 показал, через 30 суток наибольшее снижение рентгеноплотности аутоотрансплантата отмечается в точке 2, расположенной в зоне контакта с ложем реципиента, – 482 HU (Таблица 3). Полученные данные свидетельствуют, что средняя плотность интактной, неповреждённой костной ткани (измеряемая в точке 3) почти в 1,7 раза больше средней плотности центральных участков (точка 1) и приблизительно в 2,1 раза превосходит показатели периферии (точка 2). Различия считаются статистически значимыми с учётом поправки Бонферрони ($P < 0,001666$). Результаты указывают на интенсивный процесс ремоделирования в периферийных зонах аутоотрансплантата, тогда как центральная зона характеризуется относительно слабым развитием реконструкции костной структуры.

Через 90 дней отмечается увеличение рентгеноплотности аутоотрансплантата в точках 1, 2 относительно срока 30 дней с максимальным значением в точке 2 – 1 022 HU (Таблица 3), однако их статистические различия все еще

оставались значимыми ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). Наименьшие значения определяются в точке 1 – 842 HU, что соответствует формированию кости типичной нижней челюсти D3 по классификации Mish. Плотность кости точки 1, расположенной в центре аутотрансплантата, меньше в среднем в 1,19 раза ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони для точек 1 и 2) плотности кости, расположенной в периферической зоне дефекта в непосредственном контакте с ложем реципиента (точка 2). Показатель плотности кости в области точки интактной кости нижней челюсти (точка 3) в среднем в 1,3 раза превышает показатель плотности аутотрансплантата в центральной точке (точка 1) и в 1,1 раза в периферической точке (точка 2) ($P < 0,001666$; $P < 0,001666$ для точек соответственно с учетом поправки Бонферрони).

Преобладания рентгеноплотности в периферической точке дефекта (точка 2), расположенной в прямом контакте с ложем реципиента, подтверждает факт, что процесс регенерации кости нижней челюсти при восстановлении дефекта аутотрансплантатом протекает от края дефекта к центру с формированием кости типичной нижней челюсти – тип D2 по классификации Mish. Общий показатель плотности кости дефекта, заполненного аутотрансплантатом в 1,2 раза ниже общего показателя плотности интактной кости ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони).

Через 180 дней показатель рентгеноплотности в области сформированного дефекта при имплантации аутотрансплантата, в центральной точке (точка 1) – 1 049 HU и в периферической точке (точка 2) – 1 078 HU (Таблица 3), что соответствует показателю рентгеноплотности зоны интактной кости угла нижней челюсти (точка 3) – 1 080 HU с учетом поправки Бонферрони ($P > 0,001666$ соответственно для точек 1-3). Полученные результаты позволяют утверждать о завершении процесса репаративного остеогенеза во всех точках дефекта. Общий показатель рентгеноплотности дефекта при замещении аутотрансплантатом составил 1 064 HU, и соответствует типу D2 по классификации Misch (Рисунки 35 и 36).

Таблица 3 – Данные исследования плотности кости в группе 1 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони

Сроки наблюдения (дни)	Средний показатель плотности Точка 1 (HU)	Средний показатель плотности Точка 2 (HU)	Средний показатель плотности (HU)	Средний показатель плотности Точка 3 (HU)
30	$620 \pm 2,4$	$482 \pm 1,8$	$551 \pm 2,6$	$1\ 029 \pm 2,6$
90	$842 \pm 2,0$	$1\ 022 \pm 1,8$	$932 \pm 1,7$	$1\ 080 \pm 2,1$
180	$1\ 049 \pm 1,8$	$1\ 078 \pm 2,0$	$1\ 064 \pm 2,6$	$1\ 080 \pm 2,4$

Примечание: точка 1 – центр аутотрансплантата, точка 2 – точка контакта с ложем реципиента, точка 3 – зона интактной кости угла нижней челюсти.

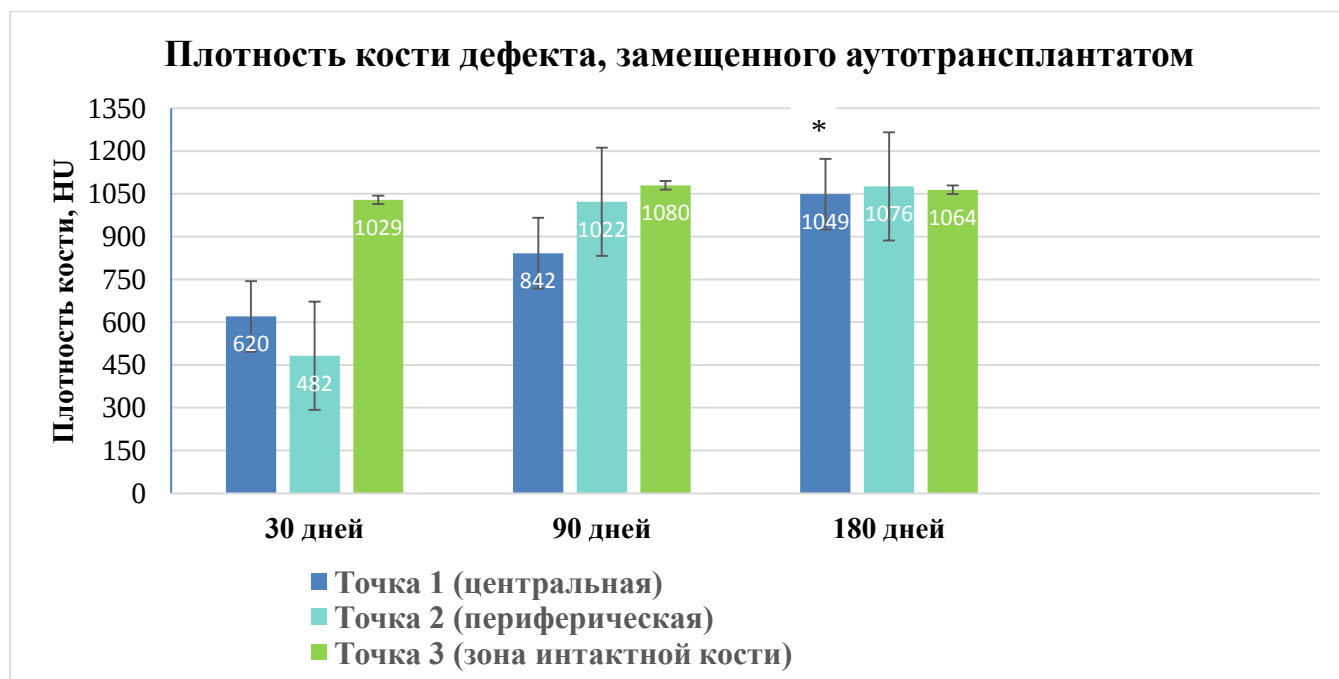


Рисунок 35 – Результаты исследования плотности кости в группе при заполнении дефекта аутотрансплантатом в точке 1, 2, 3 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони

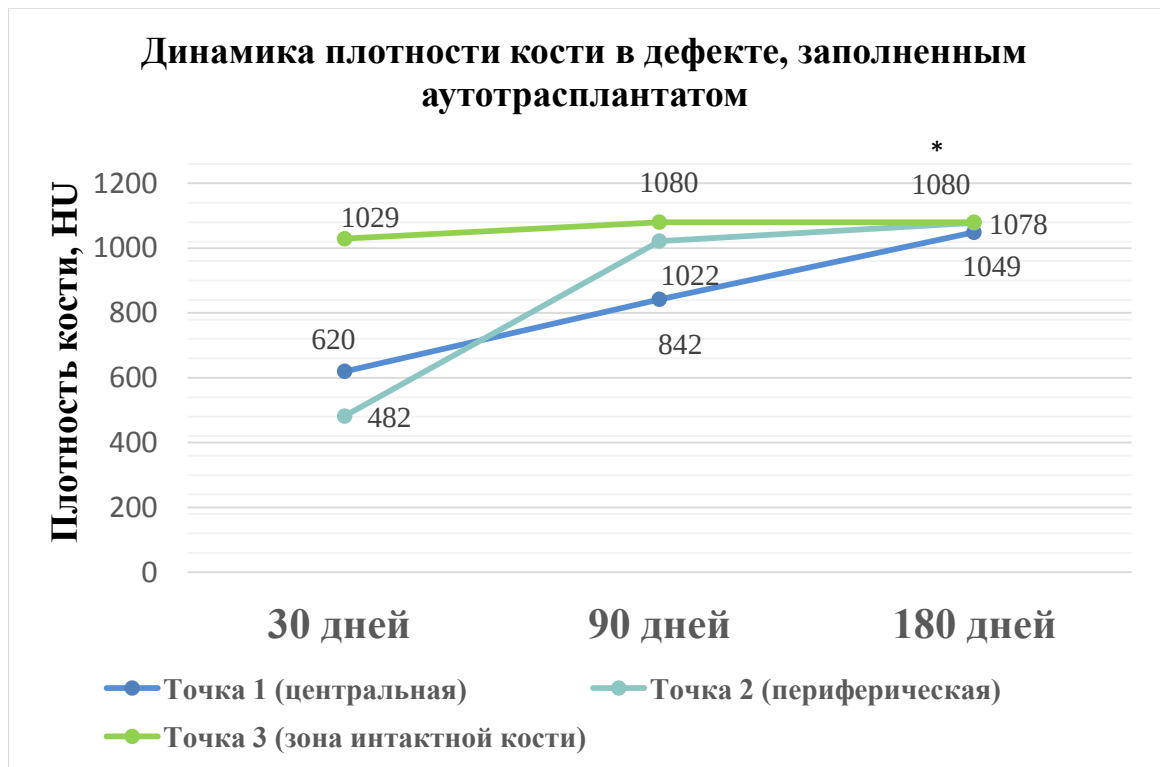


Рисунок 36 – Динамика плотности кости в группе при заполнении дефекта аутоотрасплантатом в точке 1, 2, 3 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони

3.2 Структурные особенности нижней челюсти в области заполнения дефекта хондротрансплантатом

Оценены результаты эксперимента для группы животных, модель дефекта которых сформирована в области угла нижней челюсти диаметром 2,5 мм и заполнена хондротрансплантатом.

3.2.1 Исследование морфологии костной ткани

Через 14 дней зона дефекта нижней челюсти при трансплантации хондротрансплантата представлена крупными клетками с обильной цитоплазмой и мелкими ядрами, напоминающими хондроциты. Наряду с этим, в трансплантате определяются немногочисленные гигантские клетки, фокусы некрозов, и поля

грануляционной ткани. Процесс остеогенеза отсутствует (Рисунок 37).

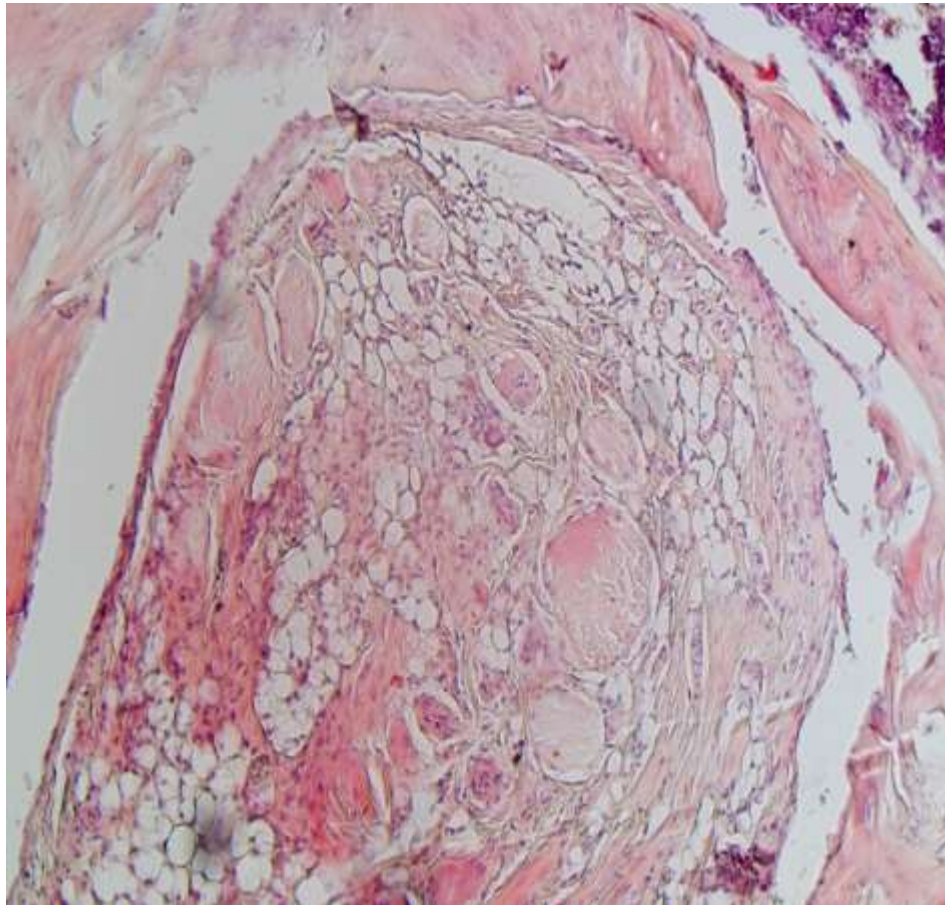


Рисунок 37 – Зона дефекта кости, заполненного хондротрансплантатом, через 14 дней, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$

Через 30 дней область дефекта нижней челюсти при трансплантации хондротрансплантата заполнена грануляционной тканью с диффузной полиморфноклеточной инфильтрацией, фокусами некрозов. Признаков остеогенеза не выявлено (Рисунок 38).

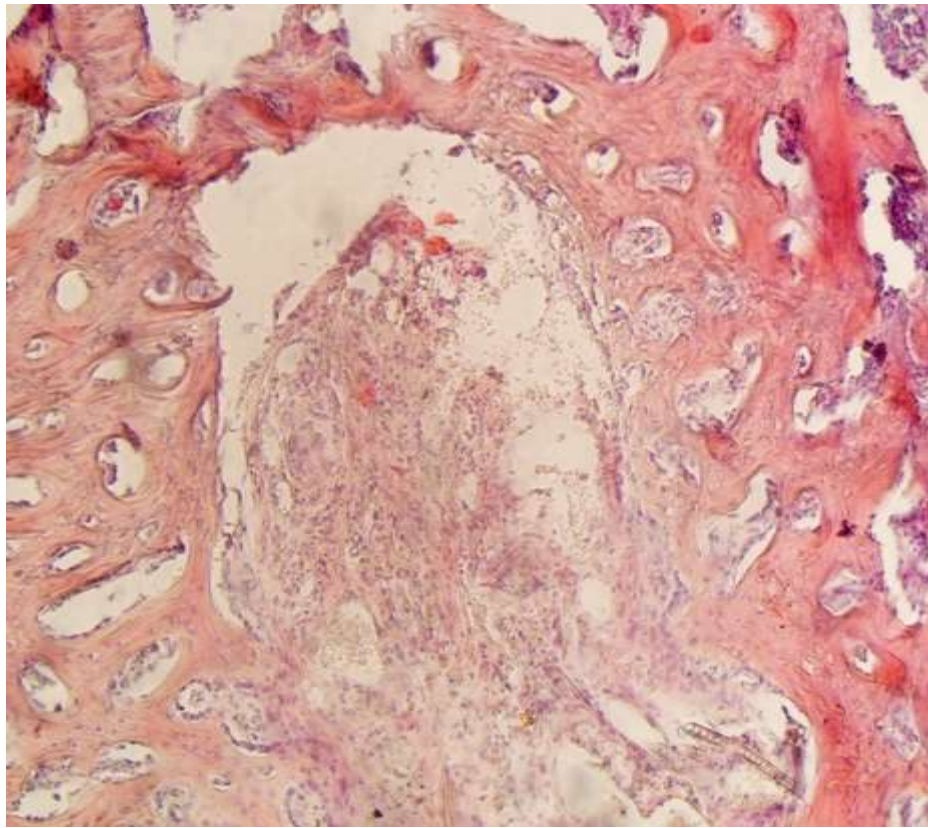


Рисунок 38 – Зона дефекта кости при имплантации хондротрансплантата через 30 дней выполнена грануляционной тканью с диффузной полиморфноклеточной воспалительной инфильтрацией, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$

Через 90 дней зона дефекта нижней челюсти при трансплантации хондротрансплантата также заполнена грануляционной тканью разной степени зрелости, с очаговой, незначительно выраженной лимфоидной инфильтрацией с единичными нейтрофилами. Процесс остеогенеза отсутствует (Рисунок 39).

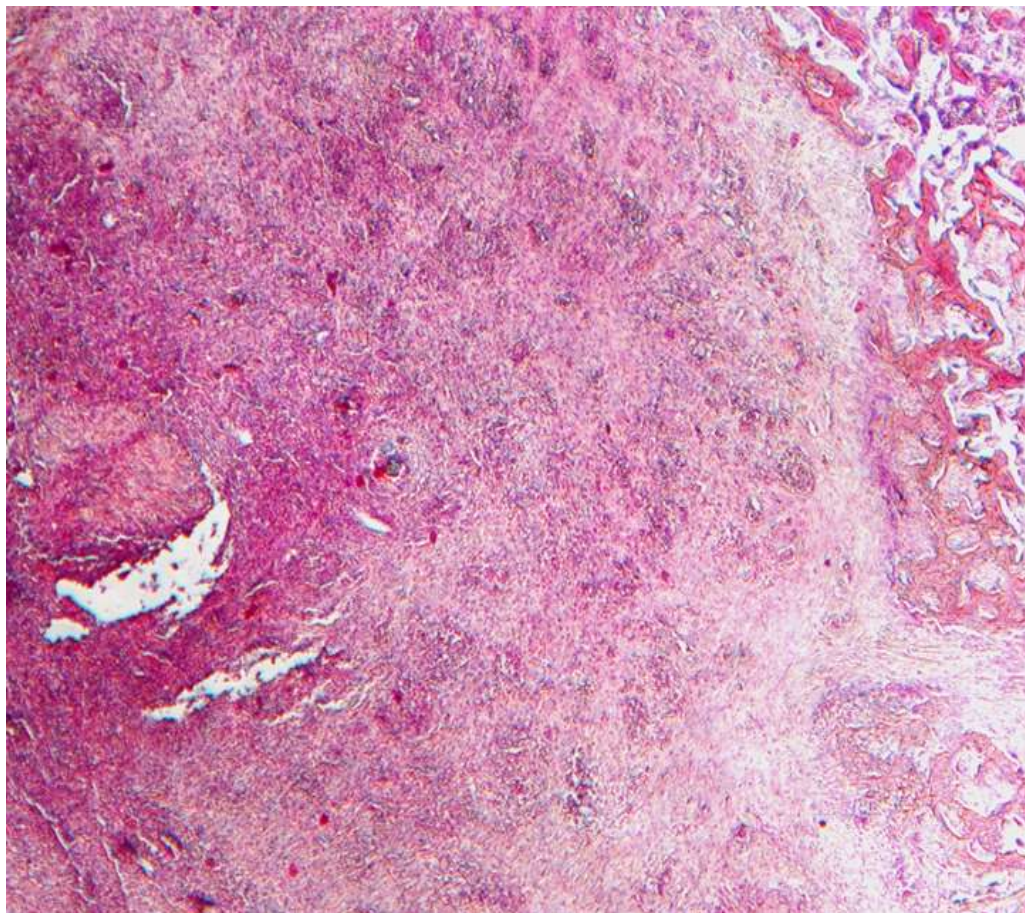


Рисунок 39 – Зона дефекта кости, при имплантации хондротрансплантата через 90 дней, заполнена созревающей грануляционной тканью с диффузной лимфоидной инфильтрацией, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$

Через 180 дней зона дефекта нижней челюсти при трансплантации хондротрансплантата заполнена зрелой, соединительной тканью с очаговой лимфоидной инфильтрацией. Коллагеновые волокна набухшие, гиалинизированные. Признаков остеогенеза не выявлено (Рисунок 40).

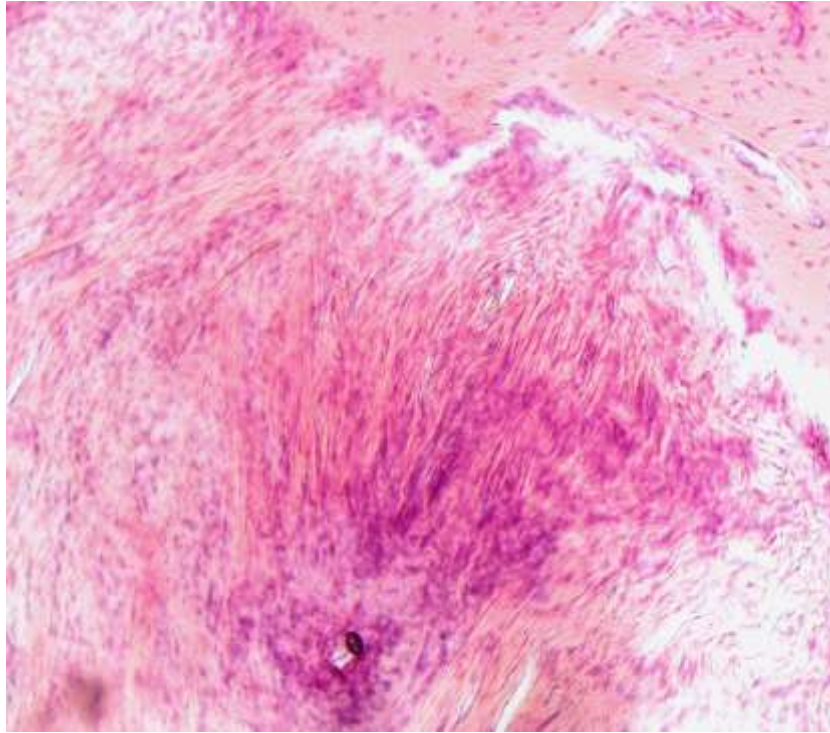


Рисунок 40 – Зона дефекта кости, заполненного хондротрансплантатом, через 180 дней, выполнена гиалинизированными соединительнотканными волокнами с очаговой лимфоидной инфильтрацией, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$

3.2.2 Данные морфометрии экспериментальной группы 2 при замещении дефекта хондротрансплантатом

По полученным результатам морфометрию в данной экспериментальной группе не проводили в связи с отсутствием признаков остеогенеза в области дефекта.

3.2.3 Исследование плотности кости экспериментальной группы 2 при замещении дефекта хондротрансплантатом

Анализ показателей плотности кости в экспериментальной группе животных 2 показал, через 30 дней плотность кости точки 1, расположенной в

центре хондротрансплантата, равна 109 HU (Таблица 4) и в 2,6 раза ($P < 0,001666$; $P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони для точек 1 и 2 соответственно) ниже плотности кости 2-й точки, расположенной в непосредственном контакте с ложем реципиента. Плотность кости в области точки 3 угла нижней челюсти в среднем в 5,3 раза превышает общий показатель плотности хондронасплантата. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии процесса формирования кости в точках 1 и 2.

Через 90 дней плотность центральной точки хондротрансплантата составила 105 HU, что в 10,2 раза ниже показателя плотности кости в точке 3 – 1 068 HU. Плотность кости в точке 2 в 5,6 раза ниже показателя плотности кости в точке 3 – 1 068 HU. Общий показатель рентгеноплотности дефекта в данный период составил 156 HU, что в 6,8 раза ниже плотности кости в точке 3. Полученные данные продолжают свидетельствовать об отсутствии процесса формирования кости в области дефекта (Рисунки 41 и 42).

Через 180 дней общий показатель плотности области дефекта, заполненного хондротрансплантатом, составлял 265 HU, что в 4,03 раза ниже показателя плотности интактной кости угла нижней челюсти. Процесс формирования кости в дефекте отсутствовал.

Таблица 4 – Данные исследования плотности кости в группе 2 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони

Сроки наблюдения (дни)	Средний показатель плотности Точка 1 (HU)	Средний показатель плотности Точка 2 (HU)	Средний показатель плотности (HU)	Средний показатель плотности Точка 3 (HU)
30	109 $\pm$ 2,2	282 $\pm$ 1,9	195 $\pm$ 2,1	1 034 $\pm$ 2,5
90	105 $\pm$ 2,0	207 $\pm$ 2,0	156 $\pm$ 1,7	1 068 $\pm$ 2,6
180	104 $\pm$ 2,1	426 $\pm$ 1,8	265 $\pm$ 1,6	1 064 $\pm$ 1,7
Примечание: точка 1 – центр хондротрансплантата, точка 2 – точка контакта с ложем реципиента, точка 3 – интактная кость угла нижней челюсти.				

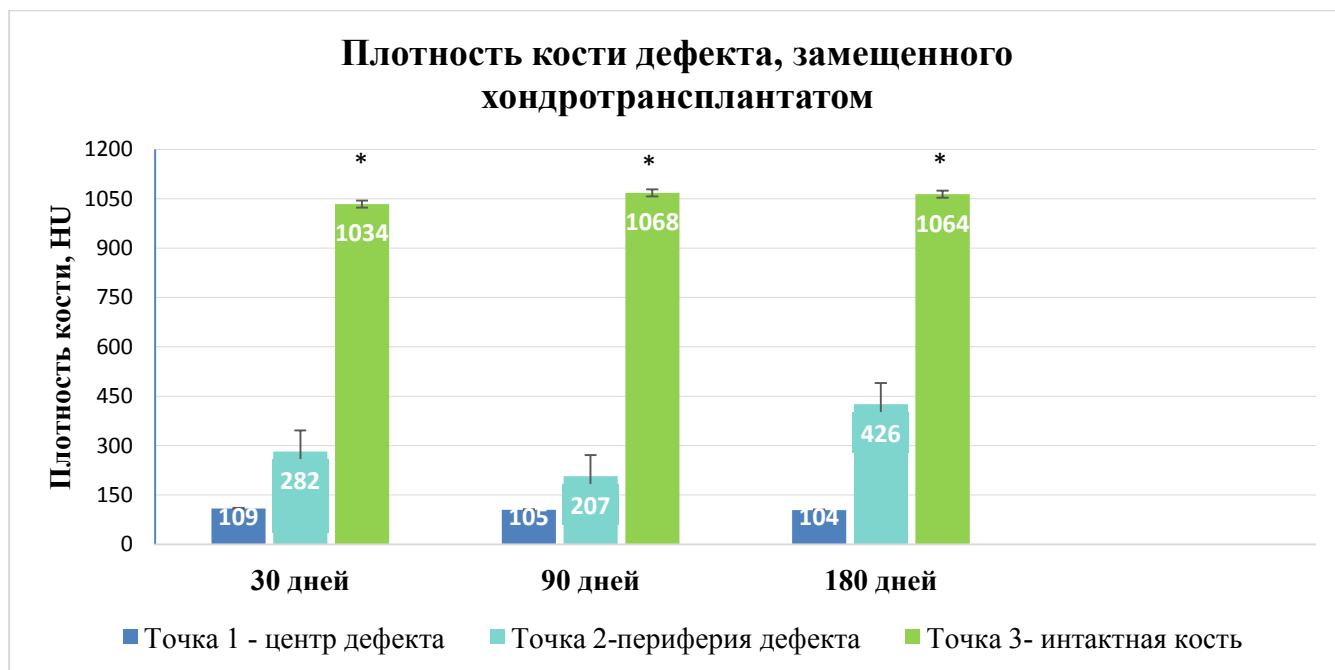


Рисунок 41 – Результаты исследования плотности кости в группе при замещении дефекта хондротрансплантатом в точке 1, 2, 3 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони

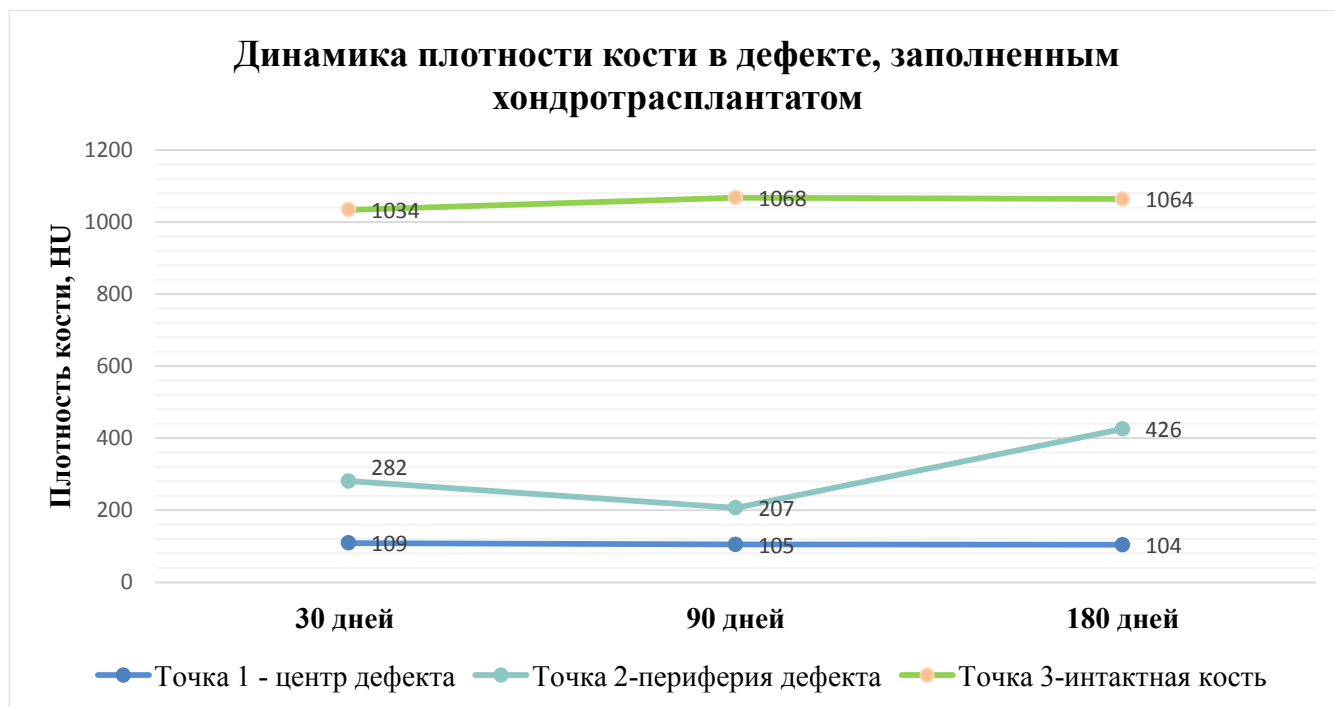


Рисунок 42 – Динамика плотности кости в группе 2 в точке 1, 2, 3 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони

3.3 Строение кости в области замещения дефекта нижней челюсти остеотрансплантатом

Оценены результаты эксперимента для группы животных, модель дефекта которых сформирована в области угла нижней челюсти диаметром 2,5 мм и заполнена остеотрансплантатом.

3.3.1 Исследование морфологии костной ткани

Через 14 суток экспериментального исследования дефект костной ткани нижней челюсти заполнен грануляционной тканью. Вокруг костного дефекта образовалась капсула, состоящая из рыхлой волокнистой соединительной ткани. Внутри отмечаются небольшие участки разрушения костных балок, имеющие ярко-красный оттенок при окрашивании, а также небольшое количество нейтрофилов. В кости нижней челюсти, окружающей сформированный дефект отмечалась незначительно выраженная периостальная реакция (Рисунок 43).

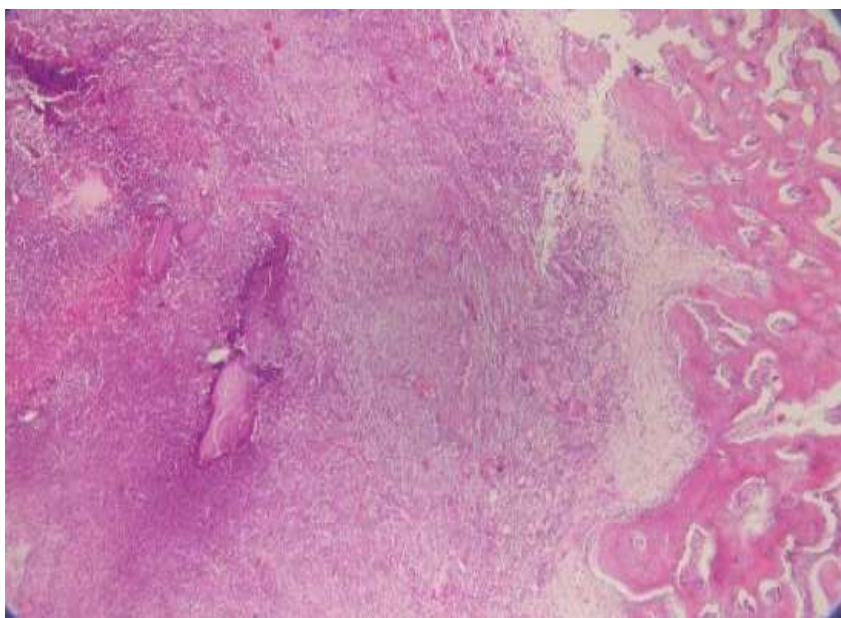


Рисунок 43 – Зона дефекта кости при имплантации остеотрансплантата через 14 дней, представлена грануляционной тканью с диффузно-очаговой лимфо-лейкоцитарной инфильтрацией, окраска гематоксилин-эозином, × 200

Через 30 суток эксперимента в зоне трансплантации сформирована примитивная костная ткань балочного строения. Полость костного дефекта нижней челюсти заполнена небольшим количеством клеток воспалительного инфильтрата (лимфоциты, макрофаги, эозинофилы, плазматические клетки). Вдоль внутренней поверхности дефекта сформирована высоко васкуляризированная соединительная ткань рыхло-волокнутой структуры, в которую активно внедрялись многочисленные костные балки, содержащие сосудистые каналы с широкими просветами. Костные балки окружены пролиферирующими остеобластами, выстроенными последовательно плотно друг другу в ряды. Между костными балками располагаются большое количество сосудов, в просвете которых отмечаются элементы крови. Процесс регенерации кости в области дефекта прослеживается по всему периметру костного дефекта (Рисунок 44).

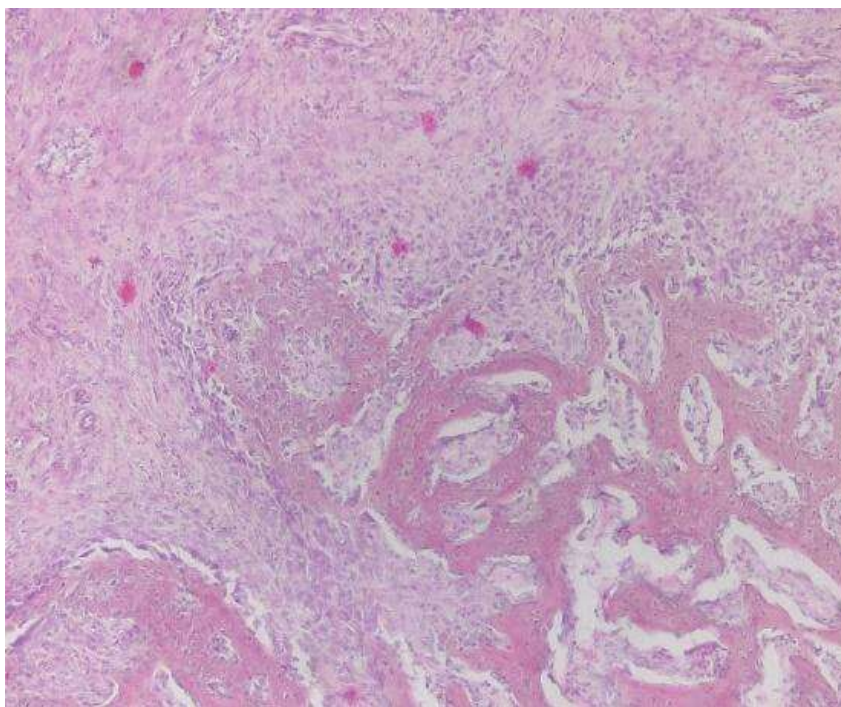


Рисунок 44 – В зоне дефекта кости, заполненного остеотрансплантатом, через 30 дней сформировалась губчатая кость с активным остеогенезом, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$

Через 90 дней эксперимента зона в области трансплантации остеотрансплантата заполнена костью балочного строения. Костные балки имеют сформированную структуру. Область дефекта полностью восстановлена костной тканью, границы дефекта идентифицировать невозможно. Сформированная органоспецифическая кость содержит в межбалочных пространствах небольшое количество сосудов и остеокластов (Рисунок 45).

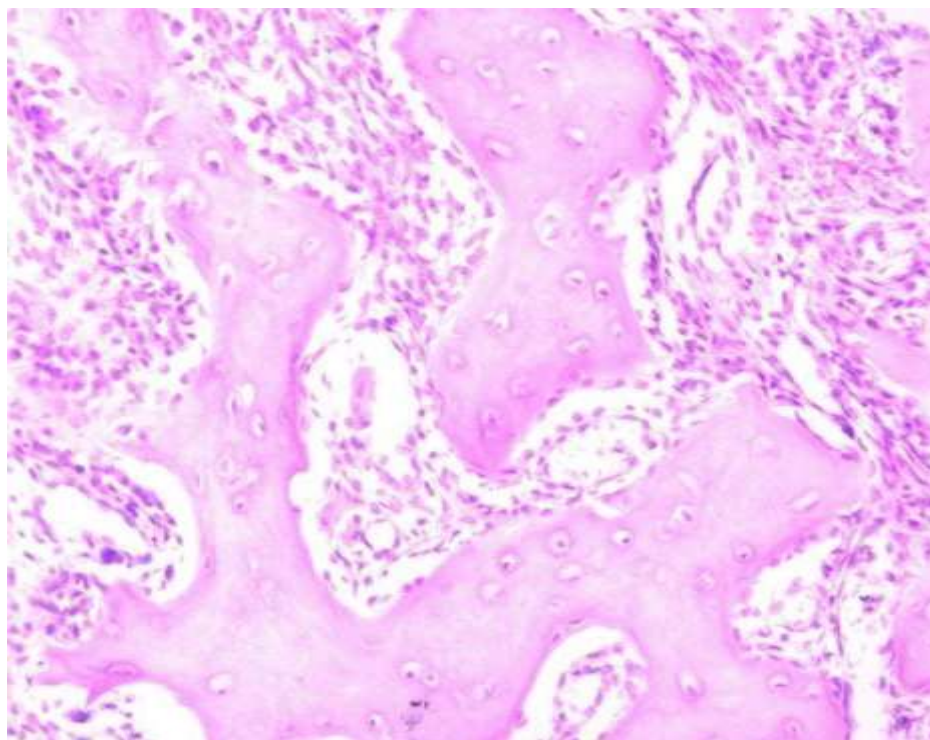


Рисунок 45 – Зона дефекта кости, заполненного остеотрансплантатом через 90 дней, представлена сформированными балками губчатой кости, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$

Через 180 дней эксперимента в области замещения дефекта остеотрансплантатом сформировались трабекулы губчатой кости, типичной для этой области угла нижней челюсти. В межбалочных пространствах располагалась миелоидная ткань красного костного мозга. Область дефекта полностью восстановлена органоспецифической костью, границы дефекта идентифицировать невозможно (Рисунок 46).

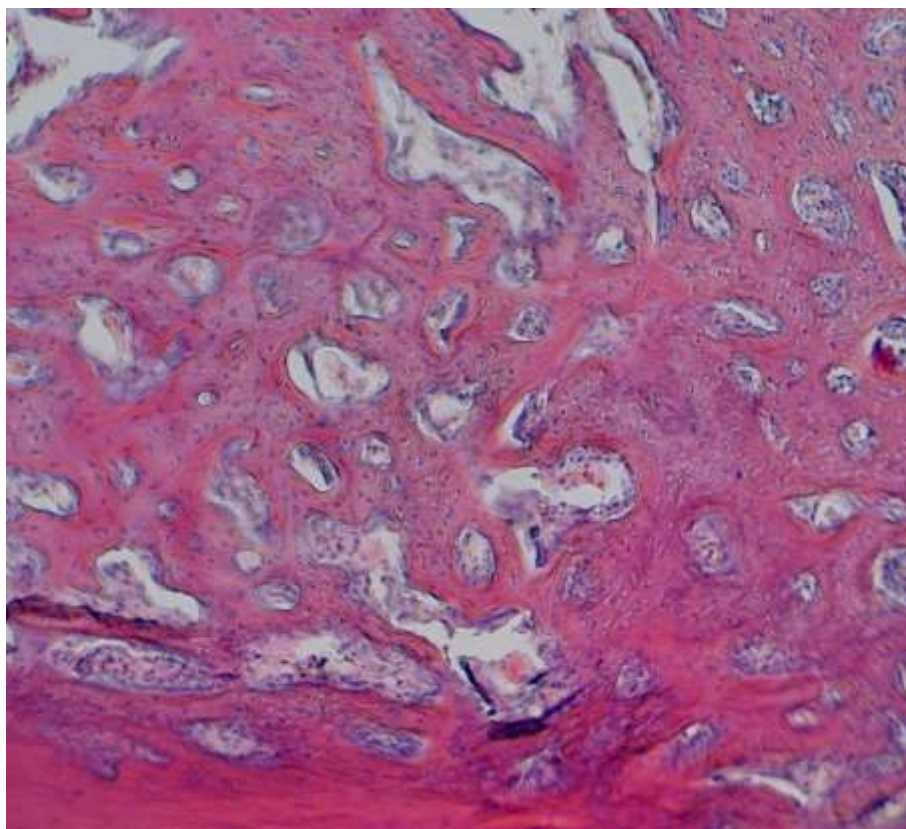


Рисунок 46 – Зона дефекта кости, заполненного остеотрансплантатом через 180 дней, сформированная костная ткань. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$

3.3.2 Данные морфометрии экспериментальной группы 3 при замещении дефекта остеотрансплантатом

При анализе данных морфометрии кости в экспериментальной группе животных 3 при трансплантации остеотрансплантата через 14 суток количество остеогенных клеток составляло – 4,2, количество сосудов на данном сроке наблюдения составляло – 4,57 (Таблица 5).

Через 30 дней показатель количества остеогенных клеток – 5,76, что в 1,4 раза выше относительно срока 14 дней и достиг максимального значения относительно всего периода эксперимента. Анализ показателя количества сосудов установил увеличение в 1,14 раза относительно предыдущего срока наблюдения, при этом достигнув максимально высокого значения. Увеличение количества

остеогенных клеток и сосудов в зоне дефекта свидетельствует о факте наличия активного остеогенеза в зоне дефекта и наличия частично сформированной кости.

Через 90 дней по данным морфометрии количество клеток остеогенного ряда уменьшилось в 1,2 раза относительно срока наблюдения 30 дней – 4,71 с учетом поправки Бонферрони ($P < 0,001666$). Количество сосудов в 1,8 раза уменьшилось относительно предыдущего срока наблюдения и составило 2,87 ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). Полученные данные показали наличие сформированной кости и наличие процесса остеогенеза в менее активной форме.

Через 180 дней в области дефекта, заполненного остеотрансплантатом, показатель количества остеогенных клеток в 1,3 раза уменьшился относительно срока 90 дней наблюдения и достиг минимального значения относительно всего срока эксперимента, составил – 3,56 ($P < 0,001666$, с учетом поправки Бонферрони). Показатель количества сосудов в 1,96 раза уменьшился относительно предыдущего строка ($P < 0,001666$, с учетом поправки Бонферрони), полученные показатели подтверждают факт отсутствия процесса активного остеогенеза и наличия сформированной кости в исследуемой зоне (Рисунок 47).

Таблица 5 – Данные морфометрии кости в группе при замещении дефекта остеотрансплантатом ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони

Структурные компоненты	Сроки наблюдения			
	14 день	30 день	90 день	180 день
Остеогенные клетки	$4,2 \pm 1,22$	$5,76 \pm 1,44$	$4,71 \pm 1,71$	$3,56 \pm 1,42$
Сосуды	$4,57 \pm 1,34$	$5,24 \pm 1,67$	$2,87 \pm 0,89$	$1,46 \pm 1,05$

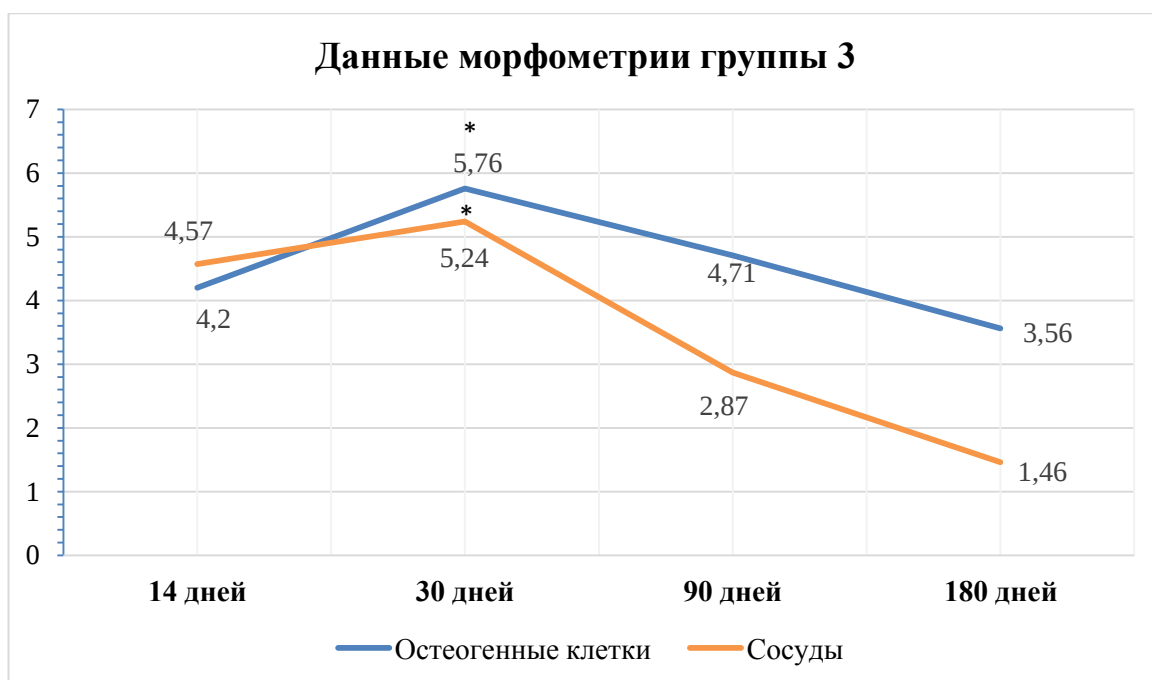


Рисунок 47 – Данные морфометрии области дефекта кости, заполненный остеотрансплантатом

3.3.3 Исследование плотности кости экспериментальной группы 3 при замещении дефекта остеотрансплантатом

При анализе данных показателей рентгеноплотность кости дефекта, заполненного остеотрансплантатом, через 30 дней выявлено равномерное изменение рентгеноплотности во всех точках остеотрансплантата. Плотность остеотрансплантата в точке 1 и в точке 2 имеет незначительную разницу в 0,98 (Таблица 6), что является статистически незначимым различием ($P > 0,001666$; $P > 0,001666$ с учетом поправки Бонферонни). Показатель плотности центральной точки дефекта (точка 1) на данном сроке наблюдения имел отличия от показателя плотности интактной кости нижней челюсти (точка 3) в 2,19 раза в пользу точки 3 ($P > 0,001666$ с учетом поправки Бонферонни) и периферической точки (точка 2) в 2,15 раза в пользу точки 3 ($P > 0,001666$ с учетом поправки Бонферонни). Полученные результаты подтверждают, что общий показатель плотности остеотрансплантата – 476 HU соответствует D3 по классификации Misch и в 2,17

раза ниже показателя рентгеноплотности кости ветви нижней челюсти ($P > 0,001666$ с учетом поправки Бонферонни).

На контрольном сроке наблюдения 90 дней рентгеноплотность центральной точки остеотрансплантата составил 1 038 HU и в периферической точке достиг – 1 072 HU, данные показатели приблизились к показателю плотности кости нижней челюсти точки 3 – 1 082 HU ($P > 0,001666$; 0,001666 соответственно с учетом поправки Бонферонни). Общий показатель рентгеноплотности остеотрансплантата составил 1 055 HU, что соответствует типу D2 по классификации Misch.

Через 180 дней плотность кости в области сформированного дефекта нижней челюсти при трансплантации остеотрансплантата и в центральной точке и в периферической точке дефекта соответствовала показателю рентгеноплотности интактной кости нижней челюсти – 1 080 HU ($P > 0,001666$ с учетом поправки Бонферонни) и соответствует типу D2 по классификации Misch (Рисунок 48 и 49).

Таблица 6 – Показатель плотности кости в группе при трансплантации в дефект остеотрансплантата. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрон

Срок наблюдения	Средний показатель Точка 1	Средний показатель Точка 2	Общий показатель плотности дефекта	Средний показатель Точка 3
30 дней	472 ± 2,3	480 ± 1,8	476 ± 1,5	1 032 ± 2,2
90 дней	1 038 ± 2,0	1 072 ± 2,0	1 055 ± 1,7	1 082 ± 1,8
180 дней	1 066 ± 2,2	1 088 ± 1,8	1 077 ± 1,2	1 080 ± 2,1
Примечание: точка 1 – центр остеотрансплантата, точка 2 – точка контакта с ложем реципиента, точка 3 – интактная кость угла нижней челюсти.				

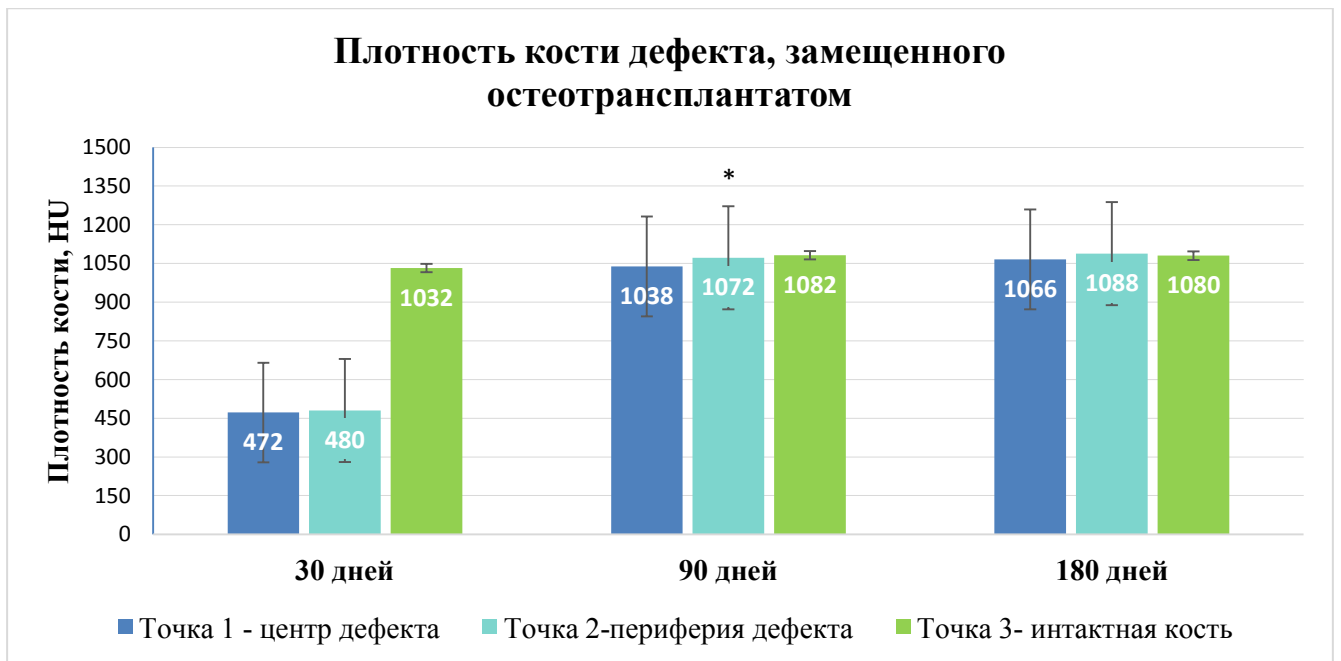


Рисунок 48 – Результаты исследования плотности кости в группе при заполнении дефекта остеотрансплантатом в точке 1, 2, 3 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони



Рисунок 49 – Динамика плотности кости в группе при замещении дефекта остеотрансплантатом в точке 1, 2, 3 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони

3.4 Морфологические особенности кости в области дефекта нижней челюсти без использования костнозамещающего материала (контрольная группа)

Оценены полученные результаты экспериментальной группы животных дефект кости нижней челюсти, которых не заполнялся, заживление происходила под кровяным сгустком.

3.4.1 Исследование морфологии костной ткани контрольной группы.

Через 14 дней зона дефекта контрольной группы имеет округло-овальный дефект кости, выполненный грануляционной тканью с диффузной воспалительной инфильтрацией, а также содержит фрагменты некротизированных костных фрагментов (Рисунок 50).

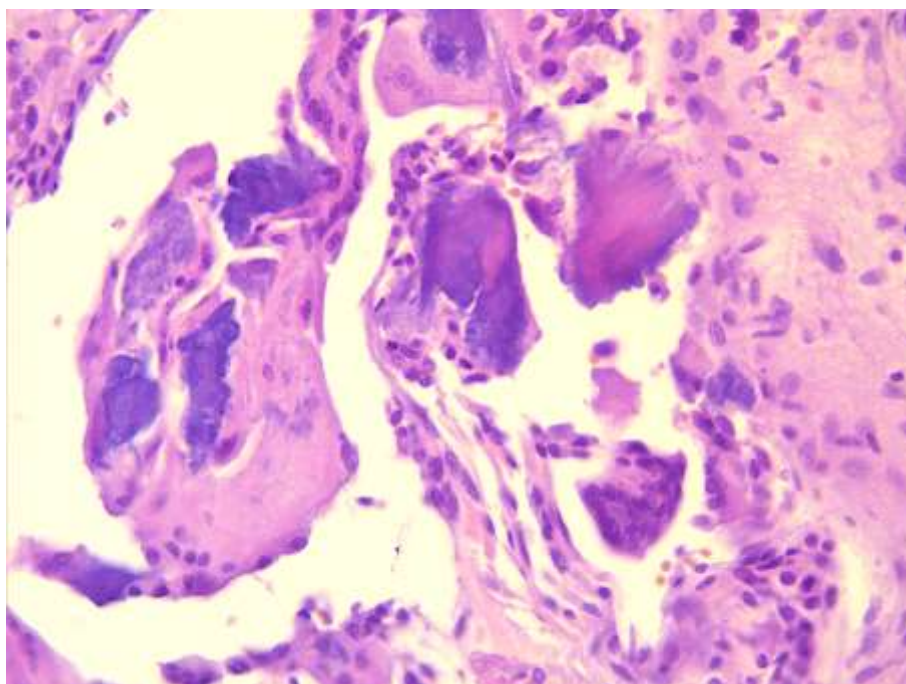


Рисунок 50 – Область дефекта кости, без заполнения (контрольная группа) через 14 дней, содержит некротизированные костные фрагменты, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$

Через 30 дней дефект кости нижней челюсти содержит небольшое количество фокусов некроза костных балок с клетками, характерными воспалительному инфильтрату: лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги, эозинофилы и нейтрофилы. По периметру края дефекта отмечается ограничительная соединительная ткань рыхло-волокнистой структуры с большим количеством сосудов. Ближе к центру дефекта соединительная ткань проявляет признаки слабо выраженных процессов репаративного остеогенеза (Рисунок 51).

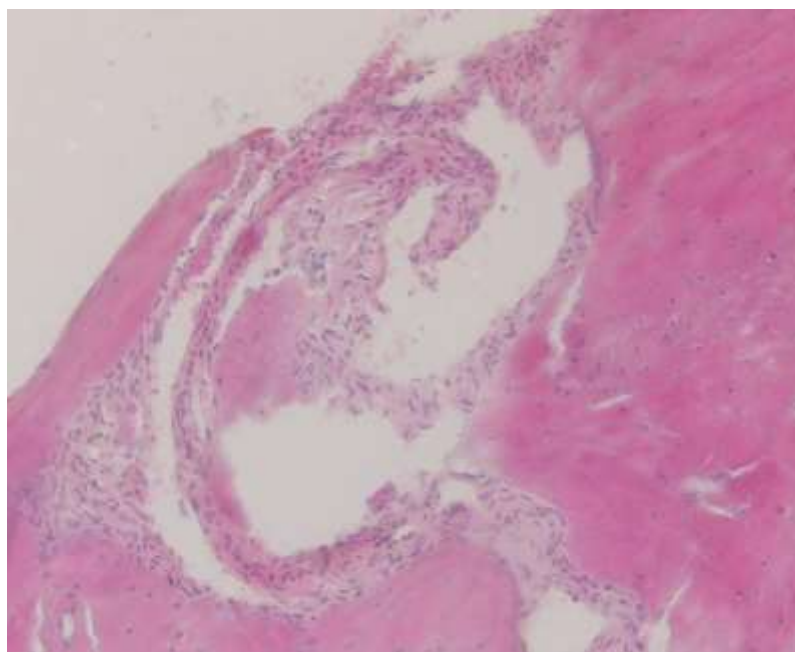


Рисунок 51 – Зона дефекта кости без заполнения костнозамещающим материалом (контрольная группа) через 30 дней, представлена соединительной тканью с диффузно-очаговой лимфоцитарной инфильтрацией окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$

Через 90 дней в контрольной серии в области смоделированного дефекта кости определяется рыхлая волокнистая ткань с мелкими молодыми сосудами. Среди участков рыхлой волокнистой соединительной ткани определяются формирующиеся костные балки, окруженные остеобластами (Рисунок 52).

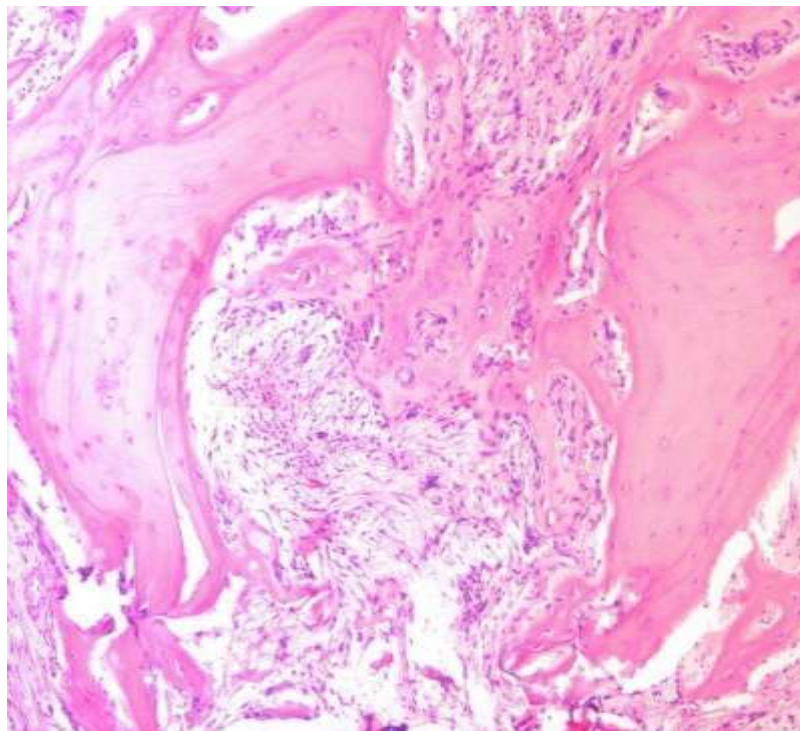


Рисунок 52 – Зона дефекта кости без заполнения (контрольная группа), через 90 дней выраженная перестройка костной ткани в области повреждения, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$

Через 180 дней экспериментального исследования в группе контрольной серии (без заполнения дефекта) область дефекта частично восстановлена костью, в центральном участке дефекта отмечается не завершенный процесс остеогенеза, характеризующийся значительным количеством остеогенных клеток и сосудов. Эти признаки подчеркивают продолжающийся процесс репаративной регенерации (Рисунок 53).

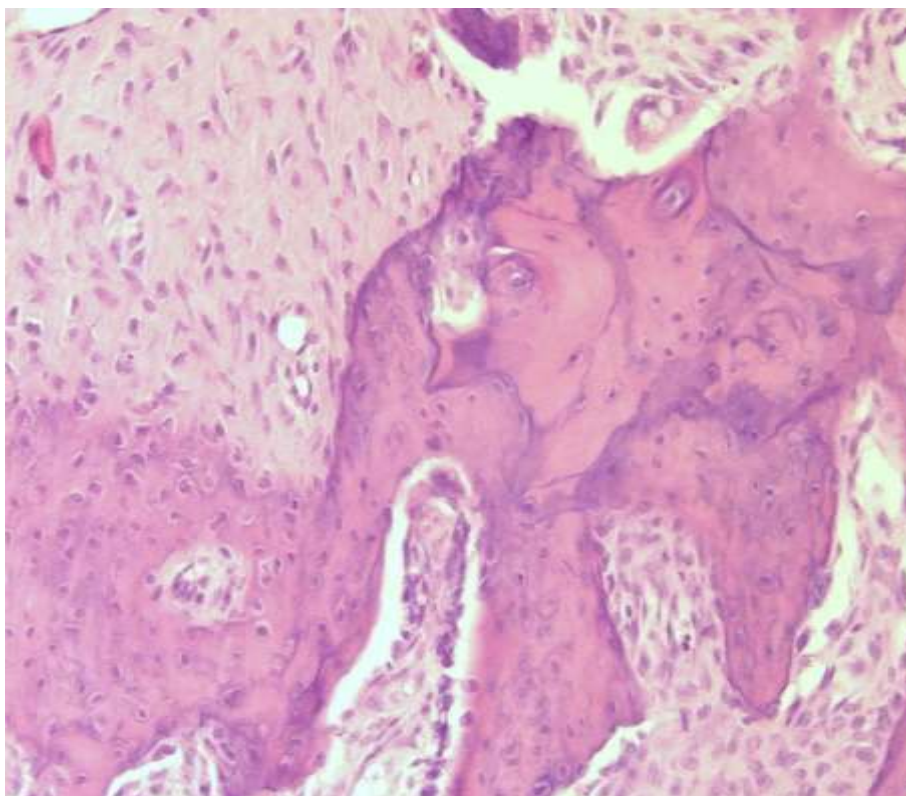


Рисунок 53 – Область дефекта кости без заполнения (контрольная группа) через 180 дней процесс репаративной регенерации с активной перестройкой кости, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$

3.4.2 Данные морфометрии экспериментальной группы 4 (без заполнения дефекта)

По данным морфометрии кости в экспериментальной группе животных 4 при восстановлении дефекта без заполнения, через 14 суток количество остеогенных клеток составляло – 2,18, количество сосудов на данном сроке наблюдения составляло – 1,9 (Таблица 7).

Через 30 дней отмечается увеличение количества остеогенных клеток в 1,4 раза относительно срока 14 дней, составляло 3,09 ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). Количество сосудов увеличилось относительно срока 14 дней в 1,6 раза, составляло 3,1 ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). Увеличение количества остеогенных клеток и сосудов в зоне дефекта свидетельствует о факте наличия остеогенеза в зоне дефекта.

Через 90 дней по данным морфометрии количество клеток остеогенного ряда увеличилось в 1,7 раза, количество сосудов в 1,3 раза относительно срока наблюдения 30 дней и оба показателя достигли максимального значения относительно всего периода эксперимента – 5,22 и 4,1 соответственно ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). Полученные данные подтверждают факт наличия активного остеогенеза и формирование примитивной кости (Таблица 7).

Через 180 дней при восстановлении дефекта без заполнения показатель количества остеогенных клеток показал тенденцию к снижению в 1,3 раза относительно срока 90 дней наблюдения в данной экспериментальной группе, достиг уровня – 4,16. Численный показатель сосудов уменьшился относительно предыдущего срока наблюдения в 2,2 раза ($P < 0,001666$, с учетом поправки Бонферрони). Полученные показатели подтверждают факт отсутствия активного остеогенеза и наличия сформированной кости в исследуемой зоне (Рисунок 54).

Таблица 7 – Данные морфометрии кости в контрольной группе ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони

Структурные компоненты	Сроки наблюдения			
	14-й день	30-й день	90-й день	180-й день
Остеогенные клетки	$2,18 \pm 1,01$	$3,09 \pm 1,02$	$5,22 \pm 1,29$	$4,16 \pm 1,3$
Сосуды	$1,9 \pm 1,1$	$3,1 \pm 0,91$	$4,1 \pm 1,84$	$1,86 \pm 0,84$

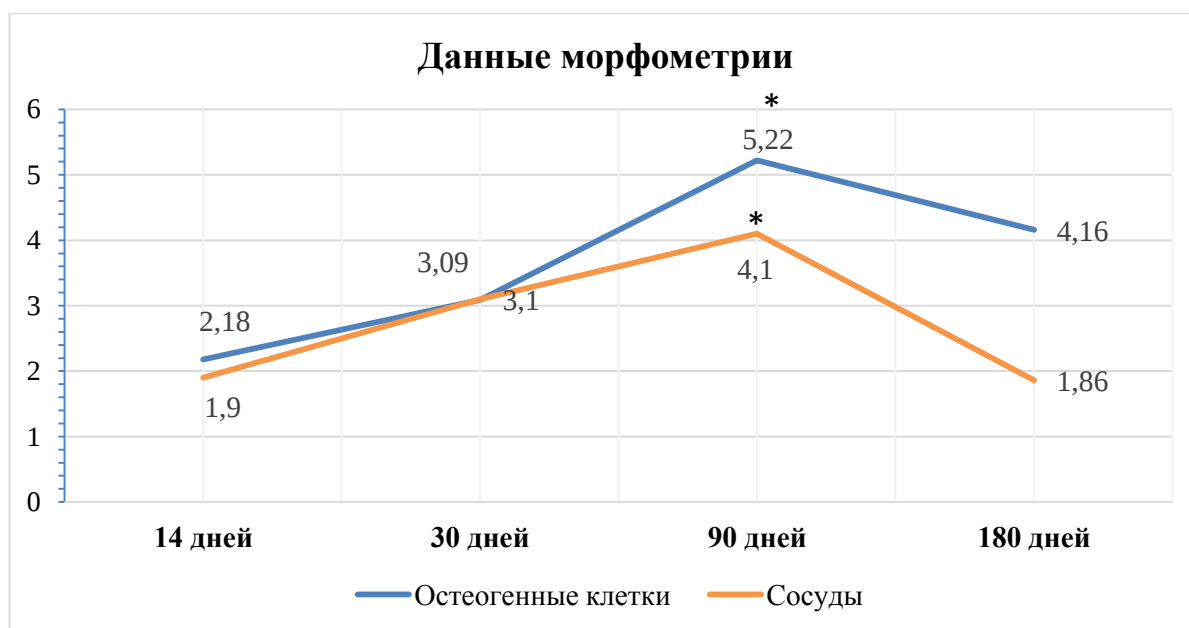


Рисунок 54 – Данные морфометрии области дефекта кости, контрольной группе

3.4.3 Исследование плотности кости экспериментальной группы 4

Анализ показателей плотности кости в экспериментальной группе животных 4, где восстановление дефекта происходило без заполнения, показал через 30 дней плотность кости точки 1, расположенной в центре дефекта, меньше в 1,3 раза плотности кости в точке 2, расположенной в дистальном отделе дефекта ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони для точек 1 и 2 соответственно) (Таблица 8).

Показатель плотности интактной кости в области угла нижней челюсти (точка 3) в среднем в 4,4 раза превышает показатель плотности точки 1 и в 3,3 раза превышает показатель плотности точки 2 ($P < 0,001666$; $P < 0,001666$ с для точек соответственно). Полученные данные свидетельствуют о процессе формирования кости в направлении от реципиентного ложа к центру дефекта.

Через 90 дней плотность кости центральной части дефекта в контрольной точке 1 составили 347 HU и в точке 2 составили 613 HU, данные показатели ниже в 3,04 раза и в 1,71 раза показателя плотности кости нижней челюсти в точки 3 – 1 054 HU соответственно ($P < 0,001666$; $P < 0,001666$ соответственно с учетом

поправки Бонферрони). Общий показатель рентгеновской плотности костной ткани в месте дефекта равен 480 условных единиц Хаунсфилда, что соответствует классу D3 по шкале Mischa.

Через 180 дней плотность кости периферической части дефекта в контрольной точке 2 в 1,14 раза ниже показателя плотности интактной кости в точке 3 и составил 948 НУ. Показатель плотности кости в точке 1 составил 784 НУ, что в 1,4 раза ниже показателя плотности кости нижней челюсти в точке 3 ($P < 0,001666$; $P < 0,001666$ соответственно, с учетом поправки Бонферрони). Общий показатель рентгеноплотности кости в области дефекта достиг 866 НУ, что соответствует типу D2 по классификации Misch (Рисунки 55 и 56).

Таблица 8 – Показатель плотности кости в группе без заполнения дефекта. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони

Срок наблюдения	Средний показатель Точка 1	Средний показатель Точка 2	Общий показатель плотности дефекта	Средний показатель Точка 3
30 дней	236 ± 2,3	318 ± 2,0	277 ± 1,8	1 034 ± 2,3
90 дней	347 ± 2,2	613 ± 2,2	480 ± 2,1	1 054 ± 2,2
180 дней	784 ± 1,2	948 ± 1,8	866 ± 2,0	1 080 ± 2,1
Примечание: точка 1 – центр дефекта, точка 2 – точка контакта с ложем реципиента, точка 3 – интактная кость угла нижней челюсти.				

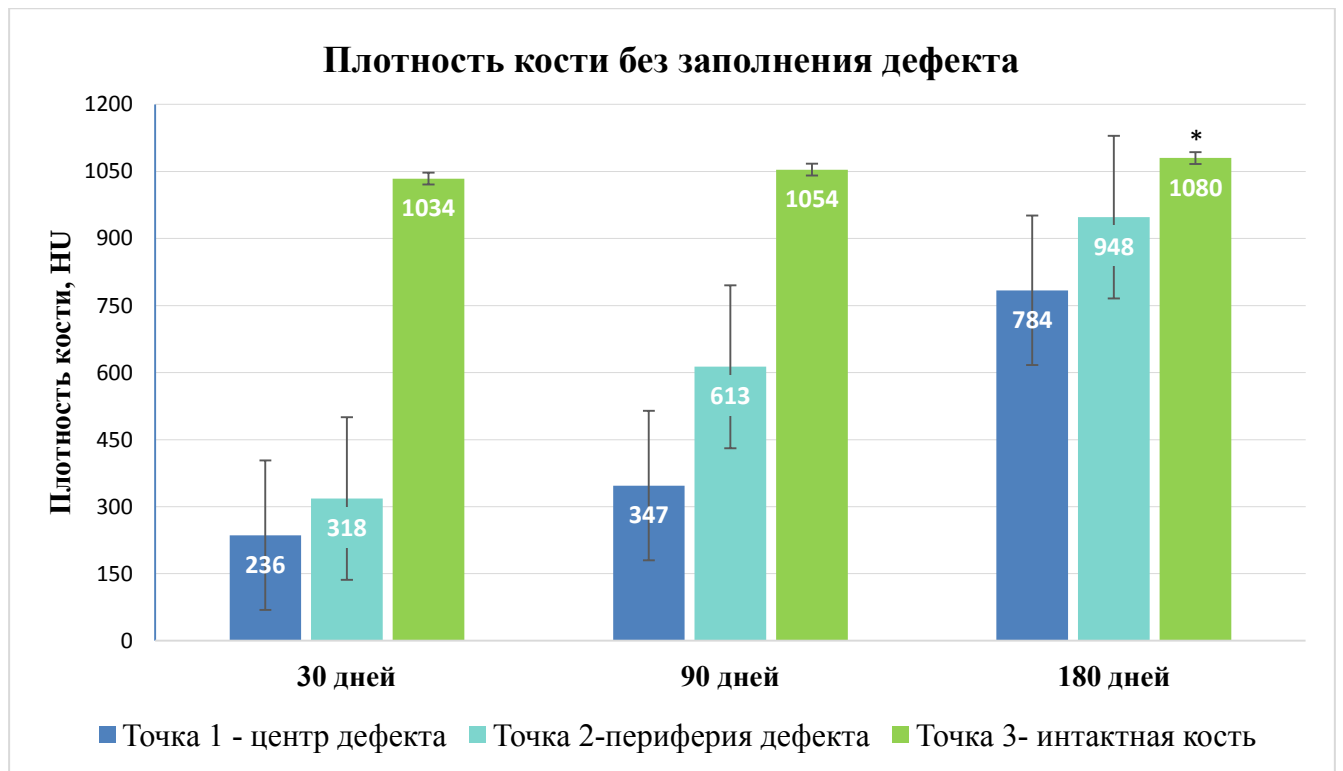


Рисунок 55 – Результаты исследования плотности кости в группе без замещения дефекта в точке 1, 2, 3 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони

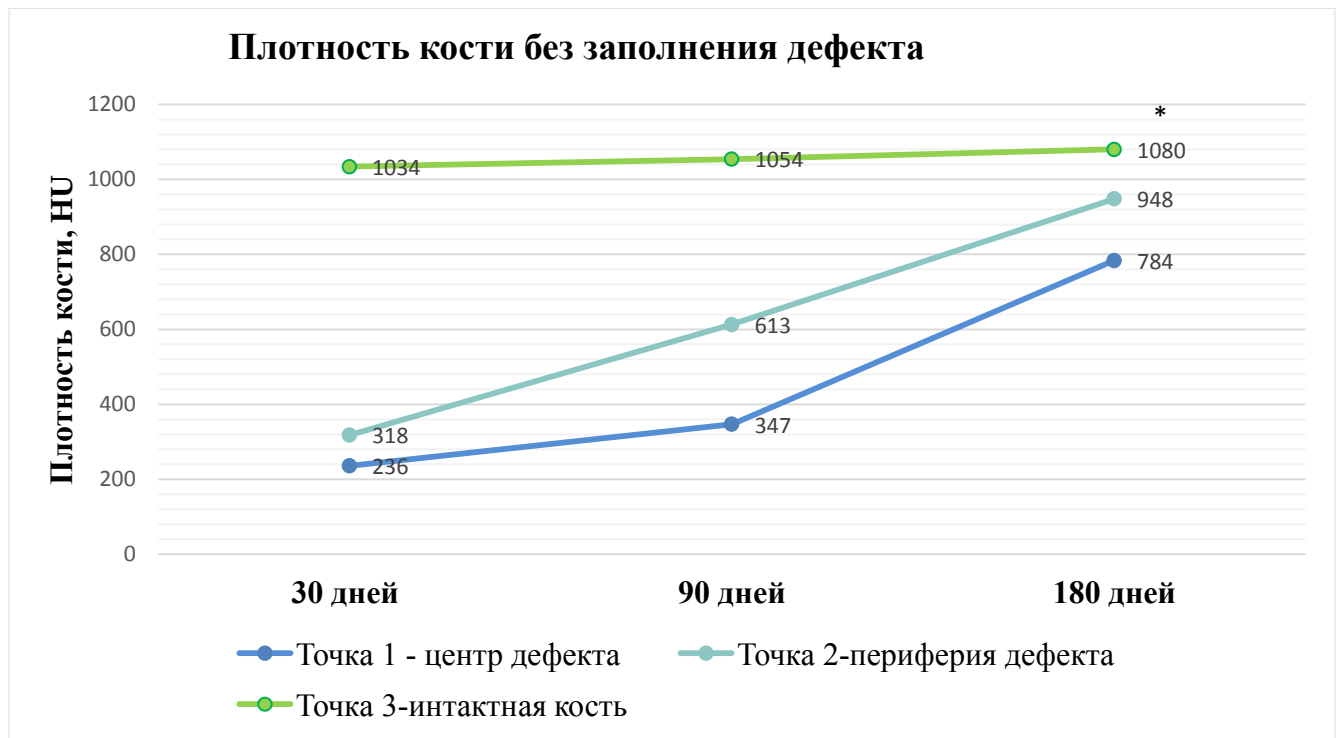


Рисунок 56 – Динамика плотности кости в группе без замещения дефекта в точке 1, 2, 3 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони

ГЛАВА 4 СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЗУЛЬТАТОВ ЭКСПЕРИМЕНТА

Сравнительный анализ полученных результатов плотности кости проводили между экспериментальной группой 1, в которой дефект кости нижней челюсти заполняли аутотрансплантатом, и группой 4 с восстановлением дефекта кости без заполнения. Второй парой для сравнения являлась экспериментальная группа 3, в которой дефект кости нижней челюсти заполняли остеотрансплантатом, и группа 4 с дефектом кости нижней челюсти без заполнения. И в третьей паре сравнения проводили оценку результатов экспериментальной группы 1 и группы 3.

4.1 Сравнительный анализ морфологических особенности кости при замещении дефекта аутотрансплантатом и в группе без замещения дефекта

На основании полученных нами данных на сроке 30 дней общий показатель плотности кости при замещении дефекта аутотрансплантатом выше показателя плотности кости группы контроля в 1,99 раза (Таблица 9), является статистически значимым значением ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). На сроке 90 дней показатель плотности кости при замещении дефекта аутотрансплантатом продолжает оставаться выше показателя плотности кости группы контроля в 1,73 раза с незначительным уменьшением показателем разности данных групп и является статистически значимым значением ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). На сроке 180 дней общий показатель плотности кости при замещении дефекта аутотрансплантатом соответствует плотности интактной кости D3 по Mish, при этом общий показатель плотности контрольной группы в 1,08 раза ниже плотности интактной кости и соответствует показателю плотности кости группы 1 на сроке 90 дней (Рисунок 57).

Таблица 9 – Сравнительный анализ плотности кости группы 1 (при замещении аутооттрансплантатом) и группы 4 (контрольная группа). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони ($M \pm SD$)

Срок наблюдения	Общий показатель плотности кости группы 1	Общий показатель плотности кости группы 4	Показатель плотности интактной кости
30 дней	$551 \pm 2,6$	$277 \pm 1,7$	$1034 \pm 2,3$
90 дней	$932 \pm 1,7$	$480 \pm 1,5$	$1054 \pm 2,2$
180 дней	$1064 \pm 2,6$	$866 \pm 0,8$	$1080 \pm 2,1$
Примечание: точка 1 – центр дефекта, точка 2 – точка контакта с ложем реципиента, точка 3 – интактная кость угла нижней челюсти.			

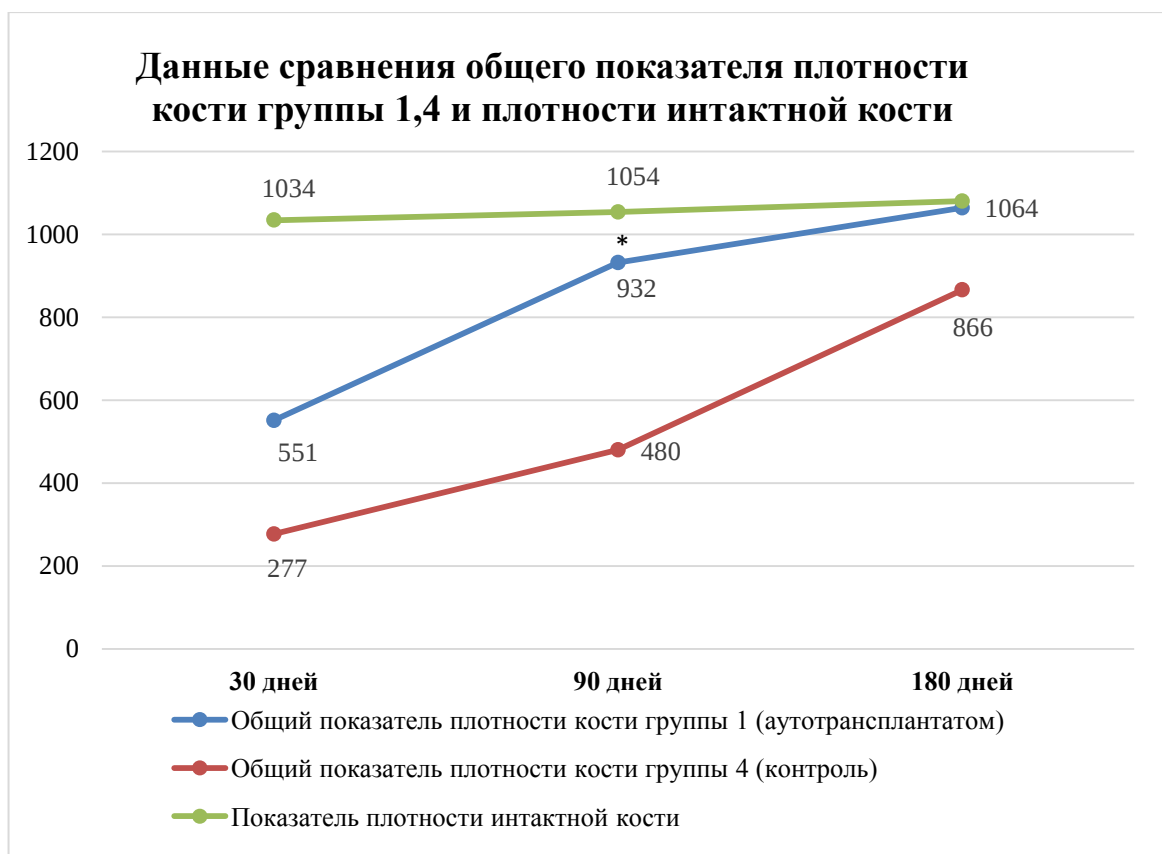


Рисунок 57 – Сравнительный анализ плотности кости группы 1 (при замещении аутооттрансплантатом) и группы 4 (контрольная группа)

При сравнении показателей плотности кости в точке 1 и в точке 2 на сроке

30 дней в группе 1, при заполнении дефекта аутотрансплантатом отмечалось увеличение плотности в точке 1 (центральная зона дефекта), в то время как в контрольной группе плотность кости выше отмечалась в точке 2 (зона контакта с ложем реципиента). Это связано с тем, что аутотрансплантат представлен фрагментами собственной кости, и процесс резорбции активно протекал в периферическом отделе, при этом в центральном отделе процесс резорбции отмечался на начальном этапе. В контрольной серии уменьшение плотности кости в центральной точке происходило за счет заполнения дефекта соединительно-тканым регенератом, а увеличение плотности в точке 2 происходило за счет начального процесса остеогенеза с зоны реципиента (Таблица 10).

На сроке 90 дней отмечалось увеличение плотности кости в периферическом отделе дефекта в двух группах сравнения за счет продолжающегося процесса остеогенеза, направленного от зоны реципиента к центральной зоне дефекта. К 180 дням эксперимента плотность кости при заполнении дефекта аутотрансплантатом в точке 1 соответствует плотности интактной кости и в 1,3 раза выше плотности кости точки 1 контрольной группы. Плотность кости в точке 2 группы 1 соответствовала плотности интактной кости и в 1,1 раза была выше плотности кости точки 1 контрольной группы. Полученные данные показали, что в контрольной серии незавершенный процесс остеогенеза (Рисунок 58).

Таблица 10 – Сравнительный анализ плотности кости группы в центральной точке (точка 1) и периферической точке (точка 2) в группе 1 и 4. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони ($M \pm SD$)

Срок наблюдения	Плотность кости точки 1 группы 1	Плотность кости точки 2 группы 1	Плотность кости точки 1 группы 4	Плотность кости точки 2 группы 4
30 дней	$620 \pm 2,4$	$482 \pm 1,8$	$236 \pm 2,3$	$318 \pm 2,0$
90 дней	$842 \pm 2,0$	$1022 \pm 1,8$	$347 \pm 2,2$	$613 \pm 2,2$
180 дней	$1049 \pm 1,8$	$1078 \pm 2,0$	$784 \pm 1,5$	$948 \pm 1,8$

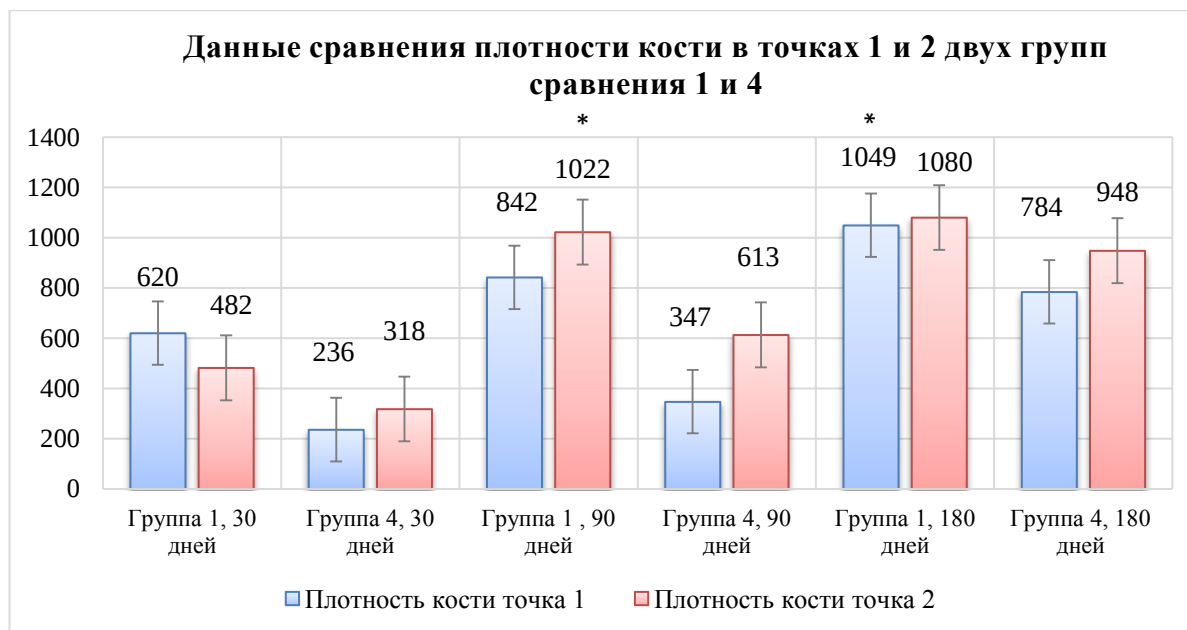


Рисунок 58 – Сравнительный анализ плотности кости группы в центральной точке (точка 1) и периферической точке (точка 2) в группе 1 (замещение дефекта аутооттрансплантатом и в группе 4 (контроль)

При сравнении показателей морфометрии экспериментальной группы 1 при замещении дефекта аутооттрансплантатом и группы 4 без замещения дефекта (контрольная группа) на сроке 14 дней количество остеогенных клеток в группе 1 в 1,2 раза превышало количество остеогенных клеток группы 4 ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони), при этом количество сосудов на данном сроке наблюдения превышало в 1,4 раза в группе 1, относительно количества сосудов группы 4 ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони).

Через 30 дней показатель количества остеогенных клеток группы 1 в 1,5 раза выше показателя количества остеобластов группы 4, составляло 4,5 и 3,09 соответственно ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). Количество сосудов группы 1 в 1,56 раза выше количества сосудов группы 4 без заполнения дефекта ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони).

Через 90 дней по данным морфометрии количество клеток остеогенного ряда 1-й группы в 1,1 раза выше количества остеогенных клеток группы 4 – 6,41 и 5,22 соответственно ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). Количество

сосудов группы 1 в 1,25 раза выше показателя количества сосудов в экспериментальной группе 4 ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони).

Через 180 дней в области дефекта, заполненного аутооттрансплантатом, показатель количества остеогенных клеток в 1,2 раза ниже относительно показателя остеобластов группы 4, составлял – 3,41 и 4,16 соответственно ($P < 0,001666$, с учетом поправки Бонферрони). Показатель количества сосудов группы 1 и 4 находился в пределах 1,86 и не имел значимых статистических различий ($P > 0,001666$, с учетом поправки Бонферрони). Полученные данные подтверждают факт наличия процесса активного остеогенеза в группе 1 на сроке 30 дней и максимальной активности на сроке 90 дней, в то время как в группе 4 процесс активного остеогенеза приходится на срок 90 дней и формирование кости в зоне дефекта в более поздние сроки.

4.2 Сравнение структуры кости нижней челюсти в группе при заполнении дефекта остеотрансплантатом с группой без заполнения дефекта

По полученным данным на сроке 30 дней общий показатель плотности кости при замещении дефекта остеотрансплантатом выше показателя плотности кости группы контроля в 1,72 раза (Таблица 11), является статистически значимым значением ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). На сроке 90 дней показатель плотности кости при замещении дефекта остеотрансплантатом достиг показателя плотности интактной кости D2 по Mish, при этом продолжает оставаться значительно выше (в 2,2 раза) показателя плотности кости группы контроля и является статистически значимым значением ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). На сроке 180 дней общий показатель плотности кости при замещении дефекта остеотрансплантатом соответствует плотности органоспецифической интактной кости, при этом общий показатель плотности контрольной группы в 1,08 раза ниже плотности интактной кости (Рисунок 59).

Таблица 11 – Сравнительный анализ плотности кости групп 3 и 4. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони ($M \pm SD$)

Срок наблюдения	Общий показатель плотности кости группы 3	Общий показатель плотности кости группы 4	Показатель плотности интактной кости
30 дней	$476 \pm 1,5$	$277 \pm 1,7$	$1034 \pm 2,3$
90 дней	$1055 \pm 1,7$	$480 \pm 1,5$	$1054 \pm 2,2$
180 дней	$1077 \pm 1,2$	$866 \pm 0,8$	$1080 \pm 2,1$
Примечание: точка 1 – центр дефекта, точка 2 – точка контакта с ложем реципиента, точка 3 – интактная кость угла нижней челюсти.			

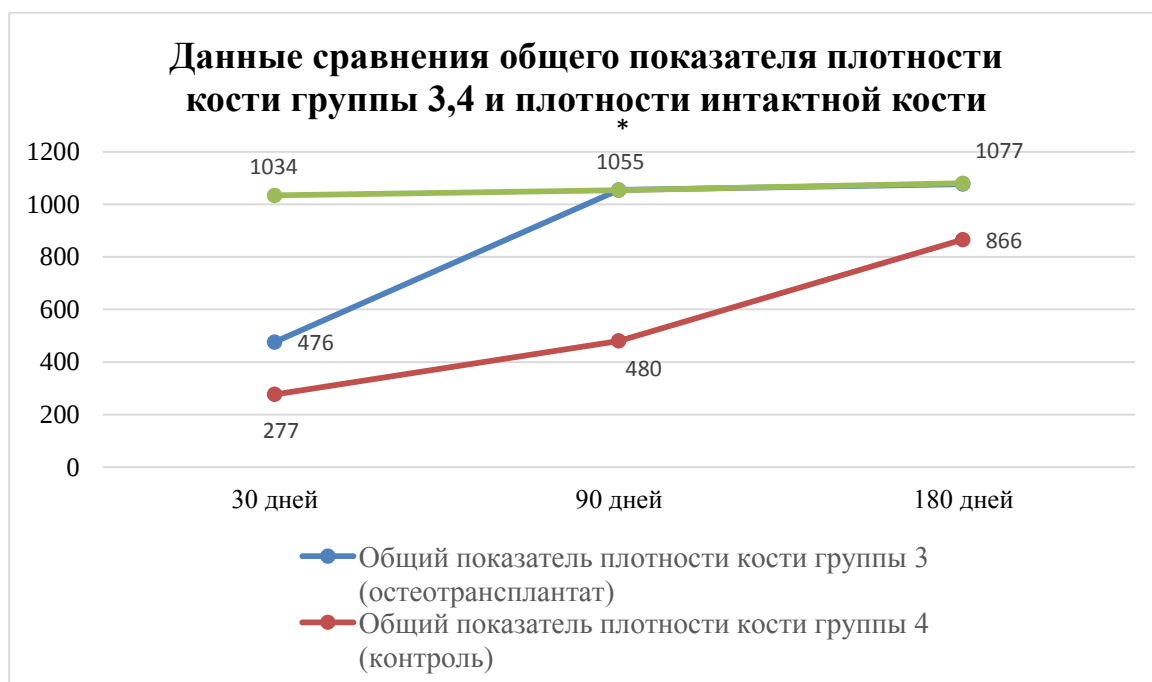


Рисунок 59 – Сравнительный анализ плотности кости группы при замещении остеотрансплантатом (группа 3) и контрольной группы (группа 4)

При сравнении показателей плотности кости в точке 1 и в точке 2, на всех сроках в группе 3, при заполнении дефекта остеотрансплантатом не отмечалось статистически значимых различий плотности кости между двумя точками (Таблица 12), в то время как в контрольной группе плотность кости выше

отмечалась в точке 2 (зона контакта с ложем реципиента). Это связано с тем, что остеотрансплантат представлен трехмерной структурой, состоящей из матрикса и клеточных элементов и процесс остеогенеза проходит равномерно вне зависимости от расположения относительно зоны реципиента. В контрольной серии уменьшение плотности кости в центральной точке происходило за счет заполнения дефекта соединительно-тканым регенератом, а увеличение плотности в точке 2 происходило за счет начального процесса остеогенеза с зоны реципиента.

На сроке 90 дней отмечалось равномерное увеличение плотности кости в группе 3 и увеличение плотности кости в периферическом отделе дефекта в 4-й группе сравнения, за счет продолжающегося процесса остеогенеза, направленного от зоны реципиента к центральной зоне дефекта. К 180 дням эксперимента плотность кости при заполнении дефекта остеотрансплантатом в точке 1 и в точке 2 соответствует плотности интактной кости без статистически значимых отличий между собой. Плотность кости в точке 1 группы 4 в 1,4 раза ниже плотности кости точки 1 группы 3 и плотность кости точки 2 в 1,1 раза ниже плотности кости точки 2 группы 3. Полученные данные подтверждают, что в контрольной серии процесс остеогенеза незавершенный (Рисунок 60).

Таблица 12 – Сравнительный анализ плотности кости группы в центральной точке (точка 1) и периферической точке (точка 2) в группах 3 и 4. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони ($M \pm SD$)

Срок наблюдения	Плотность кости точки 1 группы 3	Плотность кости точки 2 группы 3	Плотность кости точки 1 группы 4	Плотность кости точки 2 группы 4
30 дней	$472 \pm 2,3$	$480 \pm 1,8$	$236 \pm 2,3$	$318 \pm 2,0$
90 дней	$1\,038 \pm 2,0$	$1\,072 \pm 2,0$	$347 \pm 2,2$	$613 \pm 3,2$
180 дней	$1\,066 \pm 2,2$	$1\,088 \pm 1,8$	$784 \pm 1,5$	$948 \pm 1,8$

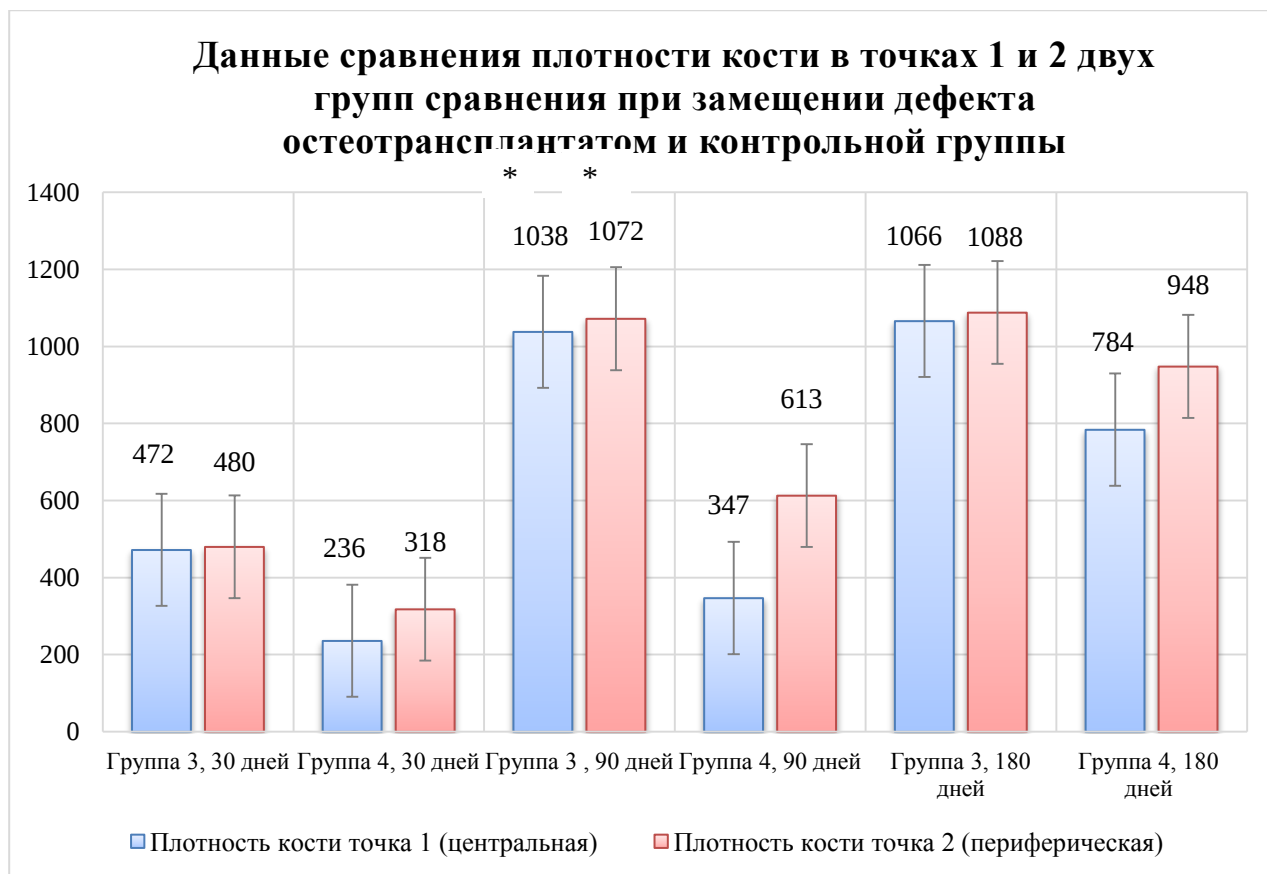


Рисунок 60 – Сравнительный анализ плотности кости групп 3 и 4 в центральной точке (точка 1) и периферической точке (точка 2) в группе при имплантации остеотрансплантата и контрольной группы

При сравнении показателей морфометрии экспериментальной группы 3 при замещении дефекта остеотрансплантатом и группы 4 (контрольная группа), на сроке 14 дней количество остеогенных клеток в группе 3 в 1,9 раза превышало количество остеогенных клеток группы, при этом количество сосудов на данном сроке наблюдения превышало в 2,4 раза в группе 3 относительно количества сосудов группы 4 ($P < 0,001666$; с учетом поправки Бонферрони).

Через 30 дней показатель количества остеогенных клеток группы 3 в 1,9 раза выше показателя количества остеогенных клеток группы 4, что составляло 5,76 и 3,09 соответственно ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). Количество сосудов группы 3 в 1,7 раза выше количества сосудов группы 4 ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони).

Через 90 дней по данным морфометрии количество клеток остеогенного ряда 4-й группы в 1,1 раза выше количества остеогенных клеток группы 3 – 5,22 и 4,71 соответственно ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). Количество сосудов группы 4 в 1,4 раза выше показателя количества сосудов в экспериментальной группе 3 ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони).

Через 180 в области дефекта, заполненного остеотрансплантатом показатель количества остеогенных клеток в 1,1 раза ниже относительно показателя остеогенных клеток группы 4, составлял – 3,86 и 4,16 соответственно ($P < 0,001666$, с учетом поправки Бонферрони). Показатель количества сосудов группы 3 в 1,3 раза ниже показателя количества сосудов группы 4 ($P > 0,001666$, с учетом поправки Бонферрони). Полученные данные подтверждают факт наличия процесса активного остеогенеза в группе 3 на сроке 30 дней и сформированной кости на сроке 90 дней, в то время как в группе 4 процесс активного остеогенеза приходится на срок 90 дней и формирование кости в зоне дефекта в более поздние сроки.

4.3 Сравнительная характеристика костных структур в области замещения дефекта аутоотрансплантатом и при использовании остеотрансплантата

По полученным данным, на сроке 30 дней общий показатель плотности кости при замещении дефекта аутоотрансплантатом оказался выше показателя плотности кости группы при замещении дефекта остеотрансплантатом в связи с тем, что аутоотрансплантат представлен фрагментами собственной костной ткани, частично не резорбированной на данном сроке (Таблица 13) ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). На сроке 90 дней показатель плотности кости при замещении дефекта остеотрансплантатом имел достоверные отличия, а именно, в 1,13 раза выше показателя плотности кости группы 1 и достиг показателя плотности интактной кости D2 по Mish ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). На сроке 180 дней общий показатель плотности кости при

замещении дефекта остеотрансплантатом и аутоотрансплантатом соответствует плотности органоспецифической интактной кости, при этом общий показатель плотности группы 1 на 13 HU ниже плотности кости группы 3 (Рисунок 61).

Таблица 13 – Сравнительный анализ плотности кости групп 1 и 3. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони ($M \pm SD$)

Срок наблюдения	Общий показатель плотности кости группы 1	Общий показатель плотности кости группы 3	Показатель плотности интактной кости
30 дней	$551 \pm 2,6$	$476 \pm 1,5$	$1\ 032 \pm 2,2$
90 дней	$932 \pm 1,7$	$1\ 055 \pm 1,7$	$1\ 071 \pm 1,6$
180 дней	$1\ 064 \pm 2,6$	$1\ 077 \pm 1,2$	$1\ 080 \pm 1,9$
Примечание: точка 1 – центр дефекта, точка 2 – точка контакта с ложем реципиента, точка 3 – интактная кость угла нижней челюсти.			

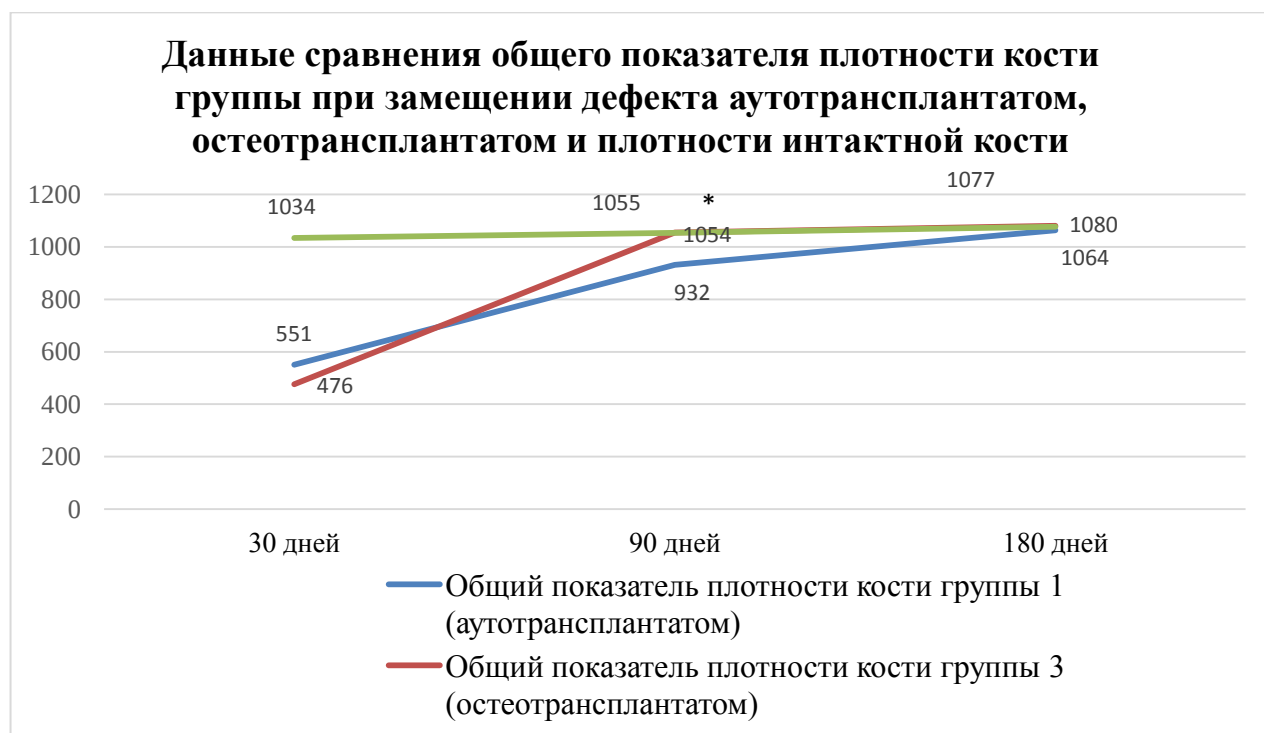


Рисунок 61 – Сравнительный анализ плотности кости группы при имплантации аутоотрансплантата и остеотрансплантата

При сравнении показателей плотности кости в точке 1 и в точке 2, на всех сроках в группе 3, при заполнении дефекта остеотрансплантатом не отмечалось статистически значимых различий плотности кости между двумя точками (Таблица 14). Это объясняется тем, что остеотрансплантат имеет трехмерную структуру, собственный матрикс, клеточный состав и сосуды, и процесс остеогенеза не подвергается резорбции, а встраивается в сосудистое русло материнского ложа. В то время как в группе 1 на сроке 30 дней отмечалось увеличение плотности в точке 1 (центральная зона дефекта). Это связано с тем, что аутоотрансплантат представлен фрагментами собственной кости, и процесс резорбции активно протекал в периферическом отделе, при этом в центральном отделе процесс резорбции отмечался на начальном этапе.

На сроке 90 дней отмечалось равномерное увеличение плотности кости в группе 3 в точке 1 и в точке 2, показатели плотности точек достигли показателя плотности интактной кости D3 по Mish, является статистически значимым значением ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). В группе 1 отмечалось увеличение плотности кости в периферическом отделе дефекта в сравнении с плотностью кости в центральной части дефекта за счет продолжающегося процесса остеогенеза, направленного от зоны реципиента к центральной зоне дефекта. К 180 дням эксперимента плотность кости при заполнении дефекта остеотрасплантатом и аутоотрасплантатом в точке 1 и в точке 2 соответствует плотности интактной кости. Полученные данные подтверждают, что в группе 1 и 3 заверченный процесс остеогенеза (Рисунок 62).

Таблица 14 – Сравнительный анализ плотности кости группы в центральной точке (точка 1) и периферической точке (точка 2) в группе при замещении аутотрансплантатом и остеотрансплантатом. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони ($M \pm SD$)

Срок наблюдения	Плотность кости точки 1 группы 1	Плотность кости точки 2 группы 1	Плотность кости точки 1 группы 3	Плотность кости точки 2 группы 3
30 дней	$620 \pm 2,4$	$482 \pm 1,8$	$472 \pm 2,3$	$480 \pm 1,8$
90 дней	$842 \pm 2,0$	$1\,022 \pm 2,0$	$1\,038 \pm 2,0$	$1\,072 \pm 2,0$
180 дней	$1\,049 \pm 1,8$	$1\,078 \pm 2,3$	$1\,066 \pm 2,2$	$1\,088 \pm 1,8$

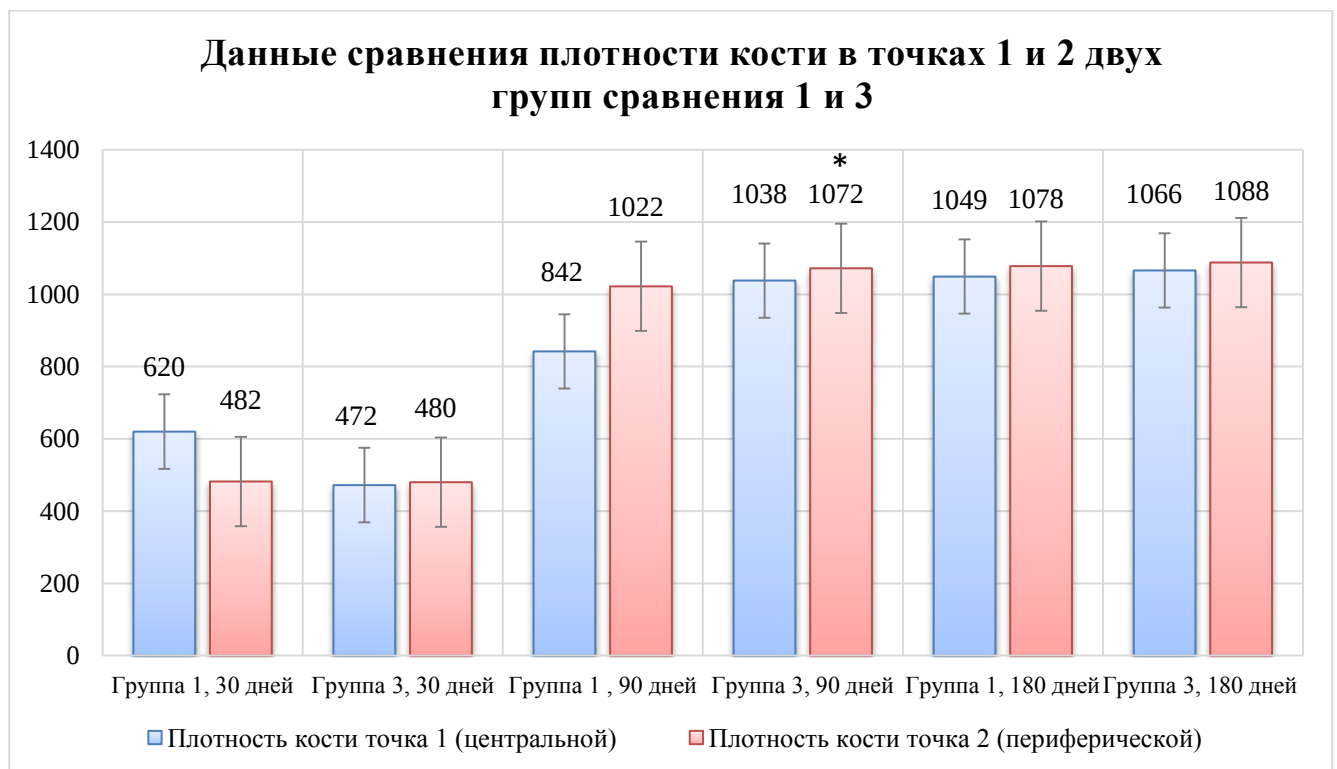


Рисунок 62 – Сравнительный анализ плотности кости группы в центральной точке (точка 1) и периферической точке (точка 2) при имплантации аутотрансплантата и остеотрансплантата

При сравнении показателей морфометрии экспериментальной группы 1 при замещении дефекта аутотрансплантатом и группы 3 при замещении дефекта

остеотрансплантатом, на сроке 14 дней количество остеогенных клеток в группе 3 в 1,6 раза превышало количество остеогенных клеток группы 1, ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони), при этом количество сосудов на данном сроке наблюдения в 1,7 раза превышало количество сосудов группы 1 и составляло 4,57 и 2,67 соответственно ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони).

Через 30 дней показатель количества остеогенных клеток группы 3 в 1,3 раза выше показателя количества остеогенных клеток группы 1, составляло 5,76 и 4,5 соответственно ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). Количество сосудов группы 3 в 1,1 раза выше количества сосудов группы 1 ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони).

Через 90 дней по данным морфометрии количество клеток остеогенного ряда 3-й группы в 1,4 раза ниже количества остеогенных клеток группы 1 – 4,71 и 6,41 соответственно ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони). Количество сосудов группы 3 в 1,8 раза ниже показателя количества сосудов в экспериментальной группе 1 ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони).

Через 180 дней в области дефекта, заполненного остеотрансплантатом, показатель количества остеогенных клеток в группе 3 и группе 1 находился на одном уровне и составлял – 3,56 и 3,41 соответственно ($P < 0,001666$, с учетом поправки Бонферрони). Показатель количества сосудов группы 3 в 1,3 раза ниже показателя количества сосудов группы 1 ($P > 0,001666$, с учетом поправки Бонферрони). Полученные данные подтверждают факт наличия процесса активного остеогенеза в группах 1 и 3 на сроке 30–90 дней, при этом в группе 3 отмечается сформированная кость на сроке 90 дней, в группе 1 формирование кости в зоне дефекта в более поздние сроки.

ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на большое разнообразие современных остеопластических материалов, используемых для восстановления дефектов нижней челюсти, ученые продолжают искать остеопластический материал, исключая возможные недостатки. С целью изучения морфологических особенностей регенерации кости дефекта нижней челюсти при применении хондротрансплантата и остеотрансплантата в сравнении было проведено экспериментальное исследование с формированием дефекта в области угла нижней челюсти крысы линии Wistar. Сроки наблюдения были установлены 14, 30, 90 и 180 дней. По результатам исследования были оценены морфологические особенности строения дефекта кости при трансплантации хондротрансплантата остеотрансплантата и аутоотрансплантата, проведена морфометрия структурных компонентов дефекта и произведен сравнительный анализ плотности кости в области замещения дефекта.

По данным литературы, в экспериментальном исследовании при замещении дефекта кости тела позвонка хондротрансплантатом через четыре недели костный дефект был восстановлен костной тканью, с последующим ремоделированием в органоспецифическую ткань, характерную для данной области [30]. Описанные результаты позволяют рассмотреть возможность внедрения применения хондротрансплантата в качестве материала для восстановления дефекта кости опорно-двигательного аппарата. Однако в ходе нашего исследования было выявлено, что при замещении дефекта кости в области угла нижней челюсти хондротрансплантатом на всех сроках наблюдения определялась грануляционная ткань с диффузной полиморфноклеточной инфильтрацией и фокусами некроза. Признаков остеогенеза не выявлено. Эти результаты объясняются особенностями прямого остеогенеза, который наблюдается в нижней челюсти. Процесс остеогенеза в нижней челюсти проходит без промежуточной хрящевой стадии и основан на формировании мезенхимального остеогенного очага, внутрь которого проникают сосуды. Обильное кровоснабжение способствует тому, что клетки мезенхимы начинают специализироваться в предшественников остеогенных

клеток. Сначала клетки останавливают своё деление, приобретают округлую форму, их отростки утолщаются и сливаются друг с другом. На следующем этапе, сразу минуя стадию хряща, эти клетки окончательно созревают в остеобласты – многоугольные клетки со смещённым к краю ядром и интенсивно базофильной цитоплазмой, способные синтезировать органический компонент костной ткани. На основании полученных результатов доказан факт, что при применении хондротрансплантата не происходит регенерация кости дефекта нижней челюсти и трансплантат неприменим в качестве остеопластического материала в данной анатомической области.

Применение остеотрансплантата при регенерации кости дефекта нижней челюсти в качестве остеогенного материала было проанализировано в экспериментальной группе III. Установлено, что к 30 суткам наблюдения происходит дифференцировка остеотрансплантата в примитивную кость, состоящую из новообразованных костных балок, между которыми расположены сосуды, наполненные элементами крови и соединительной тканью. Интеграция сосудистых элементов остеотрансплантата в кровеносную систему организма-реципиента позволяет создать единую сосудистую сеть. Это обеспечивает поступление необходимых веществ и сигнальных молекул непосредственно в область костной ткани, подвергшуюся пересадке. Благодаря этому достигается стимуляция процессов регенерации костей нижней челюсти, что делает возможным дальнейшее развитие костного материала и восстановление кости. В межбалочное пространство ложа костного дефекта внедряются остеогенные компоненты из остеотрансплантата. Следует отметить, что репаративный остеогенез - многокомпонентный процесс, основными составляющими которого являются дифференцирование клеток, их пролиферация, резорбция погибшей кости и новообразуемой кости при ее ремоделировании, формирование органического внеклеточного матрикса, его минерализация. Все эти процессы реализуются одновременно, но на разных этапах репаративного остеогенеза [12].

На сроке 90 дней были получены наглядные значимые результаты, отражающие как морфологические перестройки в области заполнения дефекта,

так и общий показатель плотности кости в зоне дефекта составлял 1 055 HU и соответствовал показателю плотности интактной зоны (1 054 HU), показатели плотности центральной и периферической зоны дефекта не имели значимых отличий – 1 038 HU, 1 072 HU соответственно срокам. Данные результаты говорят о формировании органоспецифической костной ткани на сроке 90 дней, при этом процесс регенерации происходит равномерно во всех зонах дефекта вне зависимости от точки относительно зоны реципиента. По данным морфометрии при трансплантации остеотрансплантата отмечался активный рост количественных показателей остеогенных клеток и сосудов на сроках наблюдения 30 дней и уменьшение количества данных показателей на сроке наблюдения 90 дней, что подтверждает факт формирования кости на сроке 90 дней.

Рассматривая результаты, полученные при сравнительном анализе восстановления дефекта кости нижней челюсти костным аутоотрасплататом и контрольной серии без заполнения дефекта остеопластическими материалами, что в настоящее время является «золотым стандартом» [28], было установлено, что общий показатель плотности кости при трансплантации аутоотрасплатата имел значимые отличия в сторону увеличения относительно показателя плотности кости контрольной серии на всех сроках наблюдения. При этом в обеих группах параметры показателя плотности центральной и периферической зоны дефекта распределялись неравномерно. В группе при заполнении аутоотрасплататом на сроке наблюдения 30 дней отмечалось увеличение рентгеноплотности в центральном отделе (620 HU) относительно показателя плотности кости периферической точки дефекта (482 HU), за счет того, что аутоотрасплатат представлен фрагментами собственной кости и не вызывает ответную реакцию со стороны иммунной системы [49, 126] и на данном сроке наблюдения резорбировался частично. В последующих сроках наблюдения отмечалось увеличение плотности в периферической зоне дефекта (1 022–1 078 HU) относительно центральной точки дефекта (842–1 049 HU), за счет направления процесса остеогенеза от материнского ложа к центру дефекта. В группе без заполнения дефекта материалом на всех сроках наблюдения, включая 180 дней,

отмечалось увеличение рентгеноплотности в периферической точке дефекта (318–948 HU), прилегающей к зоне реципиента, относительно точки, расположенной в центральной части дефекта (236–784 HU). Полученные данные говорят о незавершенном процессе остеогенеза.

При оценке результатов сравнительного анализа в случае замещения дефекта остеотрансплантатом и контрольной серии без заполнения дефекта установлено, что общий показатель плотности кости при трансплантации остеотрансплантата (1 055 HU) значительно превышал общий показатель плотности кости контрольной серии (480 HU) и на сроке наблюдения 90 дней соответствовал показателю плотности интактной кости (1 054 HU). Это говорит о том, что при трансплантации остеотрансплантата на сроке 90 дней формируется полноценная органоспецифическая кость. При этом показатель плотности центральной и периферической зоны не имели значимых отличий между собой. За счет наличия в остеотрансплантате: матрикса с сосудами, остеогенных клеток, минеральных компонентов в виде матричных пузырьков, содержащих щелочную фосфатазу и тканеспецифических белков, которые способствуют быстрой адаптации в зоне дефекта, процесс образования кости происходил равномерно, вне зависимости от удаленности от ложа реципиента.

Оценка данных, полученных при сравнительном анализе применения аутоотрансплантата и остеотрансплантата при замещении дефекта кости нижней челюсти, показали высокий регенераторный потенциал, однако общий показатель плотности кости при использовании остеотрансплантата (1 055 HU) выше показателя плотности кости при имплантации аутоотрансплантата (932 HU) на сроке 90 дней и достиг показателя плотности интактной кости (1 054 HU), доказывая формирования органоспецифической кости на данном сроке. В группе с применением аутоотрансплантата формирование органоспецифической ткани происходило в более поздние сроки. При сравнении показателей плотности центральной и периферической точек при восстановлении дефекта кости остеотрансплантатом выявлено равномерное распределение параметром вне зависимости от расположения точки, подтверждая равномерность протекания

процесса остеогенеза. При этом в зоне дефекта, заполненным аутооттрансплантатом, было выявлено увеличение плотности в центральной точке дефекта (620 HU) по отношению к плотности кости периферической точки (482 HU) на сроке наблюдения 30 дней и с увеличением рентгеноплотности в периферической точке дефекта на сроках наблюдения 90 и 180 дней – 1 022 HU, 1 078 HU соответственно, относительно центральной точки (842 HU, 1 049 HU соответственно), говоря о том, что процесс ремоделирования ткани при использовании аутооттрансплантата претерпевают три последовательных стадии. Остеоциты, содержащиеся в аутооттрансплантате, сохраняют жизнеспособность и продолжают формировать новые слои кости («остеоидные пластинки») примерно в течение месяца благодаря поступлению питательных веществ от окружающих кровеносных сосудов. Тем не менее, лишь клетки, расположенные ближе всего к сосудам (до 300 мкм), способны выжить дольше двух недель, формируя основу первой фазы восстановления костной ткани. Во второй фазе, начинающейся около шести недель после операции и продолжающейся до полугода, разрушаются оставшиеся клетки трансплантата, освобождая важные факторы роста и белки, стимулирующие формирование новых клеток кости. Наконец, третья стадия представляет собой период постепенного преобразования органических компонентов трансплантата новым организмом, при котором остатки трансплантированной кости постепенно заменяются собственными структурами пациента, играя роль своего рода шаблона для построения здоровой костной ткани [11].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, основываясь на полученные результаты экспериментального исследования, применение хондротрасплантата при замещении дефекта кости нижней челюсти приводит к формированию грануляционной ткани без признаков остеогенеза и не может быть использован в качестве остеопластического материала. При замещении дефекта кости нижней челюсти аутоотрансплантатом регенерация происходит к сроку 180 дней за счет структурных компонентов реципиента. При этом регенерация кости на основе остеотрансплантата происходит в более ранние сроки, а именно 90 дней, за счет наличия в трехмерном трансплантате сосудистых элементов, остеобластов, клеток эндотелия, содержащих факторы роста, а также прохождение первого этапа минерализации остеотрансплантата в процессе остеодифференцировки *in vitro*. Таким образом, остеотрансплантат обладает высоким репаративным потенциалом и является перспективным остеопластическим материалом для внедрения в клиническую практику.

ВЫВОДЫ

1. Регенерация кости в зоне дефекта нижней челюсти при имплантации хондротрансплантата характеризуется образованием грануляционной ткани без признаков остеогенеза на всех сроках наблюдения
2. При замещении дефекта нижней челюсти остеотрансплантатом регенерация костной ткани характеризуется формированием зрелой органоспецифической кости на основе сформированной остеогенной ткани *in vitro* и является завершенным процессом на сроке 90 дней.
3. По результатам оценки плотности кости при имплантации хондротрансплантата общий показатель плотности дефекта на всех сроках наблюдения не превышал 265 HU ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони), что в 4 раза ниже показателя плотности интактной кости угла нижней челюсти. При этом общий показатель плотности кости при имплантации остеотрансплантата на сроке 90 дней достиг 1 055 HU, что соответствует показателю плотности интактной кости нижней челюсти.
4. Органоспецифическая кость, сформированная при регенерации дефекта нижней челюсти, заполненного остеотрансплантатом, на сроке 90 дней превосходит по показателям плотности кости сформированную кость при замещении дефекта аутоотрансплантатом на 123 HU ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони).
5. Регенерация дефекта нижней челюсти при имплантации остеотрансплантата характеризуется равномерным распределением показателей плотности во всех исследуемых зонах дефекта независимо от расположения зоны у реципиента, подтверждая равномерность протекания процесса остеогенеза в сравнении с регенерацией дефекта, заполненного аутоотрансплантатом, характеризующейся увеличением в 1,2 раза ($P < 0,001666$ с учетом поправки Бонферрони) плотности кости в периферической точке дефекта относительно центральной точки на сроках наблюдения 90 дней.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные результаты исследования применения трехмерного остеотрансплантата могут быть внедрены в челюстно-лицевой хирургии и клинической стоматологической практике в качестве остеопластического материала при регенерации дефектов кости нижней челюсти.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

КЛКТ	конусно-лучевая компьютерная томография
МСК	мезенхимальные стволовые клетки
ПОБ	преостеобласты
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ССФ	стромально-сосудистая фракция
ХБ	хондробласты
ХТ	хондротрансплантат
ЭСК	эмбриональные стволовые клетки
ALP	Alkaline phosphatase – щелочная фосфатаза
BMP	Bone morphogenetic proteins – костные морфогенетические белки
EGF	Epidermal growth factor – эпидермальный фактор роста
FBS	Fetal bovine serum – эмбриональная фетальная бычья сыворотка
FGF	Fibroblast growth factor – фибропластический фактор роста
IGFs	Insulin – like growth factors – инсулиноподобный фактор роста
PDGF	Platelet-derived growth factor – тромбоцитарный фактор роста
PGA	Polyglycolic acid – полигликолиевая кислота
PLA	Polylactic acid – полимолочная кислота
PLGA	Poly-lactic- co-glycolic acid – поли-лактид-ко-гликолиевая кислота
PRP	Platelet-Rich Plasma – обогащённая тромбоцитами плазма
TGF	Transforming growth factor – трансформирующий фактор роста бета
VEGF	Vascular endothelial growth factor – сосудистый эндотелиальный фактор роста

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алиев, А. М. Обоснование применения дентальной имплантации в комплексе лечения пациентов с дефектами зубных рядов (обзор литературы) / А. М. Алиев // Молодой ученый. – 2016. – № 26. – С. 193–196.
2. Амантаев, Б. А. Анализ и характеристика костнозамещающих материалов, используемых при хирургическом лечении костных дефектов челюстей / Б. А. Амантаев, С. С. Кебеков // Вестник КазНМУ. – 2019. – № 1. – С. 123–126.
3. Взгляд на проблему дентальной имплантации в свете современных научных представлений / А. А. Воробьев, В. И. Шемонаев, Д. В. Михальченко, А. С. Величко // Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН. – 2009. – № 2. – С. 19–24.
4. Виссарионов С. В. Экспериментальная оценка эффективности хитозановых матриц в условиях моделирования костного дефекта / С. В. Виссарионов // Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста. – 2020. – Том 8. – Выпуск 1. – С. 53–62.
5. Выбор реконструктивного материала для восстановления костных дефектов челюстно-лицевой области в онкологической практике / Д. Е. Кульбакин, Е. Л. Чойнзонов, С. П. Буякова [и др.] // Голова и Шея – 2019. – № 2. – С. 64–69.
6. Гажва, С. И. Ретроспективный анализ распространенности, нуждаемости и методов лечения потери зубов у пациентов стоматологического профиля / С. И. Гажва, А. И. Тетерин, Н. В. Багрянцева. – Текст : электронный // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 6. –URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28149> (дата обращения: 31.10.2018).
7. Дентальная имплантация: учебное пособие / Н. Е. Сельский, Р. Т. Буляков, Э. И. Галиева [и др.]. – Уфа : Изд-во : ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, 2016. – С. 21–22.
8. Замещение аллокостью дефектов костной ткани при

доброкачественных опухолях и опухолеподобных заболеваниях: учебное пособие / И. А. Кирилова, Е. А. Анастасиева, Е. В. Губина, Л. А. Черданцева. – Новосибирск : ОСТиЗИ ФГБУ «ННИИТО им. Я. Л. Цивьяна» Минздрава России, 2021. – С. 17–21.

9. Казакова, В. С. Использование факторов роста в восстановлении костной ткани / В. С. Казакова // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. – 2011. – № 4 (99). – Выпуск 13/2, – С. 5–12.

10. Карасева, В. В. Целесообразность и особенность пред ортопедической хирургической подготовки полости рта сложно-челюстных больных / В. В. Карасева, О. Л. Шнейдер // Проблемы стоматологии. – 2014. – № 6. – С. 36–39.

11. Кесаева, Г. А. Сравнительная оценка эффективности использования различных методов костной пластики в дентальной имплантации (обзор литературы) / Г. А. Кесаева // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2023. – № 3 – С. 61–67.

12. Кирилова, И. А. Сравнительная характеристика материалов для костной пластики: состав и свойства / И. А. Кирилова, М. А. Садовой, В. Т. Подорожная // Хирургия позвоночника. – № 3. – 2012. – С. 72–83.

13. Конев, В. А. Экспериментальное обоснование клинического применения стимуляторов остеогенеза в травматологии и ортопедии (обзор литературы) / В. А. Конев, Д. В. Лабутин, С. А. Божкова // Сибирское медицинское обозрение. – 2021. – № 4. – Р. 5–17.

14. Корель, А. В. Тканеинженерные стратегии для восстановления дефектов костной ткани. Современное состояние вопроса / А. В. Корель, С. Б. Кузнецов // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2019. – № 4 – С. 228–234.

15. Королев, С. Б. Новая медицинская технология подготовки костных трансплантатов для костной пластики / С. Б. Королев, А. Н. Абраменков // Материалы II Московского международного конгресса травматологов и ортопедов. – Москва, 2011.

16. Костив, Р. Е. Трофические факторы роста костной ткани, их морфогенетическая характеристика и клиническое значение / Р. Е. Костив, С. Г. Калиниченко // ТМЖ. – 2017. – № 1. – С. 10–16.

17. Лечение полостного дефекта кости в условиях имплантации сетчатых конструкций из никелида титана / Ю. М. Ирьянов, Н. С. Стрелков, Н. А. Кирьянов, О. В. Дюрягина // Медицинский вестник северного кавказа. – 2017. – Т. 12. – № 2. – С. 152–156.

18. Метод непосредственной дентальной имплантации / С. Ю. Иванов, А. А. Мураев, Е. А. Рукина, А. А. Бунев // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5 – С. 230–230.

19. Методика пересадки костно-надкостничного аутотрансплантата для увеличения объема альвеолярного гребня перед дентальной имплантации / Н. Ю. Таранова, С. А. Триандафилов, Н. В. Лапина, Е. С. Овчаренко // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2023. – № 25 (6). – С. 84–90.

20. Намханов, В. В. Роль (влияние) остеопороза на состояние лицевого скелета и зубочелюстной системы / В. В. Намханов, Ю. Л. Писаревский, А. Н. Плеханов // Вестник бурятского государственного университета. – 2014. – № 12. – С. 91–93.

21. Никольский, В. Ю. Оценка степени атрофии костной ткани челюстей после удаления зубов в связи с дентальной / В. Ю. Никольский, Л. В. Вельдякова, А. Е. Максюттов // Саратовский научно-практический журнал. – Том 7, №1 (приложение). – 2011. – С. 306–307.

22. Орехова, Л. Ю. Метод направленной тканевой регенерации в пародонто-альвеолярной конструкции. Учебно-методическое пособие / Л. Ю. Орехова, Д. М. Нейзберг, О. В. Прохорова – Санкт-Петербург, 2017. – С. 17–19.

23. Патент 2392973 Российская Федерация, МПК А61L 27/38. Способ получения трехмерного хондротрансплантата : № 2008103109/15 : заявл. 28.01.2008 : опубл. 27.06.2010 / Зайдман А. М., Ким И. И., Садовой М. А. – 11 с.

24. Перспективы применения остеопластических материалов в

хирургической стоматологии (пародонтологии) / А. В. Афанасьев, И. И. Куряев, И. А. Чернищев, Е. Д. Кострыгина // Сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции. В 2-х частях ; под общей редакцией Е. П. Ткачевой. – 2017. – С. 115–118.

25. Петренко, А. Ю. Стволовые клетки из жировой ткани / А. Ю. Петренко, Э. Н. Иванов, Ю. А. Петренко // Биотехнология. – 2008. – Т. 1. – № 4. – С. 39–48.

26. Предпротетическая подготовка беззубого протезного ложа на нижней челюсти с истонченной и атрофичной слизистой оболочкой / Д. А. Трунин, М. И. Садыков, А. М. Нестеров [и др.] – Текст : электронный // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 4. – URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=26584> (дата обращения: 17.07.2017).

27. Роль мезенхимальных мультипотентных стромальных клеток в ремоделировании костной ткани / М. В. Киселевский, Н. Ю. Анисимова, Ю. И. Должикова [и др.] // Медицинская иммунология. – 2018. – Т. 20. – № 4. – С. 515–522.

28. Социологические аспекты диагностики и профилактики осложнений дентальной имплантации (по данным анкетирования врачей-стоматологов) / Р. А. Аванесян, С. В. Сирак, А. Б. Ходжаян [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 7-3. – С. 495–499.

29. Терских, В. В. Биологические особенности и терапевтический потенциал стромальных клеток жировой ткани. Обзор / В. В. Терских, Е. В. Киселева // Пластическая хирургия и косметология. – 2010. – № 4. – С. 613–620.

30. Трехмерный хондротрансплантат-пластический материал для замещения дефектов костной ткани / А. М. Зайдман, И. А. Шевченко, Е. Л. Строкова [и др.] // Хирургия позвоночника. – 2012. – № 4. – С. 65–72.

31. Шумилова, А. А. Материалы для восстановления костной ткани / А. А. Шумилова, Е. И. Шишацкая // Journal of Siberian Federal University. Biology. – 2014. – № 7. – С. 209–221.

32. Экспериментальная оценка влияния имплантологических стоматологических материалов на остеогенный потенциал клеток костного мозга культивируемых *in vitro* (на примере пористого титана) / И. Э. Казиева, С. В. Сирак, Р. С. Зекерьяев [и др.] – Текст : электронный // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 3. – URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=9300> (дата обращения 06.06.2013).

33. Этапы гистогенеза остеогенного трансплантата в культуральной среде и реципиентом ложе / А. М. Зайдман, И. А. Шевченко, Е. Л. Строкова [и др.] // Цитология. – 2019. – Т. 61, № 5. – С. 370–384.

34. A feasibility of useful cell-based therapy by bone regeneration with deciduous tooth stem cells, dental pulp stem cells, or bone-marrow-derived mesenchymal stem cells for clinical study using tissue engineering technology / Y. Yamada, S. Nakamura, K. Ito [et al.] // Tissue Eng. – 2010. – Vol. 16 (6). – P. 1891–1900.

35. Activated mesenchymal stem cells interact with antibiotics and host innate immune responses to control chronic bacterial infections / V. Johnson, T. Webb, A. Norman [et al.] // Sci. Rep. – 2017. – Vol. 7. – № 1. – P. 9575.

36. Adipose-derived stromal cells are capable of restoring bone regeneration after post-traumatic osteomyelitis and modulate B-cell response / J. M. Wagner, F. Reinkemeier, C. Wallner [et al.] // Stem Cells Transl Med. – 2019. – Vol. 8 (10). – P. 1084–1091.

37. All-trans retinoic acid modulates Wnt3A-induced osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells via activating the PI3K/AKT/GSK3 β signaling pathway / S. Zhang, X. Chen, Y. Hu [et al.] // Molecular and Cellular Endocrinology. – 2015. – Vol. 422. – P. 243–253.

38. Amoabediny, Gh. The role of biodegradable engineered scaffold in tissue engineering // Gh. Amoabediny, N. Salehi-Nik, B. Heli // In biomaterials Science and Engineering ; ed. By Pignatello R. In Tech., 2011. – P. 153–172.

39. An approachable human adult stem cell source for hard-tissue engineering / G. Laino, A. Graziano, R. d'Aquino [et al.] // J. Cell. Physiol. – 2006. – Vol. 206 (3). –

P. 693–701.

40. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights / H. K. No, N. Y. Park, S. H. Lee, S. P. Meyers // *Int J Food Microbiol.* – 2002. – № 74 (1-2). – P. 65–72.

41. Antimicrobial properties of mesenchymal stem cells: therapeutic potential for cystic fibrosis infection, and treatment / M. T. Sutton, D. Fletcher, S. K. Ghosh [et al.] // *Stem Cells Int.* – 2016. – Vol. 2016. – № 1. – P. 1–12.

42. Asymmetric chitosan membrane containing collagen I nanospheres for skin tissue engineering / K. Y. Chen, W. J. Liao, S. M. Kuo [et al.] // *Biomacromolecules.* – 2009. – Vol. 10, № 6. – P. 1642–1649.

43. Autologous bone grafting and double screw fixation for unstable scaphoid nonunions with cavitory bone loss / E. T. Ek, P. R. Johnson, C. M. Bohan [et al.] // *J Hand Surg Eur.* – 2021. – Vol. 46 (2). – P. 205–206.

44. Autologous bone marrow mesenchymal stromal cell therapy for “no-option” critical limb ischemia is limited by karyotype abnormalities / S. A. Mohamed, L. Howard, V. McNerney [et al.] // *Cytotherapy.* – 2020. – Vol. 22 (6). – P. 313–321.

45. Bhumiratana, S. Concise review: personalized human bone grafts for reconstructing head and face / S. Bhumiratana, G. Vunjak-Novakovic // *Stem Cells Transl Med.* – 2012. – Vol. 1 (1). – P. 64–69.

46. Bioactive glass: a material for the future // I. Farooq, Z. Imran, U. Farooq [et al.] // *World J Dent.* – 2012. – Vol 3 (2). – P. 199–201.

47. Biocompatible TiN-based novel nanocrystalline films / R. Ebner, J. M. Lackner, W. Waldhauser [et al.] // *Bulletin of the Polish Academy of Science.* – 2006. – Vol. 54. – № 2. – P. 167–173.

48. Biological evaluation of collagen–chitosan scaffolds for dermis tissue engineering / L. P. Sun, S. Wang, Z. W. Zhang [et al.] // *Biomedical Materials.* – 2009. – Vol. 4. – № 5. – P.

49. Boccaccini, A. R. Bioactive composite materials for tissue engineering scaffolds / A. R. Boccaccini, J. J. Blaker // *Expert Rev Med Devices.* – 2005. – Vol. 2 (3). – P. 303–317.

50. Bone allografts: what they can offer and what they cannot / C. Delloye, O. Cornu, Druez [et al.] // *J Bone Joint Surg Br.* – 2007. – P. 574–580.
51. Bone grafts and bone graft substitutes in orthopaedic trauma surgery / W. G. De Long, T. A. Einhorn, K. Koval [et al.] // *J Bone Joint Surg Am.* – 2007. – P. 649–658.
52. Bone grafts and substitutes in dentistry: a review of current trends and developments / R. Yang, P. R. Cooper, Z. Khurshid [et al.] // *Molecules.* – 2021. – Vol. 26 (10). – P. 3007.
53. Bone induction by porous glass ceramic made from Bioglass / H. Yuan, J. D. de Bruijn, X. Zhang [et al.] // *J Biomed Mater. – Res.* – 2001. – P. 270–276.
54. Cellulose-based scaffold materials for cartilage tissue engineering / L. Müller, I. Hofmann, P. Greil [et al.] // *Biomaterials.* – 2006. – Vol. 27 (21). – P. 3955–3963.
55. Chevallay, B. Collagen-based biomaterials as 3D scaffold for cell cultures: applications for tissue engineering and gene therapy / B. Chevallay, D. Herbage // *Med Biol Eng Comput.* – 2000. – № 38 (2). – P. 211–218.
56. Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action / E. I. Rabea, M. E. T. Badawy, C. V. Stevens [et al.] // *Biomacromolecules.* – 2003. – Vol. 4 (6). – P. 1457–1465.
57. Chitosan-collagen scaffolds with nano/microfibrous architecture for skin tissue engineering // S. D. Sarkar, B. L. Farrugia, T. R. Dargaville, S. Dhara // *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials.* – 2013. – Vol. 101. – № 12. – P. 3482–3492.
58. Chondrogenic differentiation of adipose-derived adult stem cells in agarose, alginate, and gelatin scaffolds / H. A. Awad, M. Q. Wickham, H. A. Leddy [et al.] // *Biomaterials.* – 2004. – Vol. 25 (16). – P. 3211–3222.
59. Collagen/chitosan based two-compartment and bi-functional dermal scaffolds for skin regeneration / F. Wang, M. Wang, Z. She [et al.] // *Materials Science*

and Engineering. – 2015. – Vol. 52. – P. 155–162.

60. Combinational therapy with antibiotics and antibiotic-loaded adipose-derived stem cells reduce abscess formation in implant-related infection in rats / J. Yoshitani, T. Kabata, H. Arakawa [et al.] // *Sci Rep.* – 2020. – Vol. 10 (1). – P. 11182.

61. Comparative analysis of bone regeneration behavior using recombinant human BMP-2 versus plasmid DNA of BMP-2 / A. Kolk, M. Boskov, S. Haidari [et al.] // *Journal of Biomedical Materials Research. Part A.* – 2019. – Vol. 107 (1). – P. 163–173.

62. Cooper, D. K. Regulation of clinical xenotransplantation – time for a reappraisal / D. K. Cooper, R. N. Pierson 3rd, B. J. Hering [et al.] // *Transplantation.* – 2017. – Vol. 101 (8). – P. 1766–1769.

63. Cooperman, L. The immunogenicity of injectable collagen. I. A 1-year prospective study / L. Cooperman, D. Michaeli // *J Am Acad Dermatol.* – 1984. – Vol. 10 (4). – P. 638–646.

64. Costa-Pinto, A. R. Scaffolds based bone tissue engineering: the role of chitosan / A. R. Costa-Pinto, R. L. Reis, N. M. Neves // *Tissue Eng Part B Rev.* – 2011. – Vol. 17 (5). – P. 331–347.

65. DeLustro, F. A comparative study of the biologic and immunologic response to medical devices derived from dermal collagen / F. DeLustro, R. A. Condell, M. A. Nguyen, J. M. McPherson // *J Biomed Mater Res.* – 1986. – Vol. 20 (1). – P. 109–120.

66. Effect of co-incubation with mesenchymal stromal cells in cultural medium on structure and mechanical properties of polylactide-based scaffolds / K. Niaza, F. Senatov, N. Anisimova [et al.] // *BioNano Science.* – 2017. – Vol. 7. – № 4. – P. 712–717.

67. Effect of mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma on the healing of standardized bone defects in the alveolar ridge: a comparative histomorphometric study in minipigs / F. Pieri, E. Lucarelli, G. Corinaldesi [et al.] // *J. Oral Maxillofac. Surg.* – 2009. – Vol. 67 (2). – P. 265–272.

68. Effect of recombinant PDGF-BB on bone formation in the presence of β -tricalcium phosphate and bovine bone mineral matrix: a pilot study in rat calvarial defects / E. Luvizuto, S. Tangl, T. Dobsak [et al.] // BMC Oral Health. – 2016. – Vol. 16 (1). – P. 52.
69. Effect of scaffold design on bone morphology in vitro / L. Uebersax, H. Hagenmüller, S. Hofmann [et al.] // Tissue Eng. – 2006. – Vol. 12 (12). – P. 3417–3429.
70. Effects of chitosan-collagen dressing on wound healing in vitro and in vivo assays / M. X. Zhang, W. Y. Zhao, Q. Q. Fang [et al.] // Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials. – 2021. – Vol. 19. – P. 2280800021989698.
71. Effects of human adipose-derived mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma on healing of wounds with full-thickness skin defects in mice / N. Xuejun, S. Xiuying, X. Lili [et al.] // Zhonghua Shao Shang Za Zhi. – 2018. – Dec 20. – P. 887–894.
72. Efficacy of autologous platelet-rich plasma in thoracic aortic aneurysm surgery / I. Kashima, T. Ueda, H. Shimizu [et al.] // Jpn. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 2000. – Vol. 48 (11). – P. 708–712.
73. Engineering anatomically shaped human bone grafts / W. L. Grayson, M. Frohlich, K. Yeager [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. – 2010. – № 107 (8). – P. 3299–3304.
74. Eppley, B. L. Allograft and alloplastic bone substitutes: a review of science and technology for the craniomaxillofacial surgeon / B. L. Eppley, W. S. Pietrzak, M. W. Blanton // Craniofac Surg. – 2005. – Vol. 16 (6). – P. 981–989.
75. Eyre, D. R. Collagen cross-links // D. R. Eyre, J. J. Wu // Top Curr Chem, 2005. – P. 207–209.
76. Finkemeier, C. G. Current concepts review. Bone- grafting and bone-graft substitutes / C. G. Finkemeier // J Bone Joint Surg Am. – 2002. – Vol. 84 (3). – P. 454–464.
77. First-in-human study and clinical case reports of the alveolar bone regeneration with the secretome from human mesenchymal stem cells / W. Katagiri,

M. Osugi, T. Kawai, H. Hibi // Head Face Med. – 2016. – Vol. 12. – № 5. – P. 1–10.

78. Floryan, K. Intraoperative use of autologous platelet rich and platelet poor plasma for orthopaedic surgery patients / K. Floryan, W. J. Berghof // AORN. – 2004. – Vol. J80. – P. 668–674.

79. From “bench to bedside”: current advancement on large-scale production of mesenchymal stem cells / V. Bunpetch, H. Wu, S. Zhang, H. W. Ouyang // Stem Cells Dev. – 2017. – Vol. 26. – № 9. – P. 1662–1673.

80. Functional cardiac cell constructs on cellulose-base scaffolding / E. Entcheva, H. Bien, L. Yin [et al.] // Biomaterials. – 2004. – Vol. 25 (26). – P. 5753–5762.

81. Generation of a Bone Organ by Human Adipose Derived Stromal Cells Through Endochondral Ossification / R. Osinga, N. Maggio, A. Todorov [et al.] // Stem Cells Translational Medicine. – 2016. – Vol. 5 (8). – P. 1090–1097.

82. Genetically engineered mesenchymal stem cells: The ongoing research for bone tissue engineering / D. Hong, H. X. Chen, R. Ge // J Anat. Rec. (Hoboken). – 2010. – Vol. 293. – № 3. – P. 531–537.

83. Giannoudis, P. V. Bone substitutes: an update / P. V. Giannoudis, H. Dinopoulos, E. Tsiridis // Injury. – 2005. – P. 20–27.

84. Gleeson, J. P. Composite scaffolds for orthopaedic regenerative medicine / J. P. Gleeson, F. J. O'Brien // Advances in Composite Materials for Medicine and Nanotechnology. – 2011. – Vol. 10. – P. 33–59.

85. Glowacki, J. Collagen scaffolds for tissue engineering / J. Glowacki, S. Mizuno // Biopolymers. – 2008. – Vol. 89 (5). – P. 338–344.

86. Grimm, W. D. Neural crest-related stem cells of oral origins in vitro / W. D. Grimm // Medical news of the North Caucasus. – 2016. – Vol 11 (1). – P. 192–196.

87. Grimm, W. D. Translational Research: Palatal-derived Ecto-mesenchymal Stem Cells from Human Palate: A New Hope for Alveolar Bone and Cuanio-Facial Bone Reconstruction / W. D. Grimm, A. Dunnan, I. Shau // Int J Stem Cells. – 2014. – Vol. 7 (1) – P. 23–29.

88. Hubble, M. J. Bone grafts / M. J. Hubble // Surg Technol Int. – 2002. – Vol. 10. – P. 261–265.
89. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells / P. A. Zuk, M. Zhu, P. Ashjian [et al.] // Molecular Biology of the Cell. – 2002. – Vol. 13. – P. 4279–4295.
90. Hydrogel-ft-TCP scaffolds and stem cells for tissue engineering bone / C. Weinand, I. Pomerantseva, C. M. Neville [et al.] // Bone. – 2006. – Vol. 38. – P. 555–563.
91. Hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering made by 3D printing. / B H. Leukers, H. Gülkan, S. H. Irsen [et al.] // J Mater Sci Mater Med. – 2005. – Vol. 16 (12). – P. 1121–1124.
92. Improvement of the wound-healing process by curcumin loaded chitosan/collagen blend electro spun nanofibers: In vitro and in vivo studies. / N. Jirofti, M. Golandi, J. Movaffagh [et al.] // ACS Biomaterials Science & Engineering. – 2021. – Vol. 7. – № 8. – P. 3886–3897.
93. In vitro analysis of biodegradable polymer blend/ hydroxyapatite composites for bone tissue engineering / K. G. Marra, J. W. Szem, P. N. Kumta [et al.] // J Biomed Mater Res. – 1999. – Vol. 47 (3). – P. 324–335.
94. In vitro biomimetic construction of hydroxyapatite-porcine acellular dermal matrix composite scaffold for MC3T3-E1 preosteoblast culture / G. Wang, S. Hu, J. Cui [et al.] // Tissue Eng Part A. – 2011. – Vol. 17 (5-6). – P. 765–776.
95. In vivo biocompatibility of bacterial cellulose / G. H. Helenius, H. Bäckdahl, A. Bodin [et al.] // Biomed Mater Res A. – 2006. – Vol. 76A (2). – P. 431–438.
96. Influence of structural load-bearing scaffolds on mechanical load- and BMP-2-mediated bone regeneration / A. M. McDermotta, D. E. Masona, S. P. Linb Angela, R. E. Guldbergb // Boerckel Journal of the mechanical behavior of biomedical materials. – 2016. – May – P. 169–181.
97. Intraarticular injection of a autologous preparation rich in growth factors for the treatment of knee OA: a retrospective cohort study / M. Sanchez, E. Anitua,

J. Azofra [et al.] // Clin Exp Rheumatol. – 2008. – Sep-Oct. 26. – P. 910–913.

98. Jain, A. P. Bone morphogenetic proteins: the anomalous molecules / A. P. Jain, S. Pundir, A. Sharma // Journal of Indian Society of Periodontology. – 2013. – Vol. 17, № 5. – P. 583–586.

99. James, A. W. A Review of the Clinical Side Effects of Bone Morphogenetic Protein-2 / A. W. James, G. LaChaud, J. Shen [et al.] // Tissue Engineering Part B: Reviews. – 2016. – Vol. 22 (4). – P. 284–297.

100. Khor, E. Implantable applications of chitin and chitosan / E. Khor, L. Y. Lim // Biomaterials. – 2003. – Vol. 24 (13). – P. 2339–2349.

101. Kim, I. Y. Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications / I. Y. Kim // Biotechnology Advances. – 2008. – Vol. – P.

102. Ko, H. F. Novel synthesis strategies for natural polymer and composite biomaterials as potential scaffolds for tissue engineering / H. F. Ko, C. Sfeir, P. N. Kumta // Philos Trans A Math Phys Eng Sci. – 2010. – Vol. 368 (1917). – P. 1981–1997.

103. Leach, J. K. Materials-Directed Differentiation of Mesenchymal Stem Cells for Tissue Engineering and Regeneration / J. K. Leach, J. Whitehead // ACS Biomaterials Science and Engineering. – 2018. – Vol. 4 (4). – P. 1115–1127.

104. Liu, S. Cellulose scaffold: a green template for the controlling synthesis of magnetic inorganic nanoparticles // S. Liu, D. Tao, L. Zhang // Powder Technology. – 2012. – Vol. 217. – P. 502–509.

105. Local transplantation of human multipotent adipose-derived stem cells accelerates fracture healing via enhanced osteogenesis and angiogenesis / T. Shoji, M. Ii, Y. Mifune [et al.] // Lab. Invest. – 2010. – Vol. 90. – № 4. – P. 637–649.

106. Mechanical properties of bacterial cellulose and interactions with smooth muscle cells / H. Backdahl, G. Helenius, A. Bodin [et al.] // Biomaterials. – 2006. – Vol. 27. – P. 2141–2214.

107. Microporous bacterial cellulose as a potential scaffold for bone regeneration / M. Zaborowska, A. Bodin, H. Bäckdahl [et al.] // Acta Biomater. – 2010. – Vol. 6 (7). – P. 2540–2547.

108. Microwave-sintered 3D printed tricalcium phosphate scaffolds for bone tissue engineering / S. Tarafder, V. K. Balla, N. M. Davies [et al.] // *J Tissue Eng Regen Med.* – 2013. – Vol. 7 (8). – P. 631–641.

109. Misch, C. Comparison of Intraoral Donor Sites for Onlay Grafting Prior to Implant Placement / C. Misch // *The Int J Oral & Maxillofacial Implants.* – 1997. – Vol. 12. – P. 767–775.

110. Misch, C. E. *Dental Implant Prosthetics* / C. E. Misch ; перевод с англ. – 2-е изд. – М. : МЕД-пресс-информ, 2017. – Глава 9. – С. 142–143.

111. Nagata, H. Cardiac Adipose-Derived Stem Cells Exhibit High Differentiation Potential to Cardiovascular Cells in C57BL/6 Mice / H. Nagata, M. Ii // *Stem Cells Transl Med.* – 2016. – Vol. 5 (2). – P. 141–151.

112. Natural origin biodegradable systems in tissue engineering and regenerative medicine: present status and some moving trends / J. F. Mano, G. A. Silva, H. S. Azevedo [et al.] // *J R Soc Interface.* – 2007. – Vol. 4 (17). – P. 999–1030.

113. New, S. E. Towards reconstruction of epithelialized cartilages from autologous adipose tissue-derived stem cells / S. E. New, A. Ibrahim, L. Guasti // *J. Tissue Eng. Regen. Med.* – 2016. – Vol. 11. – № 11. – P. 3078–3089.

114. Non Vascularized Autogenous bone grafts for reconstruction of maxillofacial osseous defects / A. Waseem, M. A. Asim, A. Ehsan [et al.] // *J. Coll Physicians surg pak.* – 2018. – Vol. 28 (1). – P. 17–21.

115. Novel biodegradable star-shaped polylactidescaffolds for bone regeneration fabricated by two-photon polymerization / P. Timashev, D. Kuznetsova, D. Koroleva [et al.] // *Nanomedicine.* – 2016. – Vol. 11 (9). – P.

116. O'Brien, F. J. Biomaterials and scaffolds for tissue engineering / F. J. 'Brien // *Materials Today.* – 2011. – Vol. 14 (3). – P. 88–95.

117. Orgel, J. P. The in-situ conformation and axial location of the intermolecular cross-linked non-helical telopeptides of type I collagen / J. P. Orgel, T. J. Wess, A. Miller // *Structure.* – 2000. – Vol. 8 (2). – P. 137–142.

118. Orly, J. M. Hydroxyapatite implant for augmenting deficient alveolar ridges / J. M. Orly, J. Gregory, J. Manantean // *Biomed. Mater. Res.* – 1999. – № 12. –

P. 1433–1440.

119. Osteogenic potential of human mesenchymal stem cells and human embryonic stem cell-derived mesodermal progenitors: a tissue engineering perspective / G. M. Peppo de, P. Sjovall, M. Lennerås [et al.] // *Tissue Eng. Part. A.* – 2010. – Vol. 16. – № 11. – P. 3413–3426.

120. Osteograft, plastic material for regenerative medicine / A. V. Korel, A. I. Shevchenko, E. I. Shchelkunova // *Physics of Cancer: Interdisciplinary Problems and Clinical Applications (PC'16) AIP Conf. Proc.* – 2016. – Vol. 1760. – Iss. 1.

121. Park, J. B. Healing of extraction socket grafted with deproteinized bovine bone and acellular dermal matrix: histomorphometric evaluation / J. B. Park // *Implant Dent.* – 2010. – Vol. – P. 307–313.

122. PCL/HA hybrid microspheres for effective osteogenic differentiation and bone regeneration / H. Y. Jang, J. Y. Shin, S. H. Oh [et al.] // *ACS Biomater Sci Eng.* – 2020. – Vol. 6 (9). – P. 5172–5180.

123. Platelet-derived growth factor stimulates bone fill and rate of attachment level gain: results of a large multicenter randomized controlled trial / M. Nevins, W. V. Giannobile, M. K. McGuire [et al.] // *J. Periodontol.* – 2005. – Vol. 76. – P. 2205–2215.

124. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications / T. E. Foster, B. L. Puskas, B. R. Mandelbaum [et al.] // *Am J Sports Med.* – 2009. – Vol. 37. – P. 2259–2272.

125. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo / S. Gronthos, M. Mankani, J. Brahimi [et al.] // *PNAS USA.* – 2000. – № 97 (25). – P. 13625–13630.

126. Revision elbow arthroplasty using a proximal ulnar allograft with allograft triceps for combined ulnar bone loss and triceps insufficiency // M. Burnier, N. T. V. Nguyen, M. E. Morrey [et al.] // *J Bone Joint Surg Am.* – 2020. – Vol. 102 (22). – P. 2001–2007.

127. Rosenberg, E. S. Sinus grafting using platelet-rich plasma-initial case presentation / E. S. Rosenberg, J. Torosian // *Pract. Periodont. Aesthet. Dent.* – 2000. –

Vol. 12 (9). – P. 843–850.

128. Sasso, R. C. Iliac crest bone graft donor site pain after anterior lumbar interbody fusion: a prospective patient satisfaction outcome assessment / R. C. Sasso, J. C. LeHuec, C. Shaffrey // *J. Spinal Disord tech.* – 2005. – Vol. 18. – P. 77–81.

129. Scaffold: a novel carrier for cell and drug delivery / T. Garg, O. Singh, S. Arora, R. Murthy // T. Garg; *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* – 2012. – Vol. 29 (1). – P. 1–63.

130. Scaffolds Loaded with Dialdehyde Chitosan and Collagen – Their Physico-Chemical Properties and Biological Assessment. *Polymers* / S. Grabska-Zielińska, J. M. Pin, B. Kaczmarek-Szczepańska [et al.] // *Polymers (Basel)*. – 2022. – Vol. 14. – № 9. – P. 1818.

131. Schmidt, A. H. Autologous bone graft: Is it still the gold standard? / A. H. Schmidt // *Injury*. – 2021. – Vol. 52 (Suppl. 2). – P. 8–22.

132. Shors, E. C. The development of coralline porous ceramic bone graft substitutes / E. C. Shors // *Bone Graft Substitutes*. – West Conshohocken, PA: ASTM International, 2003. – P. 271–288.

133. Simpson, A. H. R. W. The role of growth factors and related agents in accelerating fracture healing / A. H. R. W. Simpson, L. Mills, B. Noble // *Journal of Bone and Joint Surgery*. – 2006. – Vol. 88. – № 6. – P. 701–705.

134. Sonnleitner, D. A Simplified technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate for intraoral bone grafting techniques: a technical note / D. Sonnleitner, P. Huemer, D. Y. Sullivan // *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants*. – 2000. – Vol. 15 (6). – P. 879–88.

135. Strategies for bone regeneration: from graft to tissue engineering / G. Battafarano M. Rossi, V. De Martino [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2021. – Vol. 22 (3). – P. 1128.

136. Structure and mechanical quality of the collagen – mineral nano-composite in bone / P. Fratzl, H. S. Gupta, E. P. Paschalis, P. J. Roschger // *Mater Chem*. – 2004. – Vol. 14. – P. 2115–2123.

137. Sun, J. Alginate-based biomaterials for regenerative medicine applications

/ J. Sun // *Tan Materials*. – 2013. – Vol. 6 (4). – P. 1285–1309.

138. Synthesis and biological application of polylactic acid / G. Li, M. Zhao, F. Xu [et al.] // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25 (21). – P. 5023.

139. Systemic therapy of MSCs in bone regeneration: a systematic review and meta-analysis / J. Fu, Y. Wang, Y. Jiang [et al.] // *Stem Cell Res Ther*. – 2021. – Vol. 12 (1). – P. 377.

140. Taylor, G. I. Reconstruction of the mandible with free composite iliac bone grafts / G. I. Taylor // *Ann Plast Surg*. – 1982. – Vol. 9 (5). – P. 361–376.

141. The application of recombinant human collagen in tissue engineering / Y. Chunlin, P. J. Hillas, J. A. Báez [et al.] // *Bio Drugs*. – 2004. – Vol. 18 (2). – P. 103–119.

142. The immune response to allogeneic differentiated mesenchymal stem cells in the context of bone tissue engineering / C. H. Kiernan, E. B. Wolvius, P. A. J. Brama, E. Farrell // *Tissue Eng. Part B Rev*. – 2018. – Vol. 24. – № 1. – P. 75–83.

143. The immune response to allogeneic differentiated mesenchymal stem cells in the context of bone tissue engineering / C. H. Kiernan, E. B. Wolvius, P. A. J. Brama [et al.] // *Tissue Eng. Part B Rev*. – 2018. – Vol. 24. – № 1. – P. 75–83.

144. The immunogenicity and immunomodulatory function of osteogenic cells differentiated from mesenchymal stem cells / H. D. Liu, M. Kemeny, B. C. Heng [et al.] // *J. Immunol*. – 2006. – Vol. 176. – № 5. – P. 2864–287.

145. The osteogenesis of bacterial cellulose scaffold loaded with bone morphogenetic protein-2 / Q. Shi, Y. Li, J. Sun [et al.] // *Biomaterials*. – 2012. – Vol. 33 (28). – P. 6644–6649.

146. Thein-Han, W. Prevascularization of a gas – foaming macroporous calcium phosphate cement scaffold via coculture of human umbilical vein endothelial cells and osteoblasts / W. Thein-Han, H. H. Xu // *Tissue Eng Part A*. – 2013. – Vol. 19 (15-16). – P. 1675–1685.

147. Tissue engineered bone using select growth factors: a comprehensive review of animal studies and clinical translation studies in man / D. Gothard, E. Smith, J. Kanczler [et al.] // *European Cells and Materials*. – 2014. – Vol. 28. – P. 166–207.

148. Tögel, F. Adult bone marrow-derived stem cells for organ regeneration and repair / F. Tögel, C. Westenfelder // *Developmental dynamics*. – 2007. – Vol. 236. – P. 3321–3331.
149. Transcriptome analysis of MSC and MSC-derived osteoblasts on resomer Lt706 and Pcl: impact of biomaterial substrate on osteogenic differentiation / S. Neuss, B. Denecke, L. Gan // *PLoS ONE*. – 2011. – Vol. 6. – № 9. – P. e23195.
150. Transplantation of human mesenchymal stem cells in a non-autogenous setting for bone regeneration in a rabbit critical-size defect model / P. Niemeyer, K. Szalay, R. Luginbühl [et al.] // *Acta Biomater*. – 2010. – Vol. 6. – № 3. – P. 900–908.
151. Tricalcium phosphate/hydroxyapatite (TCP-HA) bone scaffold as potential candidate for the formation of tissue engineered bone / S. B. Sulaiman, T. K. Keong, C. H. Cheng [et al.] // *Indian J Med Res*. – 2013. – Vol. 137 (6). – P. 1093–1101.
152. Ullah, S. Incorporation of zinc oxide nanoparticles into chitosan-collagen 3D porous scaffolds: Effect on morphology, mechanical properties and cytocompatibility of 3D porous scaffolds. *International journal of biological macromolecules* / S. Ullah, I. Zainol, R. H. Idrus // *Int J Biol Macromol*. – 2017. – Vol. 104. – P. 1020–1029.
153. Venkatesan, J. Chitosan composites for bone tissue engineering – an overview / J. Venkatesan, S. K. Kim // *Mar Drugs*. – 2010. – Vol. 8 (8). – P. 2252–2266.
154. Villatte, G. Use of allograft to reconstruct anterior bony glenoid defect in chronic glenohumeral instability: a systematic review / G. Villatte, A. Martins, R. Erivan [et al.] // *Arch Orthop Trauma Surg*. – 2020. – Vol. 140 (10). – P. 75–85.
155. Zimmermann, J. A. Enhanced Immunosuppression of T cells by sustained presentation of bioactive interferon- γ within three-dimensional mesenchymal stem cell constructs / J. A. Zimmermann, M. H. Hettiaratchi, T. C. McDevitt // *Stem Cells Transl. Med*. – 2017. – Vol. 6. – № 1. – P. 223–237.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1.	Рисунок 1 – Экспериментальное животное, крыса линии Wistar. . . .	С. 34
2.	Рисунок 2 – Левосторонний доступ к углу нижней челюсти.	С. 35
3.	Рисунок 3 – Сформированный дефект в области угла нижней челюсти нижней челюсти.	С. 35
4.	Рисунок 4 – Хондротрансплантат в культуральной среде.	С. 36
5.	Рисунок 5 – Остеотрансплантат в культуральной среде.	С. 36
6.	Рисунок 6 – Модель дефекта нижней челюсти.	С. 38
7.	Рисунок 7 – Забор фрагмента нижней челюсти и органов иммунной системы.	С. 42
8.	Рисунок 8 – Точки (зоны) измерения плотности кости нижней челюсти.	С. 44
9.	Рисунок 9 – Шкала единиц плотности по Хаунсфилду (HU).	С. 45
10.	Рисунок 10 – Компоненты аутоотрансплантата: сформированные костные балки, миелоидный ткань красного костного мозга. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$	С. 49
11.	Рисунок 11 – Компоненты хондротрансплантата - клетки и межклеточный матрикс содержат высокополимерные протеогликаны. Окраска альциановый синий, $\times 200$	С. 52
12.	Рисунок 12 – Хондробласт из тканевоинженерного хондротрансплантата. Увеличение $\times 5\,000$	С. 53
13.	Рисунок 13 – Иммунофлуоресцентный анализ, антитела к коллагену II типа (ab 3092, красный).	С. 54
14.	Рисунок 14 – Иммунофлуоресцентный анализ, антитела к агтрекану (ab3778-1, красный)	С. 54
15.	Рисунок 15 – Иммунофлуоресцентный анализ, антитела к фибронектину (ab6328, красный).	С. 55
16.	Рисунок 16 – Иммунофлуоресцентный анализ, антитела к Sox 9 (Epr14335-78, розовый).	С. 55

17. Рисунок 17 – Экспрессия генов хондротрансплантата: агрекан (Acan), коллаген II типа (Col2), бигликан (Bgn), люмикан (Lum) и транскрипционный фактор SOX-9 (данные представлены $M \pm SD$, вертикальные отрезки) С. 56
18. Рисунок 18 – Мезенхимальные клетки на поверхности остеотрансплантата – прототип будущей надкостницы, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$ С. 58
19. Рисунок 19 – Гранулы щелочной фосфатазы в остеобластах, полученных из трехмерного остеотрансплантата, $\times 1\,000$ С. 59
20. Рисунок 20 – Иммунофлуоресцентный анализ, антитела к: А – коллагену I (ab34710, зеленый), Б – остеоонектин (NCL-O-Nectin, красный) $\times 200$ С. 59
21. Рисунок 21 – Кальцификаты в остеотрансплантате, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$ С. 60
22. Рисунок 22 – Полые структуры в матриксе остеотрансплантата, выстланные эндотелием, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$ С. 61
23. Рисунок 23 – Реакция иммунофлуоресценции на антитела к фактору Виллебранда (ab6994) и флуороцентномеченый изолектин B4 (I21413), $\times 200$ С. 61
24. Рисунок 24 – Экспрессия генов, реакция ПЦР: ХБ – хондробласты, ХТ – хондротрансплантат, ПОБ – преостеобласты. Данные представлены ($M \pm SD$, вертикальные отрезки) С. 62
25. Рисунок 25 – Электронная микроскопия остеобласта, содержащего матричные везикулы в цитоплазме на этапе остеогенной дифференцировки остеотрансплантата, $\times 1\,000$ С. 63
26. Рисунок 26 – Матричные везикулы в цитоплазме остеобласта на этапе остеогенной дифференцировки остеотрансплантата, $\times 5\,000$. . . С. 63
27. Рисунок 27 – Остеотрансплантат в процессе остеогенной дифференцировки: содержащий кальцификаты, остеогенные клетки и сосудистые полости. Окраска гематоксилин-эозином,

- × 200. С. 64
28. Рисунок 28 – Уровень экспрессии генов в остеотрансплантате; ПЦР в режиме реального времени: ХТ – хондротрансплантат, ОТ – остеотрансплантат. сиалопротеина (Bsp), остеонектина (On), остеопонтина (Opn), щелочной фосфатазы (Alp) и Runx2 (данные представлены $M \pm SD$). С. 65
29. Рисунок 29 – А – Реакция иммунофлуоресценции с антителами: А – к остеонектину (NCL-0-Nectin, красный), CD 44 (14-0441-82, зеленый), Б – коллагену I (ab34710, зеленый), фибронектин (ab6328, красный), В – агрекан (ab3778-1, красный), CD 44 (зеленый). С. 65
30. Рисунок 30 – Зона дефекта кости при имплантации аутоотрансплантата через 14 дней, заполнена грануляционной тканью с диффузно-очаговой лимфо-лейкоцитарной инфильтрацией. Окраска гематоксилин-эозином, × 200. С. 67
31. Рисунок 31 – Зона дефекта кости при имплантации аутоотрансплантата через 30 дней, заполнена формирующейся костной тканью с «нежным» остеоидом, окраска гематоксилин-эозином, × 200. С. 68
32. Рисунок 32 – Формирование губчатой кости в зоне дефекта кости при имплантации аутоотрансплантата через 90 дней, окраска гематоксилин-эозином, × 200. С. 69
33. Рисунок 33 – Зона дефекта кости нижней челюсти, при имплантации аутоотрансплантата через 180 дней, представлена грубоволокнистой костной тканью, окраска гематоксилин-эозином, × 200. С. 70
34. Рисунок 34 – Результаты исследования плотности кости в группе при заполнении дефекта аутоотрансплантатом в точке 1, 2, 3 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони. С. 72

35. Рисунок 35 – Динамика плотности кости в группе при заполнении дефекта аутооттрансплантатом в точке 1, 2, 3 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони. С. 74
36. Рисунок 36 – Зона дефекта кости, заполненного хондротрансплантатом через 14 дней, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$ С. 75
37. Рисунок 37 – Зона дефекта кости при имплантации хондротрансплантата через 30 выполнена грануляционной тканью с диффузной полиморфноклеточной воспалительной инфильтрацией, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$ С. 76
38. Рисунок 38 – Зона дефекта кости, при имплантации хондротрансплантата через 90 дней, заполнена созревающей грануляционной тканью с диффузной лимфоидной инфильтрацией, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$ С. 77
39. Рисунок 39 – Зона дефекта кости, заполненного хондротрансплантатом через 180 дней, выполнена гиалинизированными соединительнотканными волокнами с очаговой лимфоидной инфильтрацией, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$ С. 78
40. Рисунок 40 – Результаты исследования плотности кости в группе при замещении дефекта хондротрансплантатом в точке 1, 2, 3 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони. С. 79
41. Рисунок 41 – Динамика плотности кости в группе 2 в точке 1, 2, 3 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони. С. 81
42. Рисунок 42 – Зона дефекта кости, при имплантации остеотрансплантата через 14 дней, представлена грануляционной тканью с диффузно-очаговой лимфо-лейкоцитарной

- инфильтрацией, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$ С. 81
43. Рисунок 43 – В зоне дефекта кости, заполненного остеотрансплантатом через 30 дней, сформировалась губчатая кость с активным остеогенезом, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$ С. 82
44. Рисунок 44 – Зона дефекта кости, заполненного остеотрансплантатом через 90 дней, представлена сформированными балками губчатой кости, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$ С. 83
45. Рисунок 45 – Зона дефекта кости, заполненного остеотрансплантатом, через 180 дней сформированная костная ткань. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$ С. 84
46. Рисунок 46 – Данные морфометрии области дефекта кости, заполненный остеотрансплантатом. С. 85
47. Рисунок 47 – Результаты исследования плотности кости в группе при заполнении дефекта остеотрансплантатом в точке 1, 2, 3 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони. С. 87
48. Рисунок 48 – Динамика плотности кости в группе при замещении дефекта остеотрансплантатом в точке 1, 2, 3 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони. С. 89
49. Рисунок 49 – Область дефекта кости, без заполнения (контрольная группа) через 14 дней, содержит некротизированные костные фрагменты окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$ С. 89
50. Рисунок 50 – Зона дефекта кости, без заполнения костнозамещающим материалом (контрольная группа) через 30 дней, представлена соединительной тканью с диффузно-очаговой лимфоцитарной инфильтрацией окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$ С. 90

51. Рисунок 51 – Зона дефекта кости без заполнения (контрольная группа) через 90 дней выраженная перестройка костной ткани в области повреждения окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$ С. 91
52. Рисунок 52 – Область дефекта кости, без заполнения (контрольная группа) через 180 дней процесс репаративной регенерации с активной перестройкой кости, окраска гематоксилин-эозином, $\times 200$ С. 92
53. Рисунок 53 – Данные морфометрии области дефекта кости, контрольной группе. С. 93
54. Рисунок 54 – Результаты исследования плотности кости в группе без замещения дефекта в точке 1, 2, 3 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони. С. 95
55. Рисунок 55 – Динамика плотности кости в группе без замещения дефекта в точке 1, 2, 3 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони. С. 97
56. Рисунок 56 – Сравнительный анализ плотности кости группы 1 (при замещении аутооттрансплантатом) и группы 4 (контрольная группа). С. 98
57. Рисунок 57 – Сравнительный анализ плотности кости группы в центральной точке (точка 1) и периферической точке (точка 2) в группе 1 (замещение дефекта аутооттрансплантатом и в группе 4 (контроль). С. 100
58. Рисунок 58 – Сравнительный анализ плотности кости группы при замещении остеотрансплантатом (группа 3) и контрольной группы (группа 4). С. 102
59. Рисунок 59 – Сравнительный анализ плотности кости группы в центральной точке (точка 1) и периферической точке (точка 2) в группе при имплантации остеотрансплантата и контрольной

группы.	С. 104
60. Рисунок 60 – Сравнительный анализ плотности кости группы при имплантации аутооттрансплантата и остеотрансплантата.	С. 106
61. Рисунок 61 – Сравнительный анализ плотности кости группы в центральной точке (точка 1) и периферической точке (точка 2) при имплантации аутооттрансплантата и остеотрансплантата.	С. 108
Рисунок 62 – Сравнительный анализ плотности кости группы в центральной точке (точка 1) и периферической точке (точка 2) при имплантации аутооттрансплантата и остеотрансплантата	С. 110
62. Таблица 1 – Структура эксперимента (крысы, n = 120).	С. 37
63. Таблица 2 – Данные морфометрии кости в группе 1 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони.	С. 71
64. Таблица 3 – Данные исследования плотности кости в группе 1 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони.	С. 74
65. Таблица 4 – Данные исследования плотности кости в группе 2 ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони.	С. 80
66. Таблица 5 – Данные морфометрии кости в группе при замещении дефекта остеотрансплантатом ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони.	С. 86
67. Таблица 6 – Данные исследования плотности кости в группе при замещении дефекта остеотрансплантатом. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони.	С. 88
68. Таблица 7 – Данные морфометрии кости в контрольной группе ($M \pm SD$). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони.	С. 94

69. Таблица 8 – Данные исследования плотности кости в группе без заполнения дефекта. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони. С. 96
70. Таблица 9 – Сравнительный анализ плотности кости группы 1 (при замещении аутооттрансплантатом) и группы 4 (контрольная группа). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони ($M \pm SD$). С. 100
71. Таблица 10 – Сравнительный анализ плотности кости группы в центральной точке (точка 1) и периферической точке (точка 2) в группе 1 и 4. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони ($M \pm SD$). С. 101
72. Таблица 11 – Сравнительный анализ плотности кости группы 3 и 4. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони ($M \pm SD$). С. 104
73. Таблица 12 – Сравнительный анализ плотности кости группы в центральной точке (точка 1) и периферической точке (точка 2) в группе 3 и 4. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони ($M \pm SD$). С. 105
74. Таблица 13 – Сравнительный анализ плотности кости группы 1 и 3. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони ($M \pm SD$). С. 108
75. Таблица 14 – Сравнительный анализ плотности кости группы в центральной точке (точка 1) и периферической точке (точка 2) в группе при замещении аутооттрансплантатом и остеотрансплантатом. Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони ($M \pm SD$). С. 110