

Косарева Ольга Сергеевна

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

1.5.22. Клеточная биология.

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Дровосеков Михаил Николаевич

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор

Бгатова Наталия Петровна

(Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», лаборатория ультраструктурных исследований, заведующий лабораторией)

доктор медицинских наук, доцент

Кирилова Ирина Анатольевна

(Федеральное государственное бюджетное учреждение «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я. Л. Цивьяна» Министерства здравоохранения Российской Федерации, дирекция, учебно-методический отдел, заместитель директора по научной работе, доцент учебно-методического отдела)

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Барнаул)

Защита диссертации состоится « ____ » _____ 2025 г. в « ____ » часов на заседании диссертационного совета 21.2.046.05, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Залесского, 4; тел. 8 (383) 222-68-35; <https://new.ngmu.ru/dissers/get-file/4862>)

Автореферат разослан « ____ » _____ 2025 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

С. В. Залавина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

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 (Кесаева Г. А., 2023). Протезирование дефектов зубного ряда конструкциями с опорой на дентальные имплантаты, позволило полноценно восстанавливать функции зубочелюстной системы, и добиться высокого эстетического результата. Однако, дефекты, возникающих в результате удаление 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 (Burnier M. et al., 2020; Awad H. A., 2020).

Для восстановления анатомического объема кости альвеолярного отростка челюсти используются различные материалы биологического и синтетического происхождения (Корель А. В., 2019; Battafarano G., 2021), однако ограниченный объём материала, дополнительная травматизация при заборе, риск инфицирования, отсутствие возможности длительного хранения и иммуногистонесовместимость инициируют непрерывный поиск новых остеопластических материалов (Awad H. A., 2020).

Широкие перспективы открыли клеточные технологии. Применение мезенхимальных стволовых клеток (МСК) стимулирует процесс остеогенеза, при этом МСК обладают иммуномодулирующими свойствами, контролируя воспалительные ответы и модифицируя реакции иммунных клеток (Yoshitani J, 2020; Fu J et al., 2021). Однако, 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 (Киселевский М. В., 2018).

В настоящее время большой интерес представляют тканевые

трансплантаты, полученные методом тканевой инженерии, имеющие собственный матрикс и клеточные компоненты по запатентованной методике (Патент № 2580754).

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 (Burnier M. et al., 2020). Результаты немногочисленных проведенных исследований позволяют сделать выводы, что применение тканеинженерных трансплантатов способствуют ускорению замещения костных дефектов морфогенетически идентичной костной тканью (Аванесян Р. А., 2013; Терских, В. В., 2010).

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 аутотрансплантата 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 аутотрансплантата 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 аутотрансплантатом.

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.

Автор выражает огромную благодарность профессору, заслуженному деятелю науки Зайдман Алле Михайловне, а также заведующему кафедрой ортопедической стоматологии ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России Ивановой Нине Александровне за бесценный опыт совместной работы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

С целью изучения морфологических особенностей регенерации кости при замещении дефекта нижней челюсти хондротрансплантатом, остеотрансплантатом проведено исследование на 120 самцах крыс линии Wistar возрастом 3 месяца, массой 300 г. Исследование выполнено на животных с соблюдением положений Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации и Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных (утв. приказом Минздрава России от 19.03.2003 № 226). В условиях общей анестезии животных укладывали на бок, скальпелем производили разрез длиной 5 мм в проекции угла нижней челюсти. Распатором отслаивали жевательную мышцу – обнажали кость. При помощи твердосплавного шаровидного бора под постоянным водяным охлаждением, с вестибулярной

поверхности ветви нижней челюсти на расстоянии 3 мм выше угла нижней челюсти, сформировали трепанационное отверстие диаметром 2,5 мм. Животные делились на 4 однородные группы по виду используемого пластического материала по 30 животных на группу. В 1-й группе применялся костный аутооттрансплантат, в виде фрагмента кортикальной части кости, размером до 2,0 мм, полученной интраоперационно во время формирования дефекта в области угла нижней челюсти. Во 2-й группе использовался трехмерный хондротрансплантат, полученный *in vitro* из хондробластов, извлеченных из позвоночника новорожденного мини поросенка в соответствии с рекомендациями (патент №2392973), в 3-й группе использовался трехмерный остеотрансплантат, полученный *in vitro* путем дифференцировки хондротрансплантата по запатентованной методике (патент № 2580754). В 4-й группе сформированный дефект не заполнялся, заживление происходило под кровяным сгустком (контрольная группа). Рану послойно ушивали материалом «Vicryl» 5.0.

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. Послеоперационное наблюдение проводили в сроки 14, 30, 90 и 180 дней. По окончании периода животных выводили из эксперимента путем эвтаназии используя углекислый газ (CO₂). В данные сроки визуально оценивали наличие дефекта, выраженность гипертрофии мягких и твердых тканей в области. После чего изымали костную ткань в области сформированного дефекта трансплантации, герметично упаковывали в транспортную среду, доставляли для проведения исследований.

Для ультраструктурного анализа клеток и матрикса проводили электронную микроскопию, для этого полученные трансплантаты фиксировали в 4 % растворе параформа с фиксацией раствором OsO₄, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации, заключали в эпонаралдит. На ультратоме «RIACHRT» готовили ультратонкие срезы, контрастировали уранилацетатом и изучали под электронным микроскопом «Hitachi-600».

Для подтверждения тканевой принадлежности полученных трансплантатов использовали метод иммунофлуоресцентного анализа и реакцию ПЦР. При проведении иммунофлуоресцентного анализа при помощи криотома «Microm HM 505» готовили срезы толщиной 8–10 мкм на предметные стекла, обработанные поли D-лизином. Препараты окрашивали антителами к агрекану (ab3778-1), коллагену 2 типа (ab 3092), фибронектину (ab6328), Sox9 (Epr14335-7), к остеонектину (NCL-0-Nectin, красный), CD 44 (14-0441-82, зеленый), коллагену I (ab34710, зеленый). Препараты анализировали в реагенте «Vectashield Mounting Medium», содержащем DAPI, на флуоресцентном микроскопе «Nicon X100».

При проведении ПЦР реакции выделения иРНК из хондробластов осуществляли китом TRIZOL. Для очистки РНК от ДНК добавляли к 40 мкл выделенного РНК-раствора 1 единицу активности ДНК-азы и соответствующий буфер, доводили объем до 100 мкл. Анализ продуктов ПЦР проводили методом горизонтального гель-электрофореза в 0,9 % агарозном геле в буфере TAE с содержанием 1 мкг/мл бромистого этидия. Электрофорез проводили в течение 20 минут. Напряженность электрического поля 6–8 В/см. Для нанесения на гель раствор ДНК смешивали с 50 % глицерином, содержание 0,1 % бромфеноловый синий, 0,1 % ксиленцианол в соотношении 1 : 10. Сканирование геля проводили в ультрафиолетовом свете. Праймеры подбирали для гена агрекана человека (NM013227, GI:6995993), GAPDH (NM002046.2, GI7669491).

С целью определения структуры кости регенерата и определение его клеточного состава 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 по Ван Гизону. Оценку процесса репаративного остеогенеза проводили под микроскопом «Carl Zeiss EVO 50».

Для определения плотности регенерата и интактной кости нижней челюсти проводили конусно лучевую компьютерную томографию (КлКТ). При исследовании плотности кости оценивали показатели плотности в трех точках – центральная зона дефекта (T1), периферическая зона дефекта (T2), данная зона располагается на границе с ложем реципиента и зона интактной кости угла нижней челюсти (T3). В полученных сканах проводили измерение плотности кости в трех точках в программе OnDemand 3D. По полученным данным КЛКТ оценивали качество костной ткани по классификации Misch (Misch С. Е., 2017), где:

- $D1 \geq 1\,250$ HU – толстый слой компактной кости, отмечается слабое кровоснабжение;
- $D2 = 850\text{--}1250$ HU – толстая кость, но с пористым компактным слоем и выраженным губчатым, хорошее кровоснабжение;
- $D3 = 350\text{--}850$ HU – тонкая кость с пористым компактным слоем, рыхлой структурой губчатого слоя, с хорошим кровоснабжением;
- $D4 \leq 350$ HU – рыхлое губчатое вещество.

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.

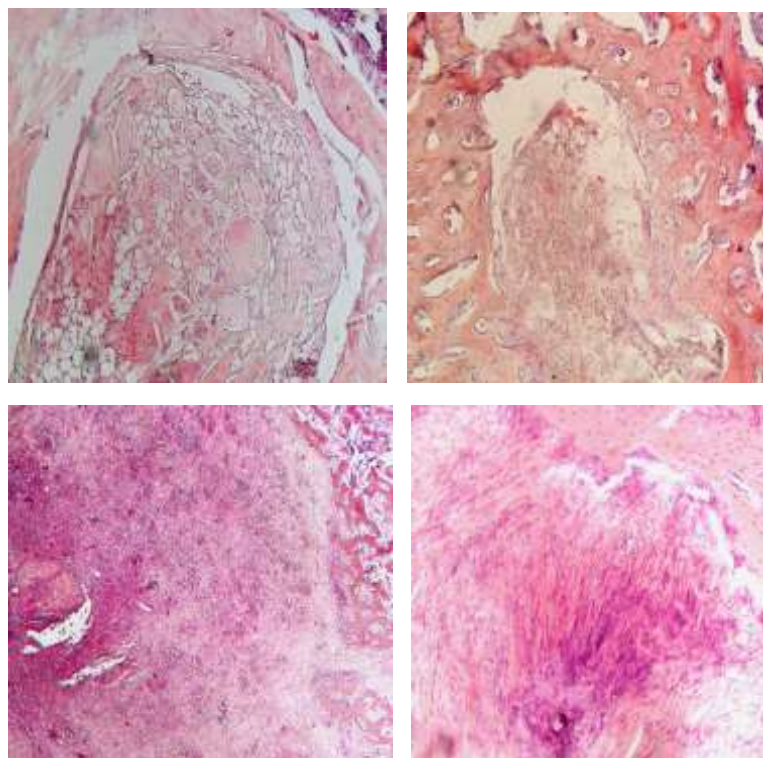
Полученные данные обработаны с использованием описательной статистики. Межгрупповое сравнение по количественным показателям проведено при помощи статистического критерия, используемого для оценки различий между двумя независимыми выборками Манна – Уитни. В случае одной пары сравнений различия считали статистически значимыми при уровне значимости

менее установленного значения 0,05. В случае множественных сравнений, различия считали значимыми при учете поправки Бонферрони для тридцати пар сравнения пороговый уровень альфа принимали $0,05 / 30 = 0,01666$. Статистический анализ был проведен с использованием программного обеспечения IBM SPSS Statistics (версия 21.0).

РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Через 14 дней область дефекта кости нижней челюсти при имплантации аутоотрансплантата заполнена рыхлой ретикулярной тканью с мелкими фрагментами частично резорбированных костных балок, без признаков остеогенеза. Через 30 дней область дефекта кости выполнена остеогенной тканью и примитивными костными балками. Через 90 дней область бывшего дефекта кости заполнена клеточно-волокнутой, хорошо васкуляризированной тканью, видны формирующиеся костные балочки, окруженные остеобластами и зоной остеоида. В некоторых участках прослеживалась перестройка примитивных костных структур и формирование более зрелых трабекул. Через 180 дней костная ткань в области дефекта представлена грубоволокнутой и частично пластинчатой костной тканью. Костные структуры сформированы в виде первичных остеонов с нечеткими границами.

Через 14 дней зона дефекта нижней челюсти при трансплантации хондротрансплантата представлена крупными, с обильной цитоплазмой, и мелкими ядрами, клетками, напоминающими хондроциты. Наряду с этим, в трансплантате определяются немногочисленные гигантские клетки, фокусы некрозов и поля грануляционной ткани. Остеогенная реакция отсутствует (Рисунок 1а). Через 30, 90 и 180 дней область дефекта заполнена грануляционной тканью разной степени зрелости с очаговой, незначительно выраженной лимфоидной инфильтрацией с единичными нейтрофилами. Остеогенная реакция отсутствует (Рисунок 1б-1г).

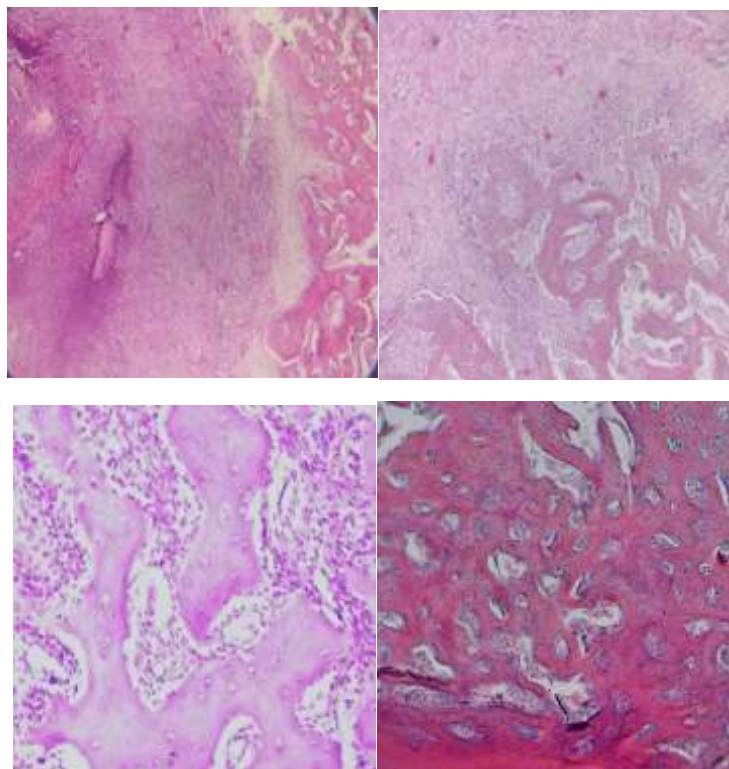


Примечание: а – через 14 дней, б – через 30 дней, в – через 90 дней, г – 180 дней, представлена грануляционной тканью разной степени зрелости, окраска гематоксилин – эозином, $\times 200$.

Рисунок 1 – Зона дефекта кости при имплантации хондротрансплантата

Через 14 суток эксперимента в зоне бывшего дефекта, заполненного остеотрансплантатом, определялась примитивная костная ткань. Вокруг дефекта кости сформирована капсула, представленная рыхлой волокнистой соединительной тканью с мелкими фокусами резорбции костных балок (Рисунок 2а). Через 30 суток эксперимента в зоне трансплантации сформирована костная ткань балочного строения. Изнутри дефекта по всему периметру сформировалась ограничительная многоклеточная богатососудистая рыхловолокнистая соединительная ткань, в которую активно внедрялись многочисленные первичные примитивные костные балочки, содержащие первичные сосудистые каналы с широкими просветами. Костные балки окружены несколькими рядами пролиферирующих остеобластов. Между ними располагается большое количество полнокровных сосудов. Процесс репаративного остеогенеза прослеживался по

всему периметру костного дефекта (Рисунок 2б). Через 90 дней эксперимента зона трансплантации дефекта остеотрансплантатом заполнена органоспецифической костной тканью (Рисунок 2в). Через 180 дней эксперимента в области дефекта сформировалась кость, состоящая из губчатой зрелой костной ткани, типичной для этой области. В межбалочных пространствах располагался миелоидный костный мозг (Рисунок 2г).



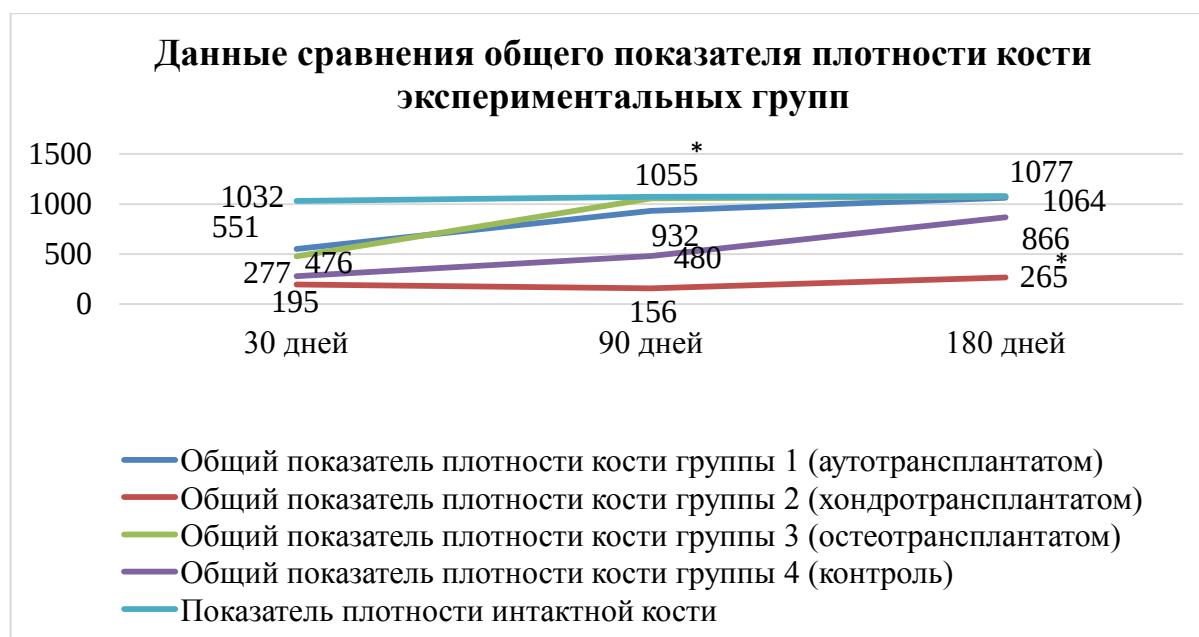
Примечание: а – примитивная кость, б – кость балочного строения, в – органоспецифическая губчатая кость, г – зрелая губчатая кость, окраска гематоксилин – эозином, $\times 200$.

Рисунок 2 – Зона дефекта при имплантации остеотрансплантата

В контрольной серии через 14 дней зона дефекта заполнена грануляционной тканью с воспалительной инфильтрацией, фрагментами некротизированной костной ткани. Через 30 дней в области дефекта определяются участки резорбции костных балок с клетками воспалительного инфильтрата. По периметру дефекта сформировалась многоклеточная остеогенная рыхловолокнистая соединительная

ткань со слабо выраженным процессом репаративного остеогенеза. Через 90 дней в области дефекта кости определяется рыхлая волокнистая ткань с мелкими молодыми сосудами, определяются незрелые костные балки, окруженные остеобластами. Через 180 дней эксперимента в контрольной группе репаративные процессы привели к частичному восстановлению костной структуры в области бывшего дефекта, но в центральных отделах репаративные процессы продолжаются.

При сравнительном анализе общего показателя плотности кости в области дефекта экспериментальных групп установлено, что общий показатель плотности кости при замещении дефекта аутооттрансплантатом на сроке 30 дней оказался выше показателя плотности кости группы при замещении дефекта остеотрансплантатом в связи с тем, что аутооттрансплантат представлен фрагментами собственной кости, частично не резорбированной на данном сроке наблюдения. Общий показатель плотности кости данной группы достиг показателей плотности интактной кости на сроке 180 дней. При этом общий показатель рентгеноплотности остеотрансплантата резко увеличился на сроке 90 дней относительно предыдущего срока наблюдения и составил 1 055 HU, превышая показатель плотности кости при замещении дефекта аутооттрансплантатом на этом же сроке наблюдения и соответствует 2-му типу по классификации Misch, что соответствует показателю плотности интактной кости. В контрольной группе общий показатель рентгеноплотности дефекта на сроке 90 дней составил 480 HU, что соответствует D3 по классификации Misch, на сроке наблюдения 180 дней так не достиг показателя плотности интактной кости, подтверждая факт продолжающегося процесса остеогенеза. Общий показатель плотности кости при замещении дефекта хондротрансплантатом на всех сроках наблюдения не превысил 265 HU, что подтверждает отсутствие процесса остеогенеза (Рисунок 3).



Примечание: Сравнение *с интактной костью (критерий Манна – Уитни).

Рисунок 3 – Общий показатель плотности кости экспериментальных групп (НУ)

Анализ показателей плотности кости в центральной точке дефекта (точка 1) и периферической точки (точка 2) через 30 суток при имплантации аутооттрансплантата показал, наибольшее снижение рентгеноплотности отмечалось в точке, расположенной в зоне контакта с ложем реципиента. Данные результаты показали наличие процесса резорбции в периферической зоне трансплантата с менее выраженным процессом перестройки кости в центральной части. Через 90 дней отмечалось увеличение рентгеноплотности аутооттрансплантата и в центральной точке, и в периферической относительно срока 30 дней с преобладающим значением в периферической точке. Таким образом, процесс регенерации кости нижней челюсти при восстановлении дефекта аутооттрансплантатом продвигается от периферии к центру. Через 180 дней рентгеноплотность области дефекта в двух точках соответствует показателям рентгеноплотности зоны интактной кости угла нижней челюсти.

Анализ показателей плотности кости при имплантации хондратрансплантата показал, на всех сроках наблюдения плотность кости точки, расположенной в центре дефекта, ниже плотности кости, расположенной в

непосредственном контакте с ложем реципиента, и в 10 раз ниже показателя плотности интактной кости. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии процесса формирования кости в дефекте.

При анализе данных показателей плотности кости дефекта, заполненного остеотрансплантатом, через 30 дней выявлено равномерное изменение рентгеноплотности во всех точках остеотрансплантата. Плотность точек дефекта в 2 раза ниже плотности интактной кости нижней челюсти. Через 90 дней показатель плотности центральной точки и периферической точки достигли показателя плотности интактной кости нижней челюсти.

Анализ показателей плотности кости контрольной группы животных показал, на всех сроках наблюдения плотность кости точки, расположенной в центре дефекта, ниже плотности кости периферической точки дефекта. Через 180 дней плотность кости центральной и периферической точки дефекта не достигла показателя плотности интактной кости нижней челюсти (Таблица 1).

Таблица 1 – Результаты измерения плотности кости экспериментальных групп в центральной точке (точка 1) и периферической точке (точка 2) и плотности интактной кости (точка 3). Результаты оценены с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони ($M \pm SD$)

Показатель плотности (НУ)	Область измерения	30 дней	90 дней	180 дней
Средний показатель плотности кости при имплантации аутоотрансплантата	Точка 1	620 $\pm$ 2,4	842 $\pm$ 2,0	1 049 $\pm$ 1,8
	Точка 2	482 $\pm$ 1,8	1 022 $\pm$ 1,8	1 078 $\pm$ 2,0
Средний показатель плотности кости при имплантации хондротрансплантата	Точка 1	109 $\pm$ 2,2	105 $\pm$ 2,0	104 $\pm$ 2,1
	Точка 2	282 $\pm$ 1,9	207 $\pm$ 2,0	426 $\pm$ 1,8
Средний показатель плотности кости при имплантации остеотрансплантата	Точка 1	472 $\pm$ 2,3	1 038 $\pm$ 2,0	1 066 $\pm$ 2,2
	Точка 2	480 $\pm$ 1,8	1 072 $\pm$ 2,0	1 088 $\pm$ 1,8
Средний показатель плотности кости в контрольной группе	Точка 1	236 $\pm$ 2,3	347 $\pm$ 2,0	784 $\pm$ 1,2
	Точка 2	318 $\pm$ 2,0	613 $\pm$ 3,2	948 $\pm$ 1,8
Средний показатель плотности интактной кости	Точка 3	103 $\pm$ 2,2	1 071 $\pm$ 1,6	1 080 $\pm$ 1,9

По данным морфометрии кости через 14 суток количество остеогенных клеток увеличилось во всех группах наблюдения за исключением группы животных при имплантации хондротрансплантата (морфометрия не проводилась). Через 30 дней отмечалось увеличение количества остеогенных клеток и сосудов относительно срока 14 дней. При этом в экспериментальной группе при имплантации остеотрансплантата показатели количества остеогенных клеток и сосудов достигли максимального значения относительно всего периода эксперимента. Увеличение количества клеток остеогенного ряда и сосудов в зоне дефекта свидетельствует о факте наличия активного остеогенеза. Через 90 дней по данным морфометрии количество остеогенных клеток достигло максимального значения относительно всего периода наблюдения эксперимента в группе при трансплантации ауотрансплантата (Таблица 2).

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

Сроки наблюдения (дни)	При имплантации ауотрансплантата		При имплантации остеотрансплантата		Контрольная группа	
	остеогенные клетки	сосуды	остеогенные клетки	сосуды	остеогенные клетки	сосуды
14	$2,52 \pm 1,3$	$2,67 \pm 1,34$	$4,2 \pm 1,22$	$4,57 \pm 1,34$	$2,18 \pm 1,01$	$1,9 \pm 1,1$
30	$4,44 \pm 1,9$	$4,86 \pm 1,76$	$5,76 \pm 1,44$	$5,24 \pm 1,67$	$3,09 \pm 1,02$	$3,1 \pm 0,91$
90	$6,34 \pm 1,8$	$5,13 \pm 1,92$	$4,71 \pm 1,71$	$2,87 \pm 0,89$	$5,22 \pm 1,29$	$4,1 \pm 1,84$
180	$3,39 \pm 1,3$	$1,86 \pm 1,1$	$3,56 \pm 1,42$	$1,46 \pm 1,05$	$4,16 \pm 1,33$	$1,86 \pm 0,84$

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 аутооттрансплантатом плотность сформированной кости уступает плотности кости дефекта при применении остеотрансплантата. При этом регенерация кости на основе остеотрансплантата с формированием органоспецифической кости происходит на сроке 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 аутотрансплантатом 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 аутотрансплантатом, 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Регенерация костной ткани нижней челюсти методом тканевой инженерии / А. М. Зайдман, Н. А. Иванова, **О. С. Косарева** [и др.] // **Современные проблемы науки и образования.** – 2015. – № 6. – С. 119.
2. Экспериментальное обоснование применения трехмерного остеотрансплантата для регенерации костной ткани различной локализации и гистогенеза / А. М. Зайдман, **О. С. Косарева**, Е. И. Щелкунова [и др.] // **Современные проблемы науки и образования.** – 2016. – № 6. – С. 75
3. Современные методы восстановления дефектов костной ткани в стоматологической практике / **О. С. Косарева**, М. Н. Дровосеков, Н. А. Иванова [и др.] // **Морфологические ведомости.** – 2022. – Т. 30. – № 1. – С. 63–70.
4. Osteograft, plastic material for regenerative medicine / A. M. Zaidman, A. V. Korel, A. I. Shevchenko [et al., including **O. S. Kosareva**] // **Interdisciplinary Problems and Clinical Applications (PC'16) AIP Conf. Proc.** – 2016. – P. 760.

5. Особенности гистогенеза органоспецифического регенерата в эксперименте / **О. С. Косарева**, М. Н. Дровосеков, С. В. Савченко [и др.] // **Клеточные технологии в биологии и медицине.** – 2024. – № 4. – С. 248–253.

6. **Патент 2580754 Российская Федерация**, МПК А61В 17/58. Способ восстановления дефекта костной ткани : № 2015106506/14 : заявл. 25.02.2015 : опубл. 10.04.2016 / Зайдман А. М., Садовой М. А., Корель А. В., Рерих В. В., Щелкунова Е. Г., Иванова Н. А., **Косарева О. С.** ; заявитель и патентообладатель ФГБУ «ННИИТО им. Я. Л. Цивьяна» Минздрава России. – 10 с. : ил.

7. Регенерация костной ткани нижней челюсти методом тканевой инженерии / **О. С. Косарева**, Н. А. Иванова А. М. Зайдман [и др.] // Материалы Первой Межрегиональной Стоматологической конференции студентов и молодых ученых с международным участием. – Новосибирск : Сибмедиздат НГМУ, 2015. – С. 28–29.

8. Особенности регенерации костной ткани нижней челюсти трансплантатами, полученными методом тканевой инженерии / **О. С. Косарева**, Н. А. Иванова А. М. Зайдман [и др.] // Материалы девятого сибирского конгресса Стоматология и челюстно-лицевая хирургия Всероссийского симпозиума : Новые технологии в стоматологии. – Новосибирск : Сибмедиздат НГМУ, 2014. – С. 74–77.

9. Остеотрансплантат – пластический материал для регенерации костной ткани / А. М. Зайдман, А. И. Шевченко, А. В. Корель [и др., в том числе **О. С. Косарева**] // Сборник материалов форума. Биомедицина-2016. – Новосибирск, 2016. – С. 31.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

КЛКТ	конусно-лучевая компьютерная томография
МСК	мезенхимальные стволовые клетки
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ХТ	хондротрансплантат
НУ	единица Хаунсфилда