

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«ЦЕНТРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
СТОМАТОЛОГИИ И ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ХИРУРГИИ» МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

На правах рукописи

Потапова Анастасия Игоревна

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКИХ
МАТЕРИАЛОВ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ОБШИРНЫХ
РАДИКУЛЯРНЫХ КИСТ ЧЕЛЮСТИ**

3.1.7. Стоматология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Доктор медицинских наук, доцент
Ведяева Анна Петровна

Москва – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	14
1.1 Радикулярные кисты челюстей как причина возникновения дефектов кости челюстей	14
1.2 Способы лечения полостных новообразований челюстей	18
1.2.1. Хирургический метод лечения. Цистотомия	20
1.2.2. Хирургический метод лечения. Декомпрессионное дренирование....	21
1.2.3. Хирургический метод лечения. Цистэктомия.....	22
1.3. Способы направленной костной регенерации для устранения дефектов кости челюсти после операции цистэктомии.....	24
1.4. Osteопластические материалы, применяемые для устранения дефектов челюстей.....	27
1.4.1. Исследования ксеногенных костнопластических материалов.....	33
1.4.2. Исследования синтетических костнопластических материалов.....	36
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	41
2.1. Материалы.....	41
2.1.1. Ферменты и реактивы.....	41
2.1.2. Лабораторное оборудование.....	41
2.1.3. Материалы, применяемые для экспериментального исследования <i>in vitro</i> , <i>in vivo</i> , а также оперативного вмешательства в клинике.....	42
2.2. Лабораторные методы исследования.....	44
2.3. Анализ биосовместимости и цитотоксичности остеопластических материалов, эксперимент <i>in vitro</i>	44
2.3.1. Анализ жизнеспособности и фенотипа клеток на поверхности матриц.....	44
2.3.2. Количественная характеристика клеточной гибели.....	45
2.4. Влияние остеопластических материалов на про-воспалительную активность нейтрофилов и макрофагов, эксперимент <i>in vitro</i>	46

2.4.1. Хемилюминесцентный анализ.....	46
2.4.2. Культивирования макрофагов, полученных из мононуклеарных клеток периферической крови.....	47
2.4.3. Обработка материала и выделение клеток.....	47
2.4.4. Культивирование клеток.....	48
2.4.5. Добавка биоматериалов к макрофагам.....	48
2.4.6. Иммуноферментный анализ.....	49
2.4.7. Статистический анализ результатов эксперимента <i>in vitro</i>	49
2.5. Экспериментальное исследование <i>in vivo</i>	50
2.5.1. Проведение микро-КТ для оценки степени восстановления костного дефекта.....	56
2.5.2. Морфометрическое исследование.....	56
2.5.3. Статистический анализ результатов экспериментального исследования <i>in vivo</i>	56
2.6. Методика приготовления гистологических препаратов.....	57
2.7. Характеристика клинического материала.....	57
2.8. Методы обследования пациентов.....	58
2.8.1. Клиническое обследование.....	58
2.8.2. Конусно-лучевая компьютерная томография.....	59
2.9. Характеристика методов оперативного вмешательства.....	59
2.10. Методы статистической обработки данных.....	61
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	63
3.1. Результаты экспериментального исследования <i>in vitro</i>	63
3.1.1. Хемилюминесцентный анализ.....	63
3.1.2. Цитотоксичность остеопластических материалов.....	66
3.1.3. Влияние остеопластических материалов на синтез TNF-а макрофагами M0 и M1.....	70
3.1.4. Жизнеспособность клеток и адгезия к образцам.....	72
3.2. Результаты эксперимента <i>in vivo</i>	76

3.2.1. Морфологический анализ по результатам микро-КТ.....	76
3.2.2. Морфометрический анализ.....	77
3.3. Гистологическое исследование.....	79
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	86
4.1. Клиническая характеристика пациентов с диагнозом «радикулярные кисты челюстей»	86
4.2. Оценка закрытия дефекта кости.....	90
4.3. Оценка плотности костного репарата в области дефекта кости.....	95
4.4. Характеристика заживления в области оперативного вмешательства.....	97
4.5. Клинические примеры.....	100
ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	116
ВЫВОДЫ.....	122
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	124
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	125
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	127

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

В настоящее время радикулярные кисты челюстей встречаются у 58-62% пациентов и требуют хирургического вмешательства с целью предотвращения дальнейшего развития деструктивного процесса и возможных осложнений [38]. Зачастую операцией выбора становится резекция верхушек корней зубов, расположенных в полости кисты, с последующим ретроградным пломбированием и ушиванием зоны хирургического вмешательства после формирования сгустка. Однако в случае обширного кистозного образования, по результатам изучения компьютерной томографии челюстей пациентов в отсроченном постоперационном периоде, велик риск прорастания мягких тканей в полость сформированного дефекта и формирования фиброзного репарата. С целью костной регенерации дефекта кости челюсти размерами более 10 мм многие специалисты после удаления оболочки кисты заполняют костную полость остеопластическими материалами. Выбор оптимального костезамещающего материала, обладающего кондуктивным и индуктивным свойствами, является актуальным в настоящее время [19, 20].

Также становится актуальным изучение, разработка и внедрение во врачебную практику метода, позволяющего предотвратить формирование фиброзной ткани в костном дефекте для сокращения сроков восстановления пациентов и сокращения сроков дентальной имплантации [40].

Для устранения дефектов кости челюстей в настоящее время широко используются различные методы костной аугментации. В клинической практике широко применяют ксеногенные костные материалы, обладающие выраженными остеокондуктивными свойствами, альтернативой им являются синтетические материалы на основе фосфатов кальция. Отечественными производителями разработан и предложен новый материал «Нуклеостим-VEGF» (ООО «Гистографт», Россия). При экспериментальном исследовании материала были изучены и оценены биологическая эффективность, плотность, степень его

минерализации на разных сроках после операции. За счет наличия в своем составе плазмидного ДНК гена сосудистого эндотелиального роста (VEGF) материал обладает остеоиндуктивными свойствами [19]. «Нуклеостим-VEGF» рекомендован производителем для проведения операций синус-лифтинга, направленной костной регенерации и закрытия обширных дефектов челюстно-лицевой области [41].

Применение ксеногенных материалов, обладающих только остеокондуктивным свойством, не всегда позволяет сформировать благоприятные условия для закрытия костных дефектов радикулярных кист, ввиду низкого регенераторного потенциала. Важным фактором является риск персистенции или инфицирования зоны дефекта, что может приводить к отторжению материала и неблагоприятному исходу операции. Использование аутогенной кости в области небольших дефектов также не всегда целесообразно ввиду несоизмеримой травмы в донорской области. В некоторых клинических исследованиях отражены случаи анкилозирования, либо резорбции поверхности корней при использовании аутогенной кости. В связи с этим применение синтетических костных материалов, обладающих и кондукционными, и индукционными свойствами, является наиболее целесообразным для применения на практике [18]. Многие современные синтетические биоматериалы обладают дополнительными преимуществами, такими как устойчивость к инфицированию за счет включения антимикробных компонентов или предсказуемым поведением в потенциально контаминированных зонах [65, 73].

Однако научно-обоснованных клинических данных по применению остеопластического материала «Нуклеостим-VEGF» для замещения костных дефектов после удаления радикулярных кист челюстей нет. В связи с этим актуальным является дальнейшее изучение свойств и регенераторного потенциала остеопластического материала «Нуклеостим-VEGF».

Степень разработанности темы исследования

На сегодняшний день не изучена реакция клеток врожденного иммунитета

и пролиферативная активность мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток к гранулам остеопластического материала «Нуклеостим-VEGF», а также не проведен сравнительный анализ материала с широкоприменяемыми ксеногенными материалами «Bio-Oss» и «Cerabone» для возможности внедрения его в клиническую практику в качестве их альтернативы.

Проведенный анализ отечественной и зарубежной литературы не выявил данных о проведенных экспериментах, направленных на изучение остеокондуктивных и остеоиндуктивных свойств материала «Нуклеостим-VEGF», а также о его применении в области дефектов кости челюстей после операции цистэктомии.

Цель исследования

Повышение эффективности хирургического лечения костных дефектов челюстей у пациентов с обширными радикулярными кистами.

Задачи исследования

1. В эксперименте *in vitro* изучить реакцию клеток врожденного иммунитета и пролиферативную активность мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток к гранулам остеопластического материала «Нуклеостим-VEGF» в сравнении с «Bio-Oss» и «Cerabone».

2. По данным микро-КТ провести сравнительное исследование регенераторного потенциала материалов «Нуклеостим-VEGF», «Bio-Oss» и «Cerabone», имплантируемых на теменные кости лабораторных животных в ходе эксперимента *in vivo*.

3. Провести сравнительное гистоморфологическое исследование образцов теменных костей крыс линии Wistar материалов «Нуклеостим-VEGF», «Bio-Oss» и «Cerabone» на 30, 60, 90 сутки.

4. По данным КЛКТ-исследования провести сравнительный анализ эффективности исследуемых остеопластических материалов по восстановлению остаточного дефекта и плотности новообразованной кости у исследуемых групп

пациентов на сроках 6 и 12 месяцев.

5. Разработать практические рекомендации для определения оптимального остеопластического материала у пациентов при хирургическом лечении обширных радикулярных кист на основе клинического течения постоперационного периода.

Научная новизна

1. Впервые в эксперименте *in vitro* проведено сравнительное изучение реакции клеток врожденного иммунитета и пролиферативная активность мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток к гранулам остеопластического материала «Нуклеостим-VEGF» в сравнении «Bio-Oss» и «Cerabone».

2. Впервые в эксперименте *in vitro* доказано, что ген-активированный материал с плазмидой VEGF способен модулировать иммунный ответ, снижая секрецию TNF-а про-воспалительными макрофагами.

3. Впервые проведено сравнительное изучение регенераторного потенциала остеопластических материалов «Нуклеостим-VEGF» и ксеногенных материалов «Bio-Oss» и «Cerabone» по данным микро-КТ теменных костей крыс линии Wistar в эксперименте *in vivo*.

4. Впервые на основании клинико-рентгенологических данных обоснована эффективность аугментации костных дефектов при применении остеопластического материала «Cerabone».

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные в ходе исследования данные вносят вклад в понимание процессов репаративного остеогенеза при использовании современных остеопластических материалов. Результаты работы расширяют существующие представления о сроках и этапах интеграции различных типов костнопластических материалов в зоне послеоперационных дефектов челюстных костей. Ключевым теоретическим выводом является обоснование целесообразности применения

костнопластического материала во всех клинических ситуациях, при этом обязательным условием для прогнозируемого формирования костной ткани выступает его изоляция защитной мембраной. Систематизированные данные о структурно-функциональных изменениях могут служить фундаментом для дальнейшего совершенствования подходов к тканевой инженерии и разработки новых поколений материалов для заполнения костных полостей.

Практическая значимость работы заключается в научном обосновании выбора сертифицированных остеопластических материалов для восстановления дефектов челюстей после цистэктомии. Внедрение результатов исследования в клиническую практику позволяет оптимизировать тактику ведения пациентов с корневыми кистами. Доказано, что для достижения максимальной эффективности лечения целесообразно во всех случаях дополнять операцию вмешательства применением костнопластического материала с обязательным его укрытием мембраной. Такой подход повышает предсказуемость репаративного остеогенеза, обеспечивает условия для формирования полноценной костной ткани в зоне вмешательств, снижает риск послеоперационных осложнений, а также сокращает сроки реабилитации пациентов за счет улучшения прогнозирования восстановительных процессов.

Методология и методы исследования

Диссертация выполнена в соответствии с принципами и правилами доказательной медицины. Первым этапом было выполнено экспериментальное исследование *in vitro* свойств остеопластических материалов. Изучена реакция клеток врожденного иммунитета и пролиферативная активность мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток к гранулам остеопластического материала «Нуклеостим-VEGF», а также к гранулам ксеногенных материалов «Bio-Oss» и «Cerabone». Проведен хемилюминесцентный анализ радикал-продуцирующей активности нейтрофилов при инкубации с изучаемыми остеопластическими материалами. Проведена оценка цитотоксичности остеопластических материалов в отношении макрофагов

с помощью Live/Dead теста и теста на жизнеспособность AlamarBlue и определено влияние остеопластических материалов на секрецию макрофагами про-воспалительного цитокина TNF- α с помощью иммуноферментного анализа.

Проведено экспериментальное исследование *in vivo*, сформированные «критические дефекты» теменных костей крыс линии Wistar заполнялись исследуемыми материалами. После проводили гистологическое и рентгенологическое исследование биоптатов на 30, 60 и 90 сутки. Оценивали регенераторный потенциал ген-активированного материала в сравнении с ксеногенными. По полученным результатам по завершении первого этапа исследования решался вопрос о возможности и безопасности применения материала в клинической практике врача-стоматолога-хирурга.

Вторая часть работы включает клиническое исследование, в ходе которого было изучено несколько групп пациентов. В зависимости от группы исследования пациентам проводилось удаление причинного зуба и цистэктомия с дальнейшей аугментацией костного дефекта костнопластическим материалом или его заполнением собственной кровью пациента, либо проводилась зубосохраняющая операция с заполнением дефекта после удаленной радикулярной кисты остеопластическим материалом или собственной кровью пациента. По результатам был определен наиболее эффективный метод хирургического лечения пациентов с корневыми кистами, позволяющий значительно сократить сроки реабилитации пациента, в том числе и перед дентальной имплантацией.

Положения, выносимые на защиту

Ген-активированный синтетический материал «Нуклеостим-VEGF» демонстрирует выраженные остеоиндуктивные свойства за счёт включения плазмидной ДНК с геном VEGF, что способствует активной васкуляризации и снижению провоспалительной активности макрофагов (M1) *in vitro*, а также стимулирует регенерацию костной ткани *in vivo*, не вызывая значимой цитотоксичности.

Ксеногенный материал «Cerabone» обладает превосходящей

остеокондукцией по сравнению с «Bio-Oss» и «Нуклеостим-VEGF» в условиях критических костных дефектов теменных костей крыс, что подтверждается гистоморфологическими и микро-КТ данными в эксперименте *in vivo*.

Ксеногенный материал «Cerabone» позволяет значительно сократить сроки реабилитации пациентов и исключает дополнительные хирургические вмешательства у пациентов с дефектами кости после удаления радикулярных кист.

Степень достоверности и апробация результатов

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.1.7. – стоматология. Работа охватывает проблемы изучения методов восстановления дефектов кости челюстей. Достоверность полученных результатов подтверждается достаточным объемом клинических данных, использованием современных методов обследования пациентов. Добровольное участие пациентов в исследовании подтверждается их письменным информированным согласием. Статистический анализ данных проводился в соответствии с принципами доказательной медицины. В исследовании научно обоснованы свойства остеопластических материалов и эффективность их применения в клинической практике, полученные результаты демонстрируют достижение целей. Выводы и практические рекомендации обоснованы и подтверждаются полученными в ходе исследования результатами. **Выполнение работ по диссертационному исследованию было поддержано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации по грантовому соглашению № 075-15-2024-640 (Сеченовский университет).**

Материалы диссертации были представлены на общеинститутской конференции Ученого совета федерального государственного бюджетного учреждения Национального медицинского исследовательского центра «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ НМИЦ «ЦНИИСиЧЛХ» Минздрава РФ, 28.02.2025 г.).

Апробация диссертации проведена на совместном заседании сотрудников отделения хирургической стоматологии, отделения реконструктивной челюстно-лицевой и пластической хирургии, отделения челюстно-лицевой хирургии, отделения хирургического лечения аномалий черепно-челюстно-лицевой области, отделения челюстно-лицевой хирургии (детское), отделения клинической и экспериментальной имплантологии, отделения пародонтологии, междисциплинарного многопрофильного стоматологического отделения ФГБУ НМИЦ «ЦНИИСиЧЛХ» Минздрава России 17.07.2025 г.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены в клиническую практику отделения хирургической стоматологии ФГБУ НМИЦ «ЦНИИСиЧЛХ» Минздрава РФ и используются в обучении врачей-ординаторов, курсантов и аспирантов.

Личный вклад автора

Автор провел независимый поиск и анализ зарубежной и отечественной литературы, в том числе патентно-информационный поиск.

Автор принимал участие в экспериментальных исследованиях *in vitro* и *in vivo* (на теменных костях крыс линии Wistar) для изучения свойств материалов «Bio-Oss», «Cerabone» и «Нуклеостим-VEGF», в том числе их регенераторного потенциала.

Автор принимал участие в обследовании пациентов, диагностике данных КЛКТ-исследований, вел и наблюдал пациентов в послеоперационном периоде.

Непосредственно участвовал в операциях с применением остеопластических материалов «Bio-Oss», «Cerabone» и «Нуклеостим-VEGF» у пациентов с радикулярными кистами челюстей. Исследование, проведенное автором, также включало интерпретацию полученных данных методами статистического анализа и изложения материала в научных публикациях, написанных автором самостоятельно.

Публикации

По результатам исследования опубликовано 6 научных работ, в том числе 3 в изданиях, включенных в перечень ВАК Российской Федерации.

Структура диссертации

Диссертация представлена на 143 страницах машинописного текста и состоит из введения, 5 глав, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы. Диссертация иллюстрирована 71 рисунком и 6 таблицами. Список литературы включает 161 источника литературы (50 отечественных и 111 зарубежных).

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Радикулярные кисты как причина возникновения дефектов кости челюстей

Устранение костных дефектов челюстей и восстановление целостности кости является актуальной задачей современной хирургической стоматологии. Под дефектом в медицине понимают отсутствие или потерю тканей, а также той или иной функции, возникающее при самых разнообразных условиях. Дефект может представлять собой врожденное явление или приобретенное состояние, когда на почве дегенеративных, некробиотических, воспалительных процессов, травм возникает убыль ткани.

Дефекты челюсти сопровождаются локальной или диффузной убылью кости. Подобные деформации влияют на жевательную и речевую функции и могут приносить не только эстетический дискомфорт, но и угрозу для здоровья [28]. Устранение дефектов зависит от причин их возникновения и степени тяжести.

По результатам исследований, проведенных за последние несколько лет, наиболее распространенной причиной развития дефектов костей челюсти являются кисты [28]. Под кистой понимают опухолевидное образование, которое представляет собой полость, оболочка которой состоит из наружного соединительнотканного слоя и внутреннего, выстланного преимущественно многослойным плоским эпителием. Полость кисты обычно заполнена жидкими и полужидким содержанием (серозная жидкость, гной, продукты жизнедеятельности эпителиальной выстилки – коллоиды и кристаллоиды (кристаллы холестерина) [7, 8, 17, 30, 43]. Накопление продуктов жизнедеятельности эпителиальной выстилки, воспалительные процессы приводят к увеличению гидростатического давления в полости кисты, и как следствие увеличивается давление на окружающую кость [2, 3, 4,]. Увеличение внутрикистозного давления приводит к частичной деформации костных трабекул, а возникшая вследствие гипоксии от давления кислая среда активизирует работу

остеокластов. Активность остеобластов снижается. Преимущество лизиса костной ткани над ее образованием приводит к увеличению объема костной полости (росту кисты) и деформации челюсти [23, 130].

Кисту, в основе развития которой лежит воспалительный процесс в периапикальной ткани, называют радикулярной. Радикулярные кисты являются наиболее часто встречающимися кистами челюстей. По данным литературы 52–68% от всех кистозных новообразований челюстей составляют радикулярные кисты [38, 87]. Чаще всего радикулярные кисты образуются на зубах фронтальной группы верхней челюсти и премолярах нижней челюсти [38, 111]. Данные кисты формируются по мере увеличения воспалительного очага в кости. Радикулярные кисты развиваются из одонтогенных эпителиальных островков Малассе периодонтальной связки в ответ на хронический воспалительный процесс [5].

Принято выделять несколько причин возникновения кист. Прежде всего, это механическая травма зуба, когда в результате повреждения сосудисто-нервного пучка происходит его некротизация и как следствие, возникает киста. Также частой причиной возникновения кист является неудовлетворительное эндодонтическое лечение. К нему можно отнести недостаточную обработку каналов, перфорацию стенки канала, некачественную пломбировку каналов [38, 53].

Ряд авторов придают важное значение бактериальной инфекции. При несвоевременном лечении пораженного кариесом зуба происходит некроз сосудисто-нервного пучка корневого канала и, как следствие, инфицирование и развитие воспаления периодонтальных тканей [5, 53, 94, 116]. Кисты характеризуются воспалением с образованием мононуклеарного клеточного инфильтрата. Бактериальные эндотоксины, содержащиеся в некротизированной пульпе зуба, обладают разнообразной биологической активностью, оказывают митогенное действие на эпителиальные клетки [118] и стимулируют продукцию цитокинов в окружающих соединительных тканях и воспалительных клетках [88]. Хроническое воспаление стимулирует одонтогенный эпителий и приводит к формированию кистогранулемы-микрокисты, высланной многослойным

плоским эпителием.

По результатам исследования Пиотрович А.В., Латюшина Л.С. (2023), у 50% пациентов радикулярная киста верхней челюсти образовалась после эндодонтического лечения [38]. Основным этиологическим фактором данной патологии, некоторые авторы считают микробную контаминацию неплотно запломбированных корневых каналов [38, 81, 115].

Неудовлетворительное эндодонтическое лечение инфицированных корневых каналов – пусковой механизм для развития радикулярных кист [52, 71, 113, 135, 151]. Своевременная диагностика и лечение пациентов с хроническим периодонтитом предотвращает формирование из гранулем радикулярных кист. Это происходит за счет пролиферации эпителиальных клеток Малассе, которые присутствуют в периодонтальной связке, в ответ на хроническое воспаление [115, 132].

Клинические проявления радикулярных кист зависят от их размера и локализации. На ранних стадиях радикулярные кисты могут протекать бессимптомно и обнаруживаться случайно при рентгенологическом обследовании. По мере роста кисты пациенты могут испытывать тупую боль или чувство давления в области пораженного зуба – чувство «выросшего зуба». Боль может усиливаться при механическом воздействии на пораженный зуб. Увеличение радикулярной кисты в объеме может приводить к поражению соседних зубов [2, 23, 43, 66]. Радикулярные кисты представляют собой серьезную стоматологическую проблему, требующую своевременной диагностики и лечения. Понимание этиологии, патогенеза и клинической картины этих образований позволяет врачам эффективно диагностировать и лечить пациентов, предотвращая возможные осложнения и улучшая качество жизни [27, 31, 45, 46].

Следует отметить, что киста имеет фиброзную соединительнотканную капсулу, в которой могут содержаться воспалительные клетки, такие как лимфоциты, плазматические клетки и макрофаги [134]. В некоторых случаях вокруг радикулярной кисты может образовываться грануляционная ткань с

новообразованными кровеносными сосудами и фибробластами, что достаточно часто наблюдается при активном воспалительном процессе [152]. В центре кисты находится кистозная полость, заполненная жидкостью или полутвердым содержимым [121]. Внутри кисты могут быть обнаружены холестероловые кристаллы. Эти кристаллы являются результатом распада тканей и продуктов воспаления [26].

Механическое напряжение, создаваемое в полости кисты, способствует увеличению синтеза катепсина К одонтокластами и интерлейкина-1 α (ИЛ-1 α) различными типами клеток, включая кератиноциты и клетки периодонтальной связки. ИЛ-1 α стимулирует резорбцию кости, способствуя образованию или активации остеокластов, а также усиливая выработку простагландинов и коллагеназ. Повышенное внутрикистозное давление, скорее всего, запускает рост кисты и служит начальным фактором для резорбции кости клетками остеокластами. После первичного расширения полости кисты внутрикистозное давление снижается по мере её распространения в кости [5].

Гистологическое исследование радикулярной кисты позволяет детально изучить структуру и состав тканей, из которых она состоит, и провести дифференциальную диагностику с другими видами кист, например, фолликулярной кистой, амелобластомой и кератокистой [24, 31, 41]. Образование кератокист и фолликулярных кист происходит по другим механизмам и не связано с инфицированным зубом, поэтому влияние эндотоксинов при этом минимально. Фолликулярные кисты развиваются из фолликулярного эпителия, который обладает более высоким потенциалом для роста, дифференцировки и перерождения по сравнению с эпителием, из которого формируются радикулярные кисты. В некоторых случаях в оболочке фолликулярной кисты могут возникать другие, более опасные поражения, такие как мукоэпидермоидный рак, амелобластома и плоскоклеточный рак [5, 133].

Диагностика объемных полостных образований челюстных костей затруднительна, так как в большинстве случаев радикулярные кисты протекают бессимптомно для пациентов, и выявляются либо случайно при плановом

рентгенологическом обследовании, либо в результате появления деформации челюсти при значительном увеличении размеров [5, 114]. В ходе увеличения размеров радикулярной кисты происходит истончение кортикальной пластинки кости челюсти вплоть до ее полной резорбции [5]. По данным рентгенологических исследований наиболее частая локализация радикулярных кист – область тела нижней челюсти (58%), а также альвеолярный отросток и тело верхней челюсти (54,5%). Полость радикулярной кисты всегда имеет связь с причинным зубом, а также распространяется на корни соседних зубов по мере своего роста.

1.2. Способы лечения полостных новообразований челюстей

Лечение радикулярных кист челюстей требует дифференцированного подхода в зависимости от размера и локализации. Традиционные методы включают марсупиализацию, дренирующую декомпрессию, цистотомию и цистэктомию [161]. Современные усовершенствования направлены на минимизацию недостатков классических техник, улучшение качества жизни пациента и сокращение срока его реабилитации путем применения активных дренажных систем, проведения аугментации челюстного дефекта после полного удаления оболочки кисты, тем самым стимулируя неоостеогенез; применение малоинвазивных технологий и техник для сохранения окружающих тканей, особенно при обширных дефектах [122, 161].

Таким образом, можно сделать вывод, что целью хирургического метода лечения радикулярных кист является полное устранение патологического очага, минимизация вероятности рецидива и травматизации окружающих анатомических структур, восстановление кости, сохранение зуба или объема кости для последующей дентальной имплантации. Применение метода апикальной хирургии зависит напрямую от типа кисты [25]. Важно отметить, что рентгенологически определить тип кисты невозможно.

Однако наряду с хирургическим вмешательством, при периапикальных изменениях тканей широко применяется консервативный метод лечения,

закрывающийся в эндодонтическом лечении. Как и любой способ лечения, консервативный метод имеет ряд ограничений:

1. Сложное анатомическое строение корневого канала, затрудняющее обработку апикальной части корневого канала [48];
2. Перфорация корня при инструментальной обработке и/или выведение пломбировочного материала [126, 141, 147];
3. Отлом эндодонтического инструмента в апикальной части, когда невозможно его достать по стандартному терапевтическому протоколу [149];
4. Наличие протяженной ортопедической конструкции, когда ее снятие сопряжено с повреждением не только пораженного опорного зуба, но и соседних зубов, что может значительно повлиять на объем и стоимость лечения [37, 138];
5. Наличие литой штифтовой вкладки, удаление которой часто приводит к необратимому повреждению зуба и его последующему удалению [92].

Также следует отметить, что при возникновении патологии – радикулярной кисты зуба – необходимо по возможности провести повторное эндодонтическое лечение, а спустя 3 месяца, после проведения контрольного рентген-исследования, в случае сохранения или увеличения очага разряжения кости в периапикальной области показано проведение апикальной микрохирургии [48].

При принятии решения о необходимости проведения апикальной микрохирургии необходимо учитывать и ряд сопутствующих заболеваний, к которым следует отнести риск инфекционного эндокардита, связанный с наличием у пациента установленных искусственных клапанов сердца, цианозный порок сердца и сердечный трансплантат [84, 100, 122], наличие соматических заболеваний, в частности сахарного диабета. Однако данное заболевание считается условным противопоказанием, так как при наличии у пациента курса поддерживающей терапии и уровня глюкозы в крови не ниже 2 г/л, операция апикальной микрохирургии может быть выполнена [83].

ВИЧ-инфицированные пациентам с признаками СПИДа стоматологическая

помощь в объеме апикальной микрохирургии может быть оказана при наличии соответствующей терапии, назначенной врачом-терапевтом и инфекционистом.

Из-за высокого риска возникновения остеонекроза челюстей у пациентов, находящихся на химио- и лучевой терапии, а также принимающих бисфосфонаты применение хирургического метода ограничено [55, 80, 83, 101, 154]. Абсолютным противопоказанием к использованию метода лечения является проведение пациенту лучевой терапии в дозе более 35 Грей [72, 112].

Непосредственно хирургическое вмешательство проводят под местной анестезией. Методика заключается в отслоении полнослойного лоскута, определении костных узур, проведении трепанации костной пластинки и расширении узур для формирования доступа к периапикальному очагу разрежения, удаление патологических тканей. Далее проводят резекцию верхушки корня, определение апикального герметизма и его ликвидацию путем ретроградного пломбирования и создания гемостаза с фиксацией мягкотканого лоскута на место. Обязательным является направление удаленных тканей на гистологическое исследование для исключения неodontогенного происхождения кист.

Однако на этапе после создания гемостаза возникают споры о том, как лучше замещать сформированный дефект. В случае обширных дефектов – более 1 см – следует учесть, что заполнения сформировавшегося дефекта собственной кровью пациента будет недостаточно и может привести к формированию соединительнотканного репарата вместо кости. Репарация не является патологическим процессом, но может потребовать в дальнейшем проведение дополнительных оперативных вмешательств у пациента или даже возникновения рецидива радикулярной кисты. В связи с этим ведутся поиски метода, который позволит добиться полного восполнения дефекта кости после операции цистэктомии.

1.2.1. Хирургический метод лечения. Цистотомия

Цистотомия – это хирургический метод лечения кист челюстей, при котором

не проводится полное удаление кистозной оболочки [5]. В ходе оперативного вмешательства создается сообщение между полостью кисты и полостью рта, в результате проведенной манипуляции внутрикистозное давление снижается, киста уменьшается в объеме, и запускается процесс восстановления костной ткани по периферии радикулярной кисты [5, 58, 76, 107].

Методика цистотомии заключается в удалении части стенки кисты и прилегающей к ней слизистой оболочки для формирования соустья, через которое проводится эвакуация содержимого кисты. Для предотвращения сращения краев раны проводится рыхлая тампонада полости йодоформной турундой, и замена повязки осуществляется каждые 7 дней [86, 107].

В результате данного метода оперативного вмешательства положительная динамика в виде уменьшения объема радикулярной кисты достигается спустя несколько месяцев и требуется второй этап — цистэктомия остаточной небольшой кисты [131].

Показаниями к проведению цистотомии являются радикулярные кисты больших размеров, занимающие большую часть челюсти, где полное удаление может привести к патологическому перелому [131, 143]. Если объем радикулярной кисты более 2 см и ее полость связана с важными анатомическими структурами, такие как нижнечелюстной канал, верхнечелюстная пазуха, носовая полость, то риск их повреждения при цистэктомии высок [5, 77, 139].

1.2.2. Хирургический метод лечения. Декомпрессионное дренирование

Декомпрессионное дренирование – это хирургический метод лечения больших полостных образований, направленный на уменьшение их объема и стимуляцию регенерации кости без полного удаления кистозной оболочки [54]. Цель оперативного вмешательства – создание постоянного сообщения между полостью кисты и полостью рта, что позволяет значительно уменьшить объем кисты за счет снижения внутрикистозного давления. Данный метод схож с методом цистотомии, но отличается способом постоперационного ведения и процессом заживления дефекта [54, 59, 159].

К показаниям относят кисты размером более 2 см в диаметре, когда цистэктомия сопряжена с высоким риском патологического перелома челюсти, повреждения анатомических структур или корней соседних зубов [128].

В ходе оперативного вмешательства формируется доступ к полости кисты через ее переднюю стенку с вестибулярной стороны челюсти. Проводится удаление жидкостного содержимого радикулярной кисты и установка дренажа в кистозную полость [146]. В качестве дренажа используется дренажная трубка, либо индивидуально изготовленный силиконовый obturator [95]. Промывание полости кисты осуществляется как врачом, так и самим пациентом в домашних условиях от нескольких месяцев до года. После значительного уменьшения кисты может быть выполнена окончательная цистэктомия для удаления остатков оболочки, однако часто при успешной декомпрессии полость полностью заполняется костной тканью, и повторное оперативное вмешательство не требуется [85, 146, 159].

1.2.3. Хирургический метод лечения. Цистэктомия

Цистэктомия – один из хирургических методов лечения радикулярных кист, направленный на полное удаление оболочки кисты [5]. Данную операцию выполняют при кистах, оболочку которых можно удалить без опасности повреждения ближайших анатомических образований: сосудисто-нервного пучка соседних зубов, стенок верхнечелюстной пазухи и полости носа, а также если корневая киста – в стадии обострения [45, 51, 89, 109], что приводит к сильным болевым ощущениям у пациента, и есть высокий риск распространения инфекции в окружающие мягкие ткани или верхнечелюстной синус, если причинный зуб на верхней челюсти [23, 43]. Также операция цистэктомия проводится в случае, если эндодонтическое лечение оказалось неэффективным и требуется дополнительное хирургическое вмешательство [5, 43].

Данный вид оперативного вмешательства выполняется под местной анестезией с формированием полнослойного слизисто-надкостничного лоскута в соответствии с локализацией и размерами радикулярной кисты [27]. В

большинстве случаев у пациентов отмечается костная узура в кортикальной пластинке, которая расширяется в диаметре с помощью боров для формирования трепанационного окна достаточных размеров для полного вылушивания оболочки кисты. В случае если кортикальная пластинка сохранена, то создается окно в костной ткани в проекции очага поражения [27, 33], вылушивается оболочка кисты *in toto*, далее рекомендуется отправлять патологический материал на гистопатологическое исследование для подтверждения диагноза. Для лучшей визуализации костной полости рекомендуется ирригация стерильным физиологическим раствором или раствором антисептика, проводится тщательный кюретаж костной полости [6, 24, 33]. Стенки хирургического окна шлифуются борами. Затем слизисто-надкостничный лоскут укладывают на место, фиксируя швами, при этом края лоскута должны лежать над участком кости.

В случаях, когда фиксация лоскута невозможна, то костную полость тампонируют йодоформной турундой [45, 89, 109]. Затем турунду регулярно меняют и производят ирригацию костной полости до тех пор, пока грануляционная ткань полностью не заполнит костный дефект и не произойдет полная эпителизация.

В случаях, когда вылушивание *in toto* не удастся, то оставшиеся эпителиальные фрагменты обрабатывают раствором Карнуа [45]. Раствор Карнуа пенетрирует на 1,54 мм вглубь костной ткани при времени экспозиции в 1 минуту. Состав раствора Карнуа: этиловый спирт 96%/100%-й – 6 частей; ледяная уксусная кислота – 1 часть; хлорид железа – 1 часть.

Цистэктомия считается наиболее эффективной методикой лечения радикулярных кист, что подтверждается отсутствием рецидивов в 96% случаев при полном удалении ее эпителиальной выстилки [22, 77, 124].

В 27% случаев возможно инфицирование кровяного сгустка, которым заполняется полость костного дефекта, что приводит к неудовлетворительному результату лечения [109]. В связи с высоким риском развития данного осложнения пациентам обязательно в индивидуальном порядке подбирается антибактериальная, противовоспалительная и десенсибилизирующая терапия.

Помимо риска инфицирования кровяного сгустка у пациентов с обширными радикулярными кистами, диаметр которых достигает более 2 см, существует вероятность заполнения дефекта челюстной кости соединительной тканью, что сильно затрудняет восстановление приобретенного дефекта зубного ряда протезированием на дентальных имплантатах. В связи с этим в клинической практике рекомендовано проведение направленной костной регенерации после проведения операции цистэктомии с заполнением дефекта остеопластическим материалом [22, 24, 27, 125].

1.3. Способы направленной костной регенерации для устранения дефектов кости челюсти после операции цистэктомии

В настоящее время различают два основных вида заживления: репарацию (замещение дефекта соединительной тканью) и регенерацию (замещение дефекта новообразованной тканью того же типа) [48, 36, 79]. В большинстве случаев в области костного дефекта достаточно формирования кровяного сгустка, что приводит к полной регенерации костной ткани. В случае обширных дефектов костной ткани или сочетанных пародонтальных и периапикальных дефектов регенерация неполная и сопровождается формированием дефекта, заполненного соединительной тканью [64, 153]. В таких случаях метод направленной костной регенерации (далее – НКР) является методом выбора и заключается в изоляции костного дефекта от прорастания соединительной ткани в его полость и в создании условий для активного остеогенеза [70].

Современные методы НКР после цистэктомии сочетают биосовместимые материалы и хирургические техники, которые обеспечивают предсказуемую регенерацию. Выбор протокола лечения индивидуален для каждого пациента и предполагает учет анатомии дефекта и применение материалов с доказанной остеоиндуктивной активностью.

Радикулярная киста, достигшая размеров более 5 см, может привести к разрушению не только вестибулярной стенки, но и небной или язычной, а также вовлекать стенки, граничащие с носовой полостью или верхнечелюстным

синусом [77, 109]. Так формируется обширный костный дефект, анатомию которого трудно восстановить, поэтому требуются методики, подразумевающие забор аутоблоков или установки титановых сеток [12, 13].

При крупных дефектах челюстей производится забор костных блоков в области подбородочного симфиза или с наружной кривой линии нижней челюсти. Аутоблоки фиксируют титановыми винтами, а пространство вокруг заполняют остеопластическим материалом и перекрывают мембраной во избежание миграции гранул материала, но к недостаткам данного метода следует отнести его травматичность для пациента [16].

Использование титановой сетки для восстановления анатомии челюстной кости в зоне дефекта с последующим заполнением остеопластическим материалом позволяет избежать формирования дополнительного операционного поля, что является неизбежным при заборе аутоблоков. Недостатком методики является необходимость удаления сетки через 5–6 месяцев после полной интеграции остеопластического материала перед установкой дентальных имплантатов [16].

Маркиным В.А. с соавт. (2018) предложен способ замещения костных дефектов путем забора биоптата фрагмента слизистой оболочки десны пациента. Фрагмент десны размером 2x2 мм отправляют на культивирование для получения мезенхимальных мультипотентных стромальных клеток (далее – ММСК). Далее полученными ММСК имбибируют остеопластический материал (далее – ОПМ) «Bio-Oss» и полученную массу объемом, соответствующим 80% от объема костного дефекта, вводят в интраоперационный дефект и перекрывают коллагеновой мембраной на 3 мм по периметру. Способ позволяет достичь регенерации кости за счет активации ММСК клетками процесса остеоиндукции [47].

Также известен способ, при котором после цистэктомии и резекции верхушки корня зуба проводят решетчатую остеотомию и заполняют костный дефект лиофилизированным остеопластическим материалом «Лиопласт», который предварительно смешан с костным мозгом из гребня подвздошной кости

[15].

Дубовой Н.Б. с соавторами (2002) предложен метод лечения радикулярных кист и кистогранулем методом заполнения дефекта кости смесью деминерализованного костного трансплантата и материала «Гидроксиапол» в соотношении 1:1. За счет постепенного поглощения морфогенетических белков, стимулирующих репаративный остеогенез и за счет медленной резорбции гидроксиапатита, была доказана эффективность использования смеси указанных материалов по отношению к заполнению постоперационного дефекта новообразованной костью и к значительному уменьшению сроков ее регенерации [21].

Существует метод устранения дефектов кости после удаления радикулярных кист челюстей путем внесения в интраоперационную костную полость пломбу-жгут «Коллост» и смесь остеопластического геля «Коллост» с линкомицином гидрохлоридом в соотношении 2:1, которые прикрывают мембраной «Коллост» и в качестве изоляционной повязки используют пленку «Диплен-дента» с линкомицином. Заявлено, что по результатам лечения данным способом удается достичь активного ангиогенеза и неоостеогенеза в области костного дефекта, но недостатком является сильная воспалительная реакция у пациентов, что может привести к нежелательным осложнениям [66].

Для восстановления трехстеночных дефектов кости после цистэктомии применяется классическая техника направленной костной регенерации. После полного удаления кистозной оболочки проводится заполнение образовавшегося дефекта остеопластическим материалом и его изоляция барьерной мембраной для предотвращения прорастания мягких тканей. Мембрану можно использовать как нерезорбируемую, так и резорбируемую. Последняя наиболее предпочтительна в клинической практике врачей, так как не требуется дополнительное вмешательство для ее извлечения. Такой метод обеспечивает стабильное сохранение восполняемого объема кости и обеспечивает неоостеогенез в течение 6 месяцев [66, 68]. Но исходя из результатов анализа биоматериалов для направленной тканевой, а также костной регенерации, в ходе которого

рассматриваются как нерезорбируемые барьерные мембраны, например e-PTFE, требующие удаления, так и биорезорбируемые – коллагеновые и синтетические, с переменной скоростью деградации, можно сделать вывод, что подбор материалов осуществляется индивидуально пациенту, исходя из его анамнеза и сложности клинического случая [75].

1.4. Osteoplastic materials, used for the correction of defects and areas of atrophy of the jaws

Для достижения стабильного процесса регенерации необходимо взаимодействие основных компонентов костной ткани: остеобластов, которые формируются из мультипотентных клеток-предшественников и в дальнейшем подвергающихся минерализации, взаимодействия различных цитокинов и факторов роста (костные морфогенетические белки, интерлейкины, факторы некроза опухоли) и матрикса на котором будет происходить каскад трансформации костной ткани [50, 104, 105, 106, 108, 137, 161].

Основную роль в обмене веществ костной ткани играют остеобласты и остеокласты. Остеобласты продуцируют костный матрикс, который впоследствии минерализуется и образует твердую костную ткань. В ходе минерализации костного матрикса остеобласты блокируются и становятся остеоцитами с низкой метаболической активностью, что позволяет осуществлять транспорт ионов через отверстия между цитоплазматическими отростками [9]. Данная пассивная диффузия необходима для осуществления трофических и обменных процессов в неминерализованном костном матриксе, а также для уменьшения размеров остеонов, которые представляют собой единую, неразрывную сеть. Также остеобласты осуществляют барьерную функцию. Плоские остеобласты или выстилающие клетки кости, лежащие на поверхности кости, сокращаются после активации медиаторов, стимулирующих резорбтивную активность клеток остеокластов [56, 82].

В норме остеокласты расположены в лакунах Хаушипа в твердых тканях. Своей краевой частью остеокласт прилегает к минерализованной костной ткани.

При сокращении плоских остеобластов на поверхности кости в ацидофильной цитоплазме остеокласта происходит высвобождение протонов, которые усиливают активность кислой фосфатазы и повышают литическую способность остеокласта [119, 79].

Существует теория сопряжения функции остеокластов и остеобластов, основанная на представлении о координации их деятельности. Остеобласты стимулируют дифференцировку и повышают активность остеокластов, а остеокласты усиливают деятельность остеобластов [9].

Физиологическое ремоделирование кости включает в себя 4 фазы. Первая фаза – активации. При этом происходит сокращение плоских остеобластов, разрушение ими эндоостальной мембраны и освобождение участков поверхности кости для прикрепления остеокластов [67, 99]. Во второй фазе резорбции – происходит образование резорбционных лакун Хаушипа с лизисом костного матрикса. Третья фаза реверсии, характеризуются сопряжением остеобластов и остеокластов. Макрофаги на поверхности лакун осуществляют процесс привлечения остеобластов, продуцирующих костный матрикс для заполнения им резорбционных лакун. В четвертой фазе – остеогенеза благодаря высокой секреторной способности остеобластов происходит заполнение лакун органическим матриксом – остеоондукция – и дальнейшая его минерализация [137]. По окончании процесса активного остеогенеза снижается функция остеобластов, они уплощаются и становятся выстилающими клетками, осуществляющими барьерную функцию.

По данным научных исследований доказано, что для ускорения образования костной ткани необходим медиатор воспаления интерлейкин-1 (IL-1) и туморнекротизирующий фактор (TNF- α), а также костные морфогенетические белки.

Костные морфогенетических белки впервые были обнаружены в деминерализованных и лиофилизированных костных матриксах, имплантированных в мышцы кроликов, в результате чего им было дано такое название, однако они также синтезируются во многих тканях организма. К

настоящему времени выделено более 40 белков BMP, включая BMP-2 – BMP 6, BMP-7, BMP-8 и факторы дифференцировки роста с 5 по 7 (GDF). GDF-5 и GDF-6 также известны как морфогенетические белки хрящевой ткани CDMP 1 и CDMP-2 соответственно. Исследования показывают, что С-концевые последовательности представителей семейства BMP во многом схожи по строению. Как и другие члены суперсемейства TGF- β , BMP синтезируются в клетке в виде предшественников, а затем подвергаются протеолизу, в результате чего образуются активные формы белков, состоящие примерно из 130 аминокислот. Большинство BMP, а также другие представители суперсемейства TGF- β имеют общую структуру из семи цистеиновых остатков. Каждый активный BMP представляет собой гомодимер одного и того же полипептида или гетеродимер двух разных полипептидов [137, 148, 150].

Ключевую роль в процессе остеогенеза играют BMP-2, BMP-4, BMP-6, BMP-7 и BMP-9. BMP связываются со специфическими мембранными тирозинкиназными рецепторами (BMPR-IA, BMPR-IB, BMPR-II), что приводит к фосфорилированию внутриклеточных белков Smad-1, Smad-5, Smad-8, которые связываются со Smad-4 [127, 150]. В результате образуется транспортная молекула. Она проникает в ядро клетки и увеличивает экспрессию генов, кодирующих транскрипционные факторы, ответственные за приобретение клеткой остеобластического фенотипа, а именно: кор-связывающий фактор Runx2, ранее известный как PEBR2 α или Cbfa1, тесно связанные друг с другом Dlx 5 и 6, а также Msx-2. В результате их совместного действия повышается пролиферативная активность в остеобластическом направлении, дифференцировка и синтез костного межклеточного матрикса, образуется остеокальцин, костный сиалопроtein, щелочная фосфатаза и коллагены III и I типов [19].

Сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) – семейство биологически активных белков, впервые выделенных J. Folkman и соавторами в 1971 году, которые считаются одним из основных ауто- и паракринных факторов регуляции васкулогенеза, ангиогенеза и лимфогенеза. VEGF секретируются в

виде полипептидов, они имеют высоко консервативную структуру цистеинового узла, связывающегося с рецептором, сходной с таковой у тромбоцитарных факторов роста. К семейству VEGF относят VEGF-A, -B, -C, -D, -E и -F, а также плацентарный фактор роста (PlGF). Будучи одним из важнейших факторов роста, регулирующих развитие сосудов и постнатальный ангиогенез, VEGF-A также играет важную роль в восстановлении костей, поскольку ангиогенез и остеогенез тесно взаимосвязаны. В фазе воспаления VEGF-A концентрируется в гематоме и способствует привлечению макрофагов/моноцитов. При эндохондральном костеобразовании во время восстановления кости VEGF-A способствует привлечению остеохондрогениторных клеток, индуцирует образование хряща, а также стимулирует резорбцию хряща и его замещение костью. Однако ингибирование VEGF-A нарушает процесс восстановления костной ткани, так как нарушает превращение хрящевого каллуса в костный покров. Оссификация в соединительнотканной мембране также зависит от сигнала VEGF-A. Блокирование рецепторов VEGF, VEGFR1 и VEGFR2, нейтрализующими антителами уменьшает образование кровеносных сосудов и регенерацию кости [93], в то время как введение экзогенного VEGF-A увеличивает образование минерализованной кости в костных дефектах. Кроме того, VEGF-A регулирует созревание и дифференцировку остеокластов и, таким образом, необходим для поддержания нормального костного ремоделирования [93].

Остеопластические материалы играют важную роль в современной стоматологии, особенно при проведении процедур имплантации и регенерации костной ткани. Эти материалы используются для замещения утраченной костной ткани, стимулирования ее роста и обеспечения необходимой поддержки для установки дентальных имплантатов.

Остеопластические материалы могут быть натурального или синтетического происхождения. Натуральные материалы включают аутогенные (собственные ткани пациента), аллогенные (донорские ткани другого человека) и ксеногенные (животного происхождения) костные материалы. Синтетические материалы, такие как гидроксиапатит, трикальцийфосфат и биоактивное стекло,

также широко применяются благодаря их биосовместимости и способности интегрироваться с окружающей костной тканью [78, 66].

Важным преимуществом использования остеопластических материалов является их способность стимулировать остеокондукцию, остеоиндукцию и остеогенез. Остеокондукция обеспечивает матрицу для роста новой костной ткани, остеоиндукция стимулирует дифференцировку стволовых клеток в остеобласты, а остеогенез непосредственно участвует в образовании новой костной ткани [62]. Современные исследования показывают, что комбинация различных типов остеопластических материалов может значительно улучшить результаты лечения, обеспечивая более быстрое и качественное восстановление костной структуры [78, 117].

При дефиците в костной ткани количества клеток, продуцирующих костный матрикс, недостаточно для адекватной костной регенерации [29]. При утрате наружного кортикального слоя и надкостничного барьера прекращается процесс новообразования кости, вследствие чего активизируются остеокласты, запускается процесс костной резорбции, и анатомическая структура кости изменяется [91, 117]. На снижение регенераторной способности также влияет недостаточная трофика кости из-за распада кровяного сгустка.

Для замещения дефектов кости в случае сильной атрофии применяются материалы, которые обладают выраженными остеокондуктивными, остеоиндуктивными и остеогенными свойствами. Так ксеногенные материалы, например Geistlich Bio-Oss, обладают высокими остеокондуктивными свойствами [74, 78, 116, 117]. За счет высокой активности белков-интегринов, обеспечивающих адгезию клеток к костному матриксу, происходит резорбция материала и интенсивное новообразование кости.

Аллогенные материалы обладают выраженными остеокондуктивными свойствами, но зависят от ряда факторов, влияющих на новообразование кости. Отмечается риск инфицирования и отторжения материала из-за возраста и состояния иммунной системы донора и из-за несоблюдения протоколов стерилизации [29].

Аллопластические материалы в отличие от аллогенных исключают риск инфицирования, но обладают низкой osteoconductive функцией, что проявляется частым инкапсулированием частиц материала.

Синтетические костные заменители представлены в виде фосфатов кальция, гидроксиапатитов, биостекла и различных гидрогелей [63, 65]. В основном керамические материалы изготавливаются из гидроксиапатитов, различных фосфатов и сульфатов кальция или их комбинаций. Синтетические заменители должны обладать такими качествами как: биосовместимость, химическая стабильность, биомеханическая и физическая совместимость [65].

Главные преимущества синтетических заменителей схожи с преимуществами аллогенных материалов, но в отличие от последних не несут в себе риски инфекционных заболеваний. К недостаткам синтетических материалов относят низкую скорость биодеградации и недостаточную прочность в прочих сферах, кроме стоматологической.

Osteoconductive и osteoinductive свойств недостаточно для стимуляции процесса регенерации кости, необходимо также активировать процесс остеогенеза, для которого нужны собственные костные клетки организма [118, 161]. Отсюда следует, что во время хирургического вмешательства необходимо сохранять надкостницу и жизнеспособность клеток, обеспечить адекватную трофику тканей, что зависит от проведения манипуляции максимально атравматично. По данным литературы, необходимыми для восстановления костного дефекта свойствами, osteoconductive, osteogenic и osteoinductive свойствами обладает только аутокость [29, 74, 118]. При механической стабильности аутогенных материалов и нормальном кровоснабжении осуществляется стимуляция дифференцировки мезенхимальных клеток в клетки костной ткани, синтез костного матрикса, активация адгезии белков-интегринов к костному матриксу и дальнейшее замещение дефекта костной тканью. Однако выбор остеопластического материала должен быть основан на клинической ситуации и ожидаемых результатах лечения. Важно учитывать такие факторы, как биосовместимость, резорбируемость, механическая

прочность и способность к интеграции с окружающими тканями. Современные технологии и методы исследований продолжают развиваться, предлагая новые решения и улучшенные материалы для костной пластики в стоматологии [96, 61].

1.4.1. Исследования ксеногенных костнопластических материалов

Выбор остеопластического материала обусловлен многими факторами и соответствующей клинической ситуацией [118, 129]. Он должен обладать следующими свойствами: отсутствием иммунных и аллергических реакций, стабильностью формирования костной ткани в зоне его применения, доступностью и удобством при его использовании [129]. Все эти заявляемые свойства должны подкрепляться достаточным количеством лабораторных испытаний и достоверными клиническими исследованиями.

По данным литературы, наиболее изученным как в лабораторных условиях, так и в клинической практике является биоматериал «Bio-Oss» (Geistlich, Швейцария). Благодаря разработкам Dr. Peter Geistlich в 1986 году впервые был получен костнопластический материал, который, несмотря на удаленные из него органические компоненты, сохранил свою микроструктуру в качестве матрицы для формирования на нем новой костной ткани. С 1990-х годов и по сегодняшний день он широко используется в стоматологической практике, и претерпел множество модификаций. Систематический обзор и мета-анализ рандомизированных контролируемых испытаний (2000-2023 гг.) демонстрирует, что заполнение лунки ксеногенными материалами, в том числе «Bio-Oss» после удаления зуба является наиболее эффективным методом для сохранения объема альвеолярного гребня [142]. Применение ксенотрансплантатов приводит к статистически значимому уменьшению резорбции кости, что подтверждается лучшим сохранением как горизонтальной ширины (SMD = 1.15), так и особенно вертикальной высоты в области щечной стенки (SMD = -1.89) [142]. По результатам данного анализа был сформулирован вывод, что ксеногенные материалы представляют собой эффективную альтернативу для предотвращения атрофии альвеолярного гребня, что сокращает срок протезирования пациента на

дентальных имплантатах [142]. Материал применяется в реконструктивной хирургической стоматологии при устранении дефектов челюстей различной степени выраженности. Тем не менее, несмотря на все его доказанные преимущества, он имеет недостатки. Как и все ксеногенные материалы он обладает только остеокондуктивными свойствами и по данным ряда последних исследований не полностью замещается новообразованной костной тканью [103, 129].

Экспериментальное исследование на модели кроликов продемонстрировало ключевое преимущество остеопластического материала «Bio-Oss» в поддержании объема трансплантата в зоне дефекта. При сравнении различных пропорций «Bio-Oss» и аутогенной кости через 12 недель после установки в титановые цилиндры на своде черепа кроликов, группы с чистым «Bio-Oss» (100%) и смесью 75% «Bio-Oss» + 25% аутогенной кости показали достоверно лучшую объемную стабильность (резорбция <10%) по сравнению с группой, использовавшей только аутогенную кость (100%, резорбция >30%) [103]. Важно отметить, что количество новообразованной костной ткани не имело статистически значимых различий между всеми группами ($p=0.25$), включая промежуточную смесь 50/50. Таким образом, применение «Bio-Oss», как в чистом виде, так и в комбинации с 25% аутогенной кости, обеспечивает существенно более высокую сохранность объема трансплантата без ущерба для объема костеобразования в данной модели [103].

При восстановлении костных дефектов челюстно-лицевой области (далее – ЧЛО), включая постоперационные дефекты после цистэктомии, ключевую роль играют биоматериалы с доказанной остеокондуктивной эффективностью. Исследования демонстрируют превосходство ксеногенных материалов над аутогенной костью, являющейся «золотым стандартом»: клинко-рентгенологический анализ исследования Śmieszek-Wliczewska et al. (2010) выявил, что заполнение альвеолярных дефектов материалами «Bio-Gen» и «Bio-Oss» через 6 месяцев обеспечивает статистически значимое увеличение оптической плотности кости: +27.83 условных единиц (далее – УЕ) для «Bio-Gen» и +17.71 для «Bio-Oss», снижая риски патологического перелома челюстной кости

[145]. При этом «Bio-Gen» показал более высокую скорость регенерации, благодаря большей пористости, что стимулирует активный ангиогенез [145].

В ходе ретроспективного исследования Wang et al. (2024), сравнившего эффективность двух методов регенерации внутрикостных пародонтальных дефектов, можно заключить следующее: оба метода – использование гранул «Bio-Oss» в комбинации с барьерной мембраной и применение только материала «Bio-Oss Collagen» — продемонстрировали статистически значимое улучшение клинических (глубина зондирования, кровоточивость) и рентгенологических (глубина пародонтального дефекта) параметров через 6 месяцев после операции ($p < 0.001$) [157]. Однако лечение с применением «Bio-Oss Collagen» показало достоверно большее снижение глубины зондирования ($APD = 4.20 \pm 1.11$ мм) по сравнению с комбинацией «Bio-Oss» + резорбируемая мембрана ($APD = 3.78 \pm 1.23$ мм; $p = 0.042$). Таким образом, «Bio-Oss Collagen» может рассматриваться как эффективная альтернатива традиционной комбинации остеопластического материала с резорбируемой мембраной [157].

Целью исследования Pereira R.S. et al. (2022) было сравнить эффективность двух ксенотрансплантатов «Cerabone» и «Bio-Oss» для увеличения объема кости атрофированного альвеолярного отростка верхней челюсти для проведения операции дентальной имплантации с помощью дальнейшей гистоморфометрии и КЛКТ [129]. 22 пациентам была проведена операция синус-лифтинг, через 6 месяцев была проведена дентальная имплантация, в ходе которой было интраоперационное взятие гистологического материала в зоне трансплантации остеопластических материалов. По данным гистоморфологического анализа измерения процентного содержания новой костной ткани статистически значимое преимущество было у материала «Cerabone» (25.94%), в то время как у «Bio-Oss» – 17.29%. Это преимущество «Cerabone» может быть связано с его кристаллической структурой и пористостью, полученными в процессе высокотемпературного спекания ($> 1200^\circ\text{C}$). По данным КЛКТ через 6 месяцев «Cerabone» также показал высокую долю костного объема по сравнению с «Bio-Oss». По полученным данным авторами был сделан вывод, что ксеногенный

материал «Cerabone» наиболее эффективен для проведения операции синус-лифтинг для прогнозируемого увеличения нужного объема костной ткани [129].

Современные стратегии направленной костной регенерации эволюционируют от традиционных трансплантатов к биоактивным [123]. Исследования демонстрируют, что синтетические и улучшенные ксеногенные материалы могут быть эффективной альтернативой, особенно при интеграции биоактивных компонентов: факторов роста (BMP-2, VEGF), стволовых клеток и наночастиц для контролируемой доставки и усиления остеогенеза [123, 129]. Ключевым прорывом стали передовые технологии производства, особенно 3D-печать и 3D-биопечать, позволяющие создавать точные, анатомически адаптированные каркасы с заданной пористостью и даже включать живые клетки, что делает регенерацию костной ткани в зоне челюстных дефектов контролируемой и предсказуемой [123].

1.4.2. Исследования синтетических костнопластических материалов

К синтетическим материалам относится наноразмерный гидроксиапатит (далее – ГАП). В костной ткани ГАП встречается в форме наноразмерных кристаллов, поэтому следующим шагом в развитии материалов на основе фосфатных кальциевых соединений и ГАП стало создание нанокристаллов. Нанокристаллы фосфатных кальциевых соединений обладают двумя ключевыми для физиологии костной ткани характеристиками: они находятся в динамическом равновесии с различными видами кальций-фосфатной керамики, такими как трикальцийфосфат (Vitlokit, Ceramit), биостекло (PerioGlass, BioGran), гидроксиапатит и его композиции с коллагеном, а также с сульфатированными гликозаминогликанами — кератаном и хондроитин-сульфатом (Биоимплантат), а также с сульфатом (Haspet) и фосфатом кальция [1, 16, 35, 57].

Синтетические препараты различаются по уровню диссоциации и резорбции, что в значительной степени связано с объемом образуемой межклеточной жидкости и активностью остеокластов. К резорбируемым материалам, обладающим высокой степенью диссоциации, а значит, и высокой

метаболической активностью, можно отнести трикальцийфосфат и сульфат кальция. В свою очередь, к материалам с низкой степенью диссоциации и резорбции относятся некоторые виды синтетического гранулированного гидроксиапатита и октакальцийфосфат [1].

Октакальцийфосфат (далее – ОКФ) является одним из материалов, используемых в хирургической стоматологии, особенно в области регенеративной медицины, а именно для восстановления кости и лечения заболеваний пародонта [102, 110]. Исследования показывают, что ОКФ может способствовать остеогенезу и улучшать процесс заживления. ОКФ представляет собой минерал, который обладает хорошими биосовместимыми свойствами и способствует остеогенезу. Исследования показывают, что ОКФ может ускорять процесс заживления после установки дентальных имплантатов. Материал также применяется для восстановления пародонтальных дефектов и имеет высокую степень биосовместимости, что позволяет ему эффективно взаимодействовать с живыми тканями [110].

Проводилось исследование, целью которого было оценить эффективность нового остеопластического материала на основе недеминерализованного коллагена, насыщенным фактором роста эндотелия сосудов, при замещении костных дефектов в эксперименте *in vivo* на подвздошной кости 16 кроликов породы шиншилла. По результатам исследования было установлено, что исследуемый материал на основе коллагена без удаления минералов, потенцирует неоosteогенез и эффективно индуцирует костную регенерацию [34].

По результатам исследований, проводимых авторами, Гурин А.Н., Комлев В.С., на дефектах бедренной кости крыс, выявлено, что использование остеопластического материала на основе октакальций фосфата (Октафор) и β -трикальций фосфата (Трикафор) обеспечивают регенерацию костных дефектов после цистэктомии при лечении пациентов с периапикальными деструктивными процессами челюстных костей [18].

На базе кафедры хирургической стоматологии Института стоматологии

ВГМУ им. Н.Н. Бурденко проведено сравнительное исследование свойств и состава следующих остеопластических материалов: ксеногенный материал Биопласт-дент (ВладМива, Россия), синтетический материал «Клипдент»-ГЛ (ВладМива, Россия), синтетический материал Easy-graft Classic (Sunstar Guidor, Швейцария). По результатам исследования авторами сделан вывод, что наиболее предпочтительно использовать синтетические материалы. Единственным существенным недостатком материалов является отсутствие остеоиндуктивности и неконтролируемые сроки резорбции гранул материала, что не всегда может сопровождаться неоостеогенезом [18, 32].

Биоактивные остеопластические материалы на основе гидроксиапатита или синтетических полимеров с остеоиндуктивными факторами (BMP-2, FGF-2) или мезенхимальными стволовыми клетками, стимулируют остеогенез и ангиогенез, но обладают непредсказуемой скоростью биodeградации. В связи, с чем необходимо проведение разработки материала, сокращающего сроки реабилитации и улучшающим качество жизни пациентов, но и позволяющим прогнозировать долгосрочный удовлетворительный результат [150].

«Гистографт» (далее – «Нуклеостим-VEGF») – это один из костнопластических материалов, используемых в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии для регенерации кости. Он представляет собой синтетический материал, который может использоваться в качестве костного графта при различных операциях, таких как установка дентальных имплантатов или восстановление кости после удаления зубов [40].

Данный материал представляет собой комплекс «носитель – нуклеиновая кислота», компоненты которого объединены за счет использования гелевых полимеров на этапе синтеза матрикса. Эффективность материала определяется наличием как остеоиндуктивных, так и остеокондуктивных свойств [73]. Остеоиндуктивные свойства разрабатываемого материала связаны с моментальным высвобождением нуклеиновых кислот в зону имплантации материала и специфическим действием молекулы белковой природы, направленной на активный синтез терапевтического белка (кольцевая ДНК или

РНК) [73, 92]. Такой механизм позволяет клетке сохранять свое нормальное состояние и реакцию на клеточные сигналы и полностью прекратить синтез белка, что дает ген-активированным материалам преимущество перед материалами с факторами роста [49, 65, 115].

Эти свойства делают материал перспективным для применения в хирургической стоматологии, в частности для заполнения дефектов, образовавшихся в результате последствий различных патологий, в первую очередь радикулярных кист, являющихся распространенной одонтогенной патологией, ведущей к значительным костным дефектам. Лечение радикулярных кист требует дифференцированного подхода. Выбор метода (цистотомия, декомпрессия, цистэктомия) зависит от размера кисты, её локализации и близости к анатомическим структурам. Наиболее эффективным методом, обеспечивающим минимальный риск рецидива, является цистэктомия с полным удалением оболочки кисты.

Обширные костные дефекты, остающиеся после удаления кист, особенно размером более 1,0-2,0 см, не всегда заполняются костной тканью самостоятельно и часто требуют применения методов НКР. Ключевую роль в успешной регенерации играет выбор остеопластического материала, который должен обладать остеокондуктивными и остеоиндуктивными свойствами. На сегодняшний день «золотым стандартом» является аутогенная кость, однако широко применяются и альтернативные материалы. Перспективным направлением является разработка и применение биоактивных материалов, включающих факторы роста (BMP, VEGF), мезенхимальные стромальные клеткии ген-активированные конструкции. Эти технологии направлены на контролируемую стимуляцию ангиогенеза и остеогенеза, что позволяет сделать процесс регенерации более предсказуемым и эффективным.

Таким образом, современная тактика лечения пациентов с радикулярными кистами челюстей должна быть комплексной и включать не только радикальное удаление патологического очага, но и обязательное планирование восстановления образовавшегося костного дефекта с использованием современных

остеопластических материалов и методик направленной регенерации для достижения оптимального и функционального результата.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе представлены результаты обследования и лечения 100 пациентов обоего пола в возрасте от 20 до 45 лет, проходивших лечение в отделении хирургической стоматологии ФГБУ НМИЦ «ЦНИИСиЧЛХ» Минздрава РФ с 2022 по 2025 год, которым был установлен диагноз по МКБ10 – K04.8 или «корневая киста». Также в работе представлены результаты исследований *in vivo* на крысах линии Wistar и *in vitro* на мультипотентных мезенхимальных стромальных клетках.

2.1. Материалы и методы

2.1.1. Ферменты и реактивы

В работе использовались коммерческие препараты LIVE/DEAD® Viability/Cytotoxicity Assay Kit (Thermo Fisher, США), наборы для проведения иммуноферментного анализа (ООО «Цитокин», Россия), реактивы Histopaque-1077, Krebs Ringer Bicarbonate Buffer, раствор Форбола-12-миристата-13-ацетата и соли (Sigma-Aldrich, Германия), факторы роста M-CSF, GM-CSF, ЛПС и IFN- γ (Sci-store, Россия), RPMI-1640 жидкая без глутамин, физиологический раствор, фикоλλα раствор (ООО НПП «ПанЭко», Россия), пенициллин-стрептомицин (Servicebio, КНР), «Bio-Oss» (Geistlich PharmaAG, Швейцария), «Cerabone» (Botissbiomaterials GmbH, Германия), «Нуклеостим-VEGF» (ООО «Гистографт», Россия).

2.1.2. Лабораторное оборудование

При выполнении работы было использовано следующее оборудование:

- Автоматические пипетки (Gilson, США);
- Автоматические пипетки (Thermo Scientific, США);
- Спектрофлуориметр VictorNivo (Perkinelmer, США);
- Флуоресцентный микроскоп EVOS M5000 (Thermofisher Scientific, США);
- Люминометр Lum1200 (DISoft, Россия);

- рН-метр HANNA HI 2211-02 (HANNA Instruments, Германия);
- Магнитная мешалка MS-3000 (BioSan, Латвия);
- Мини-центрифуга-вortex Комбиспин (BioSan, Латвия);
- Микроцентрифуга Centrifuge 5427 R (Eppendorf, Германия);
- Термошейкер для планшетов (BioSan, Латвия);
- Термо-шейкер для пробирок TS-100 (Biosan, Латвия);
- Спектрофотометр Multiskan SkyHigh Microplate Reader (Thermo Scientific, США).

2.1.3. Материалы, применяемые для экспериментального исследования *in vitro*, *in vivo*, а также оперативного вмешательства в клинике

- Geistlich Bio-Oss (Geistlich Pharma AG, Швейцария) – ксеногенный костнозамещающий материал, состоящий из минеральных компонентов бычьей кости. №РД – ФСЗ 2009/04748, 10.11.2009 (Рисунок 1);
- «Cerabone» (Botiss biomaterials GmbH, Германия) – ксеногенный материал из 100% минерального компонента трубчатой бычьей кости. №РУ – ФС№ 2011/09299, 16.02.2018 (Рисунок 2);
- «Нуклеостим-VEGF» (ООО «Гистографт», Россия, Москва) – остеопластический материал на основе октакальциевого фосфата и биологически активных нуклеиновых кислот для регенерации костной ткани «Нуклеостим-VEGF». №РД – 10908/11987, 08.04.2016 (Рисунок 3);
- «Jason» (Botiss biomaterials GmbH, Германия) – натуральная двухслойная коллагеновая мембрана из свиного перикарда, разработанная специально для применения в стоматологии. №РУ – ФСЗ 2011/09299, 25.03.2022 (Рисунок 4).



Рисунок 1 – ксеногенный метариал Geistlich Bio-Oss (Geistlich Pharma AG, Швейцария)



Рисунок 2 – ксеногенный материал «Cerabone» (Botiss biomaterials GmbH, Германия)



Рисунок 3 – ген-активированный материал «Нуклеостим-VEGF» (ООО «Гистографт», Россия, Москва)



Рисунок 4 – резорбируемая коллагеновая мембрана «Jason» (Botiss biomaterials GmbH, Германия)

2.2. Лабораторные методы исследования

Для определения возможности использования у пациентов с дефектами кости челюстей после операции цистэктомии для аугментации ген-активированным остеопластическим материалом «Нуклеостим-VEGF» был проведен сравнительный анализ данного материала с ксеногенными материалами «Bio-Oss» и «Cerabone», которые широко применяются в клинической практике врачей. Эксперимент *in vitro* был направлен на сравнение реакции клеток врожденного иммунитета и пролиферативной активности мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток к гранулам материалов, а также было проведено исследование, направленное на сравнение биосовместимости и цитотоксичности материалов.

В эксперименте *in vivo* был изучен регенераторный потенциал материалов «Нуклеостим-VEGF», «Bio-Oss» и «Cerabone» на теменных костях крыс линии Wistar с проведением последующего гистоморфологического и иммуногистохимического исследований.

2.3. Анализ биосовместимости и цитотоксичности остеопластических материалов, эксперимент *in vitro*

2.3.1. Анализ жизнеспособности и фенотипа клеток на поверхности матриц

Стерильные образцы остеопластических материалов засеивали клетками в

количестве 100 000 клеток на 0,5 см² материала. Образцы культивировали в течение 3 и 7 дней в стандартных условиях (37°C, 5% CO₂) и затем проводили анализ жизнеспособности с помощью Live/Dead assay (0.5 мг/мл, Calcein-AM, Sigma-Aldrich, Германия, а также 1.5 мк MPropidium Iodide (далее–PI), Thermo Fisher Scientific, США). Живые клетки сажали на 24-луночный планшет по 1.5 млн клеток на лунку и окрашивали зеленым красителем Calcein-AM (Sigma-Aldrich, США), мертвые – красным красителем PI (ThermoFisher, США), а для окрашивания ядер использовали синий краситель Hoechst 33258 (ThermoFisher, США). После окраски (20 мин, 37°C, 5% CO₂) образцы трижды промывали средой DMEM/F12, а затем визуализировали с помощью флуоресцентной визуализирующей системы EvosM5000 (Thermo Scientific, USA) с использованием возбуждающих длин волн 405 нм (Hoechst 33258), 488 нм (CalceinAM) и 594 нм (PI).

2.3.2. Количественная характеристика клеточной гибели

Клеточную гибель оценивали количественно с помощью двух независимых методов – измеряли количество жизнеспособных клеток методом на основе Аламарового синего и количество мертвых клеток с помощью пропидий йода, который входит в состав Live/Dead теста.

Аламаровый синий (резазурин) добавляли в лунки планшетов в концентрации 10 мкг/мл и инкубировали клетки при температуре 37⁰С в течение 2 часов. Измерения флуоресценции проводили на спектрофлуориметре Victor Nivo при длине волны возбуждения 580/20 нм и эмиссии 625/20 нм. В результате экспериментов получены зависимости относительного количества живых клеток, которые способны восстанавливать Аламаровый синий до флуоресцирующего резорурфина.

Для оценки жизнеспособности клеток использовали LIVE/DEAD® Viability/Cytotoxicity Assay Kit согласно инструкции производителя (Thermo Fisher). LIVE/DEAD тест содержит 2 красителя – Calcein-AM, который приобретает зеленый цвет в живых клетках и флуоресцирующий в красной

области PI, который проникает в мертвые клетки. Окрашивание проводили в течение 30 мин при температуре 37°C и 5% CO₂. Проникший в мертвые клетки PI и количество флуоресцирующего в живых клетках CalceinAM считали с помощью флуоресцентной микроскопии. Для расчета клетки прижизненно анализировали с применением флуоресцентного микроскопа EVOS M5000 с использованием для возбуждения лазеров с длинами волн 488 и 594 нм. Расчет относительного количества живых и мертвых клеток проводили с использованием программного обеспечения Fiji.

2.4. Влияние остеопластических материалов на про-воспалительную активность нейтрофилов и макрофагов, эксперимент *in vitro*

2.4.1. Хемилюминесцентный анализ

Остеопластические материалы «Bio-Oss», «Cerabone» и «Нуклеостим-VEGF» перед экспериментом с кровью взвешивали с соблюдением условий стерильности на аналитических весах с точностью до 0.1 грамма. К образцам материалов добавлялись аликвоты крови в соотношении 1:100. В контрольной пробе к крови добавляли 20 мкл воды. После чего образцы крови инкубировались при 37°C, в условиях периодического аккуратного ресуспендирования каждые 15 минут. Измерение хемилюминесценции (далее – ХЛ) осуществлялось спустя 5, 40 и 70 минут инкубации. При измерении ХЛ в кюветы хемилюминометра, содержащие 485 µl раствора Кребса-Рингера с 200 µM Люминола, добавляли 20 µl крови, инкубированной с ВВ, или 20 µl крови, инкубированной без добавок, в качестве контроля. Измерение ХЛ проводилось в 3 повторах и осуществлялось на приборе Lum-1200 (Россия). После 5 минут измерения к исследуемым образцам добавлялся активатор нейтрофилов форбол 12-миристан 13-ацетат (далее – ФМА) в концентрации 100 ng/ml. Измерения проводили при 37C до достижения максимума ХЛ во всех пробах.

2.4.2. Культивирования макрофагов, полученных из мононуклеарных клеток периферической крови

Периферическую кровь смешивали 1:1 с PBS. Полученную смесь объемом 30 мл медленно наслаивали на фиколл 10 мл гистопак-1077. Затем центрифугировали при $400\times g$ в течение 40 минут. После центрифугирования аспирировали клетки из интерфазы в 10 мл PBS, после чего центрифугировали при $300\times g$ в течение 15 минут. Затем сливали супернатант, клетки ресуспендировали и считали, повторяли центрифугирование при тех же условиях. Для иммуноферментного анализа (далее – ИФА) клетки сажали на 48-луночный планшет по 0.75–0.8 млн клеток на лунку. Через два часа культивирования промывали клетки PBS и добавляли среду, содержащую ростовые факторы GM-CSF для дифференцировки моноцитов в макрофаги.

Замена среды производилась через три дня с добавлением ростовых факторов. На 6-й день инкубации производилась замена среды с фактором роста без добавок или с добавлением факторов поляризации макрофагов в провоспалительный M1 фенотип: ЛПС (10 ng/ml), IFN- γ (50–75 ng/ml).

2.4.3. Обработка материала и выделение клеток

Для получения первичных культур мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (далее – ММСК) человека, полученных из биоптатов альвеолярной слизистой оболочки рта в ретромолярной области во время удаления третьих моляров по ортодонтическим показаниям. После подписания здоровыми донорами добровольного информированного согласия в хирургическом стоматологическом кабинете с соблюдением правил асептики под местным обезболиванием раствором Sol. Ultracaini hydrochloridi 4% + Sol. Adrenalinii 1:200'000 (1,7 мл, 40 мг/мл) получали биоптаты и помещали их в пробирки объемом 15 мл в транспортной среде DMEM/F12 с 0,3 мг/мл глутамина (БиолоТ, Россия) и гентамицином (40 мг/мл). В лаборатории биоптаты трижды промывали 30 мл раствора Хенкса с антибиотиками (гентамицин и

пенициллин/стрептомицин) и антимикотиком Дифлюканом, переносили в чашку Петри диаметром 35 мм и механически измельчали глазными ножницами. Эксплантаты измельченной ткани переносили на новые чашки Петри диаметром 35 мм, покрывали минимальным количеством ростовой среды для адгезии, через сутки неприкрепившиеся фрагменты ткани переносили на новые чашки, а к прикрепившимся добавляли по 1,5 мл среды и культивировали до третьего пассажа.

2.4.4. Культивирование клеток

Клетки культивировали на адгезивных чашках Петри в стандартных условиях при 37°C и 5% CO₂ в ростовой среде DMEM/F12 с глутамином (БиолоТ, Россия), с добавлением эмбриональной телячьей сыворотки FBS 10% (Thermo Fisher, США), антибиотика-антимикотика 1% (Thermo Fisher, США), инсулин-трансферрин-селенита (ИТС) 1% (БиолоТ, Россия), гепарина, фактора роста фибробластов 0,1% (ПанЭко, Россия). Смену среды и визуальный контроль состояния культур при помощи инвертированного микроскопа с фазовым контрастом AxioVertA1 (Carl Zeiss, Германия) проводили раз в 2-3 суток. При достижении 70-80% конfluenceности, культуры пассировали. Для этого чашки промывали в трех сменах раствора версена (БиоЛот, Санкт-Петербург), и обрабатывали 0,25%-ным раствором трипсина (3 мин, 37°C), переносили полученную суспензию на новые чашки Петри с двухкратным увеличением посевной площади и заливали полной ростовой средой. На следующие сутки после пассирования в чашках меняли полную ростовую среду.

2.4.5. Добавка биоматериалов к макрофагам

«Bio-Oss», «Cerabone» и «Нуклеостим-VEGF» перед добавкой к клеткам взвешивали с соблюдением условий стерильности на аналитических весах с точностью до 0.1 грамма. Добавка производили после смены среды на 6 день культивирования, в случае M-1 макрофагов одновременно добавляли индукторы поляризации. Перед добавкой навеску 6-8 мг материала замачивали в

изотоническом растворе NaCl. Каждую пробу готовили в двух повторностях (лунках).

2.4.6. Иммуноферментный анализ

ИФА осуществлялся на тест системе для характеристики M-1 макрофагов – «ИФА-TNF-alfa» («ООО Цитокин») согласно инструкции производителя. В приведенных выше наборах использовался «сэндвич» – вариант твердофазного ИФА. Для построения калибровочной прямой использовались 7 калибровочных проб, которые вместе с исследуемыми пробами объемом по 100 мкл добавляли к 100 мкл «Буфера А» и инкубировали при 37°C в течение 2 часов со встряхиванием на термошейкере PST-60HL-4. Затем после каждого этапа лунки планшета промывали раствором промывочного буфера 3 раза. После этого добавляли 100 мкл раствора антител специфичных для конкретного набора и инкубировали при 37°C в течение 1 часа со встряхиванием. На следующем этапе после отмывки планшета добавляли конъюгат Е, содержащий пероксидазу, и инкубировали при 37°C в течение 30 мин со встряхиванием. После очередного этапа отмывки был добавлен раствор субстратной смеси в объеме 100 мкл, состоящий из заранее приготовленного раствора тетраметилбензидина и «Буфера С», стрипы инкубировали в течение 15-20 минут в зависимости от степени развития окраски. На последнем этапе добавляли в каждую лунку 50 мкл раствора «Стоп-реагента» для остановки ферментативной реакции и инкубировали плашку на шейкере 5-10 мин. Измерение оптической плотности осуществляли при 450 нм на приборе (Multiskan™ FC Microplate Photometer).

2.4.7. Статистический анализ результатов эксперимента *in vitro*

Количество экспериментов для нейтрофилов для каждого материала было не менее семи, для макрофагов не менее трех. Количество технических повторов в каждом эксперименте составляло 3 для нейтрофилов и 2-3 для макрофагов. Статистический анализ выполнен с использованием парного t-теста Стьюдента,

парного теста Уилкоксона, теста Краскела-Уоллиса и Манна-Уитни. Обработку данных осуществляли с помощью программы GraphPadPrism 9.3.0.

2.5. Экспериментальное исследование *in vivo*

В исследовании использовались 27 особей крыс линии Wistar мужского пола массой 300-350 г с соблюдением международных правил гуманного обращения с лабораторными животными.

Были сформированы 3 группы: 1 группа – материал «Нуклеостим-VEGF» (ООО «Гистографт», Россия), 2 группа – ксеногенным материалом «Bio-Oss» (Geistlich, Швейцария), 3 группа – ксеногенный материал «Cerabone» (Botiss biomaterials GmbH, Германия) [10].

Для исследования у каждого животного был сформирован дефект 7-8 мм по срединному шву на стыке теменных костей, который является «критическими» для крыс, так как естественный восстановительный процесс без каких-либо оптимизирующих эффектов не завершается полной консолидацией.

Для этого после премедикации (атропин 0,04 мг/кг, цефазолин 25 мг/кг внутримышечно) и седации (Золетил 100 (Virbac, Франция) в дозировке 10 мг/кг) на предполагаемом месте введения была удалена шерсть и дезинфицирован участок кожи животного (Рисунок 5). В теменной области проведен разрез мягких тканей до надкостницы в проекции саггитального шва от бугра затылочной кости кпереди длиной 2-2,5 см.



Рисунок 5 – Зона оперативного вмешательства, дезинфицированная раствором Повидон-йод

Кожа, мышцы и рассеченная надкостница отведены латерально с обнажением теменных костей (Рисунок 6).



Рисунок 6 – Латеральный разрез по сагиттальному шву

С помощью шаровидного бора сформирован дефект теменной кости (наружный диаметр 7-8 мм) без повреждения твердой мозговой оболочки (Рисунок 7, 8).



Рисунок 7 – Формирование трепанационного окна шаровидным твердосплавным бором



Рисунок 8 – Измерение сформированного дефекта

Костный дефект заполнен исследуемыми материалами: у 1 группы ($n = 9$) – в дефект уложен материал «Нуклеостим-VEGF» (ООО «Гистографт», Россия) (Рисунок 9); у 2 группы ($n = 9$) – ксеногенный материал «Bio-Oss» (Рисунок 10); у 3 группы ($n = 9$) – ксеногенный материал «Cerabone» (Рисунок 11). Операционная рана ушита послойно узловыми швами Vicryl 4/0 (надкостница и мышцы) и 5/0 (кожа) (Рисунок 12).



Рисунок 9 – Заполнение дефекта ген-активированным материалом «Нуклеостим-VEGF» (ООО «Гистографт», Россия)



Рисунок 10 – Заполнение дефекта ксеногенным материалом «Bio-Oss»



Рисунок 11 – Заполнение дефекта ксеногенным материалом «Cerabone»



Рисунок 12 – Ушивание раны простыми узловыми швами Vicryl 5/0

На 30, 60 и 90 сутки было произведено выведение крыс из эксперимента передозировкой наркоза (Золетил – 20 мг/кг). Проведено удаление крыши черепа с зонами ранее выполненных дефектов и помещение ее в 4% растворе формалина для фиксации на 7 дней. После было проведено микро-КТ исследование эксплантированных материалов для оценки консолидации. Далее часть тканей была криофиксирована для иммуногистохимии и ПЦР.

Была проведена стандартная гистологическая проводка и изготовление препаратов для гистологического исследования.

Все манипуляции с животными проводились согласно «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» в соответствии с приказами МЗ СССР №755 от 12.08.1977 г. №701 от 24.07.1978 г. и «Правилам лабораторной практики в Российской Федерации» от 2003 г., а также правилам, принятым Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследований и других научных целей (European Convention on the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123) Strasbourg, 1986). Содержание животных осуществлялось в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 10993-2-2009 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 2. Требования к обращению с животными».

Было получено ветеринарное свидетельство о здоровье животных, также после их приобретения предусмотрено содержание животных на карантине в течение двух недель. Содержание животных осуществлялось в поликарбонатных клетках, в которых предусмотрены углубления для корма и решетчатые крышки из стали, древесные опилки из лиственных пород дерева, служащие в качестве подстила. Температура в виварии составляла 18-22° С, относительная влажность равнялась 50-65%, цикл освещения двенадцатичасовой, а смена объема воздуха помещения в час десятикратна. Рацион вивария стандартный: осуществлялось питание животных комбинированным кормом для лабораторных животных (микробиологический статус соответствовал ГОСТ Р 51849-2001 «Ветеринарно-санитарные нормы и требования к качеству кормов для непродуктивных 55 животных»), а также фильтрованной водопроводной водой *ad libitum* в стандартных питьевых бутылочках (микробиологический статус воды соответствует СанПиН 2.1.4.1074-01 «Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения»).

2.5.1. Проведение микро-КТ для оценки степени восстановления костного дефекта

На проведение микро-КТ исследования были получены 27 образцов черепов крыс линии Wistar с нанесенными дефектами. Образцы получены в фиксированном виде в забуференном формалине. Для сканирования помещали в пластиковый контейнер, заполненный забуференным 10% формалином.

Сканирование производили при помощи рентгеновского микротомографа SkyScan 1276 (Bruker, Бельгия) с использованием следующих параметров: напряжение источника рентгеновского излучения 90 кВ, сила тока – 200 мкА, фильтр Al+Cu, размер вокселя 30 мкм. Реконструкция производилась в программе NRecon (2.0.0.5, Bruker, Бельгия) интегрированной с томографом. Рендеринг и анализ производился в программе 3D Slicer (5.2.1, открытый исходный код). Просмотр образцов производили в классическом черно-белом режиме.

2.5.2. Морфометрическое исследование

Морфометрия производилась при помощи встроенных в 3DSlicer измерительных инструментов. На каждом образце определяли площадь новообразованной кости (мм^2), как разницу в площади первоначального дефекта и площади незакрытой части дефекта в нижней проекции. Также определяли объем гранул материала в границах дефекта (мм^3).

2.5.3. Статистический анализ результатов экспериментального исследования *in vivo*

Производили в программе GraphPad Prism 10 (GraphPad Software, CA, США) при помощи two-way ANOVA с апостериорным тестом Тьюки. Коэффициент корреляции рассчитывали по методу Пирсона. Различия считали значимыми при $p < 0.05$. Результаты представлены в виде среднее \pm стандартное отклонение.

2.6. Методика приготовления гистологических препаратов

Для исследования были получены образцы дефектов черепов с применением остеокондуктивных материалов «Bio-Oss», «Cerabone», «Нуклеостим-VEGF» на 30, 60 и 90 сутки после создания дефекта. На 30, 60 и 90 сутки было получено по пять образцов в группах применения «Bio-Oss», «Cerabone», «Нуклеостим-VEGF».

Фиксированные в 10%-ом нейтральном забуференном формалине ткани декальцинировали в течение 2 недель, заливали в парафиновые блоки в строгой ориентации, обеспечивающей получение срезов через диаметр дефекта. Срезы толщиной 3-4 микрометра окрашивали гематоксилином и эозином. Образцы были оцифрованы с помощью сканера гистологических препаратов Hamamatsu Nanozoomer S20 (Hamamatsu, Япония) в режиме сканирования на увеличении $\times 400$. Цифровые скан-изображения гистологических препаратов были изучены в программе NDP.view 2 (Hamamatsu, Япония).

2.7. Характеристика клинического материала

Группа обследованных пациентов из 100 человек была проанализирована по клиническим и рентгенологическим показателям: по данным КЛКТ исследования в области зубов были проведены замеры высоты, ширины и площади разрежения костной ткани до и после оперативного вмешательства через 6 месяцев и через год. Пациенты были разделены на группы по способу заполнения дефекта кости челюсти: с использованием остеопластического материала и без заполнения костной полости материалом. В каждой группе пациенты были разделены подгруппы по методу лечения: удаление зуба или резекция верхушки корня.

Критерии включения пациентов в исследование: пациенты возраста от 18 до 60 лет с полостными дефектами кости 0,7-3,0 см в диаметре в области зубов фронтальной и жевательной групп с нарушением целостности только вестибулярной стенки без разрежения язычной и небной стенок, которым планировалось проведение зубосохраняющей операции ввиду невозможности

проведения эндодонтического лечения (отлом инструмента в канале, внутрикультовая штифтовая вкладка, ортопедические конструкции на зубе и прочее) или НКР для дальнейшей внутрикостной дентальной имплантации. В том числе пациенты после повторного эндодонтического лечения спустя 9-12 месяцев.

Критериями исключения из исследования были декомпенсированные формы общесоматических заболеваний (сахарный диабет, гипертоническая болезнь, инфаркт миокарда и т.д.), заболевания крови и кроветворных органов, злокачественные новообразования полости рта, заболевания центральной нервной системы, период беременности, гингивит, пародонтит тяжелой степени, пародонтоз, отказ пациента от участия в исследовании, отказ пациента от соблюдения послеоперационных рекомендаций, а также пациенты с диагнозами: амелобластома, кератокиста, фолликулярная киста, киста резцового канала и в стадии обострения хронического процесса.

2.8. Методы обследования пациентов

2.8.1. Клиническо-лабораторное обследование

На этапе клинического обследования было проведено: выяснение жалоб, сбор анамнеза, внешний осмотр, оценка состояния слизистой оболочки рта, наличие активных и неактивных свищевых ходов, наличие крепитации в проекции радикулярной кисты, степень разрушения причинного зуба.

С помощью анкетирования выяснялись жалобы, определялся соматический статус и аллергоанамнез. Сбор анамнеза включал выяснение длительности заболевания и сведения о наличии ранее проведенном лечении и его результатах.

При внешнем осмотре оценивались конфигурация лица, цвет и состояние кожных покровов, состояние регионарных лимфоузлов.

Анализ состояния пародонта полости рта выявляла наличие очагов хронического воспаления, определялась степень подвижности зубов по Миллеру.

2.8.2. Конусно-лучевая компьютерная томография

Проводилась конусно-лучевая компьютерная томография (КЛКТ) периапикальных дефектов в области причинных зубов с использованием компьютерного томографа (Planmeca ProMax 3Ds, производства фирмы «Planmeca Oy», Финляндия, регистрационное удостоверение Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития (ФСЗ 2009/05887 от 03.11.2011 г. – бессрочно). При помощи данного метода была проведена оценка размеров полостного образования, качества пломбировки корневых каналов, целостности стенок дефекта кости в области радикулярной кисты, степень резорбции костной ткани, а также степень распространения и поражения кистой анатомических образований. При помощи программного обеспечения «Ю Видар» (Vidar Dicom Viewer) для просмотра медицинских изображений стандарта DICOM был проведен анализ плотности костного репарата в условных единицах (УЕ) в зоне дефекта кости после радикулярных кист.

2.9. Характеристика методов оперативного вмешательства

Перед началом лечения пациенты были информированы об альтернативных возможных методах лечения, ознакомлены о потенциальной возможности рецидива кисты, инфицирования остеопластического материала. Пациенты подписывали информированное добровольное согласие на лечение, а также согласие на участие в клиническом исследовании. Перед оперативным вмешательством в области зубов определяли размеры радикулярной кисты в разных плоскостях. Осмотр в ранний послеоперационный период проводился на 1, 3, 7 и 14 дни. Снятие швов проводилось на 21-е сутки. Затем контрольные осмотры через 6 и 12 месяцев [11].

С помощью индекса Landry, Turnbull и Howley (Healing Index (HI) of Landry, Turnbull and Howley) у пациентов проводилась клиническая оценка эпителизации ран и воспаления на 1, 3, 7 и 14 сутки, где «1» – кровоточивость, гнойное отделяемое, отсутствие заживления, а максимальный балл «5», что соответствует

полной эпителизации и отсутствие воспаления. Анализ динамики болевого синдрома в исследуемых группах проводился с помощью визуальной аналоговой шкалы (ВАШ, Visual Analog Scale, VAS) также на 1, 3, 7 и 14 сутки, где цифра «0» – отсутствие боли, «10» – невыносимая боль.

Пациенты были распределены на 3 группы в зависимости от способа заполнения дефекта кости с или без костнопластического материала. В 1 группу вошли пациенты, которым проводилось заполнение полости дефекта ксеногенным материалом «Cerabone» и изоляцией резорбируемой мембраной «Jason»; во 2 группу вошли пациенты, которым была проведена заполнение полости дефекта материалом «Нуклеостим-VEGF» и изоляцией резорбируемой мембраной «Jason»; в 3 группу вошли пациенты, ведение дефекта которых осуществлялось под кровяным сгустком. В каждой группе пациенты были разделены на подгруппы в зависимости от проведенного лечения: **А** – удаление причинного зуба, цистэктомия и направленная костная регенерация; **Б** – резекция верхушки корня причинного зуба, цистэктомия и направленная костная регенерация.

Критерии включения пациентов в подгруппу А: хронический периапикальный процесс со свищем после ранее проведенной резекции корня зуба, наличие металлической вкладки, неполотная obturация корневого канала и невозможность его повторной ревизии врачом-стоматологом-терапевтом, подвижность зуба II и более степени, вовлечение в полость кисты более 2/3 корня причинного зуба, а также наличие трещины или перелома корня причинного зуба.

Критерия включения пациентов в подгруппу Б: пациенты с неполотной obturацией корневого канала в области верхушки корня причинного зуба, отсутствие подвижности зуба.

Критерия исключения составили пациенты с обострением хронического гнойно-воспалительного процесса, а также пациенты с обширными полостными образованиями в проекции менее 2/3 корня ранее не пролеченного эндодонтически зуба, которым проводилось лечение методом декомпрессионного дренирования.

В подгруппе А под местной анестезией Sol. Articaini hydrochloridi 4% + Sol. Adrenalini 1:200000 проводилось удаление причинного зуба. Отслаивался полнослойный слизисто-надкостничный лоскут. Костная узура в проекции радикулярной кисты расширялась при помощи бормашины твердосплавным наконечником. Производилась цистэктомия радикулярной кисты, кюретаж и гемостаз. Полость дефекта заполнялась остеопластическим материалом в зависимости от подгруппы («Cerabone», «Нуклеостим-VEGF») и изоляцией резорбируемой мембраной с фиксацией безударными пинами осциллирующим наконечником или велась под кровяным сгустком. Полнослойный слизисто-надкостничный лоскут мобилизовался и фиксировался обратно простыми узловыми швами резорбируемой нитью Monosyn 5/0.

В подгруппе Б пациентов под местной анестезией Sol. Articaini hydrochloridy 4% + Sol. Adrenalini 1:200000 в зоне оперативного вмешательства выполнялся линейный или фестончатый разрез по альвеолярному гребню, вертикальные разрезы, после формировался полнослойный лоскут. Костная узура в проекции радикулярной кисты расширялась при помощи бормашины твердосплавным наконечником. Производилась цистэктомия радикулярной кисты, кюретаж и гемостаз. Верхушка причинного зуба резецировалась керамическим бором на 3 мм, производилось ретроградное пломбирование материалом на водной основе ProRoot МТА. Полость дефекта заполнялась остеопластическим материалом («Cerabone», «Нуклеостим-VEGF») и перекрывалась резорбируемой мембраной с фиксацией безударными пинами осциллирующим наконечником или велась под кровяным сгустком. Полнослойный слизисто-надкостничный лоскут фиксировался обратно простыми узловыми швами резорбируемой нитью Monosyn 5/0.

2.10. Методы статистической обработки данных

Для статистической обработки полученных данных использовались методы описательной и аналитической статистики. Данные по половой принадлежности описаны с указанием абсолютных и относительных частот. Объем дефекта

проверялся на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро-Уилка. Поскольку распределение не во всех группах соответствовало нормальному, для сравнения объемов дефекта до и после лечения внутри групп применялся непараметрический критерий Уилкоксона для парных выборок. Для сравнения процентного показателя закрытия дефекта между группами использовался непараметрический критерий Манна-Уитни для независимых выборок. Статистическая значимость различий определялась при уровне $p < 0,05$. Обработка данных проводилась с использованием программного пакета Statistica 10.0 (Statsoft, США).

Эффективность лечения оценивалась по проценту закрытия костного дефекта, измеренного с помощью КЛКТ через 6 и 12 месяцев после оперативного вмешательства. Для анализа динамики внутри каждой группы был применен критерий Уилкоксона. Внутри каждой группы было также рассчитано выборочное стандартное отклонение.

Для сравнения эффективности между группами был рассчитан медианный процент закрытия дефекта и проведено попарное сравнение групп с использованием критерия Манна-Уитни.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для работы использовались коммерческие иностранные остеопластические материалы Geistlich Bio-Oss® (далее – «Bio-Oss») и «Cerabone», а также отечественная разработка – «Нуклеостим-VEGF» (ООО «Гистографт»). «Bio-Oss» и «Cerabone» – ксеногенные материалы, представляющие деминерализованный костный матрикс бычьей кости и обладающие остеокондуктивными свойствами.

3.1. Результаты экспериментального исследования *in vitro*

3.1.1. Хемилюминесцентный анализ

Нейтрофилы – первые клетки врожденного иммунитета, которые приходят в очаг воспаления, образующийся в зоне имплантации материалов, и активируются. Влияние остеопластических материалов на продукцию нейтрофилами активных форм кислорода («Reactive Oxygen Species», далее – ROS) изучали с помощью метода хемилюминесценции. Взаимодействие люминола (далее – CL) с ROS, генерируемыми активированными клетками, приводит к испусканию кванта света, которое измеряет детектор расшифровать (далее – ХЛ).

Кровь добавляли к материалам, инкубировали в течение определенного времени, после чего отбирали аликвоты и добавляли их в кювету хемилюминометра, содержащую Krebs-Ringer буфер и CL. В результате эксперимента получали зависимость сигнала ХЛ, детектируемого прибором, от времени измерений после добавления активатора нейтрофилов PMA. Активацию нейтрофилов измеряли в трех точках: начальная точка – около 5-7 минут после начала инкубации цельной крови с материалом, средняя точка – около 30-40 минут, конечная точка – около 60-70 минут (Рисунок 13).

Для сравнения степени активации нейтрофилов в разных точках после их инкубации с остеопластическими материалами рассчитывали площадь под кривой ХЛ. Сравнивали площадь для контрольного образца крови и образца, инкубированного с материалом, для разных времен инкубации. В результате

проведенных экспериментов было установлено, что все использованные материалы в той или иной степени активируют нейтрофилы (Рисунок 14, 15, 16).

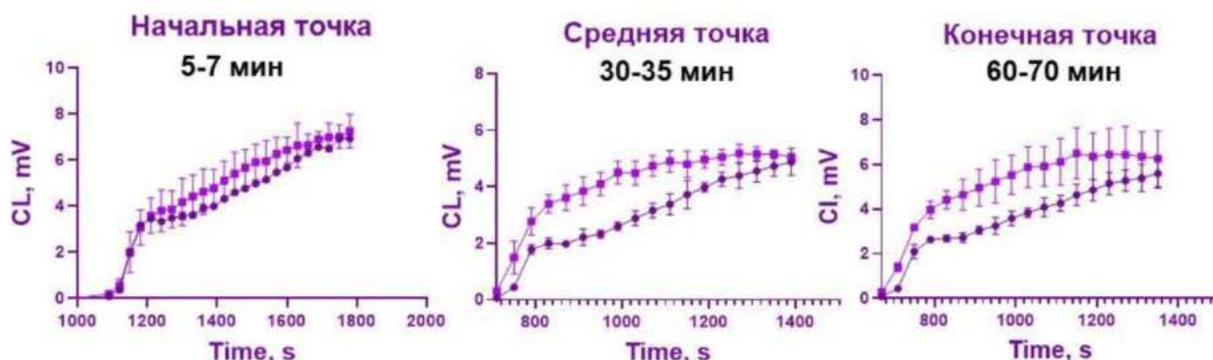


Рисунок 13 – Хемилюминесценция CL в растворе, к которому добавлена кровь из контрольного образа и образца, инкубированного с «Bio-Oss» в течение 3-х различных промежутков времени. Активацию нейтрофилов индуцировали добавлением 100 нг/мл РМА

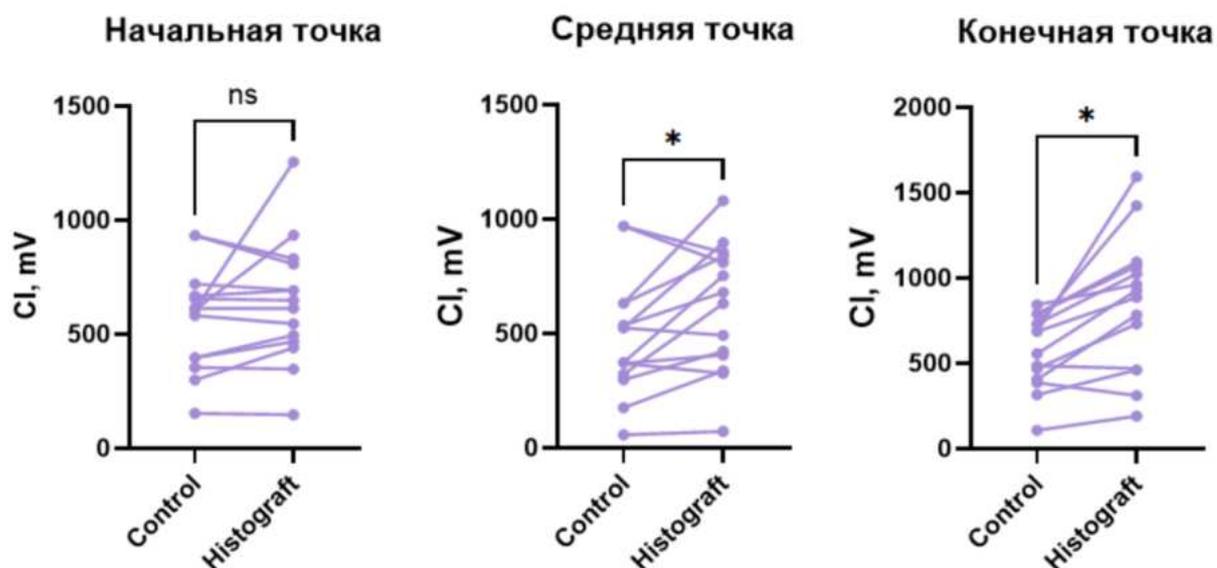


Рисунок 14 – Статистический анализ значимости активации нейтрофилов синтетическим остеопластическим материалом «Нуклеостим-VEGF» по сравнению с контрольным значением, рассчитанный по парному t-критерию Стьюдента. CL – хемилюминесценция, * $p < 0,05$



Рисунок 15 – Статистический анализ значимости активации нейтрофилов ксеногенным остеопластическим материалом «Bio-Oss» по сравнению с контрольным значением, рассчитанный по парному t-критерию Стьюдента. * $p < 0,05$

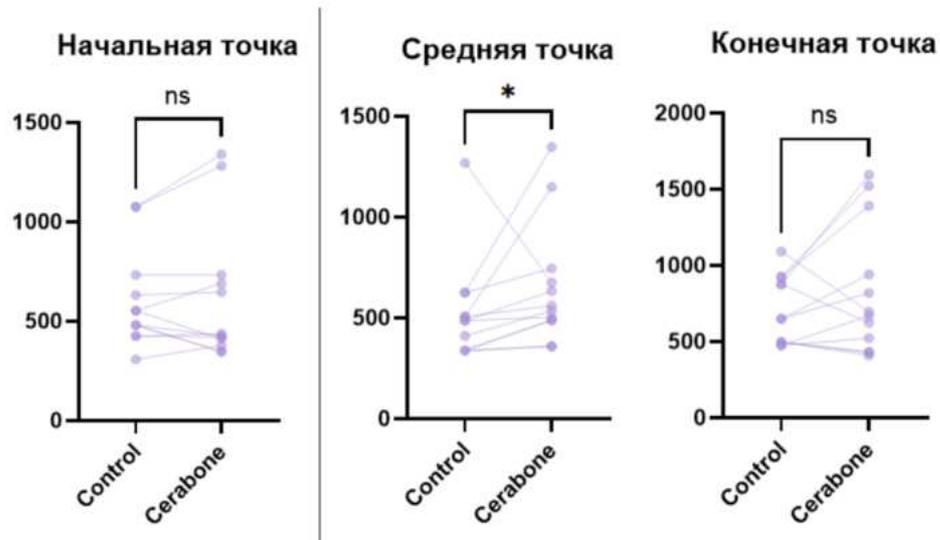


Рисунок 16 – Статистический анализ значимости активации нейтрофилов ксеногенным остеопластическим материалом «Cerabone» по сравнению с контрольным значением, рассчитанный по парному тесту Уилкоксона. * $p < 0,05$

При сравнении степени активации нейтрофилов различными материалами статистически значимых отличий обнаружено не было (Рисунок 17). Активация нейтрофилов остеопластическими материалами умеренная и соответствует активации вызванной, например, скаффолдами на основе перикарда [156]. Такая активация не приводит к респираторному взрыву нейтрофилов, но способствует

усилению борьбы с инфекцией. Известно, что активация нейтрофилов на 1-й стадии иммунного ответа важна также для подготовки тканей к регенерации.

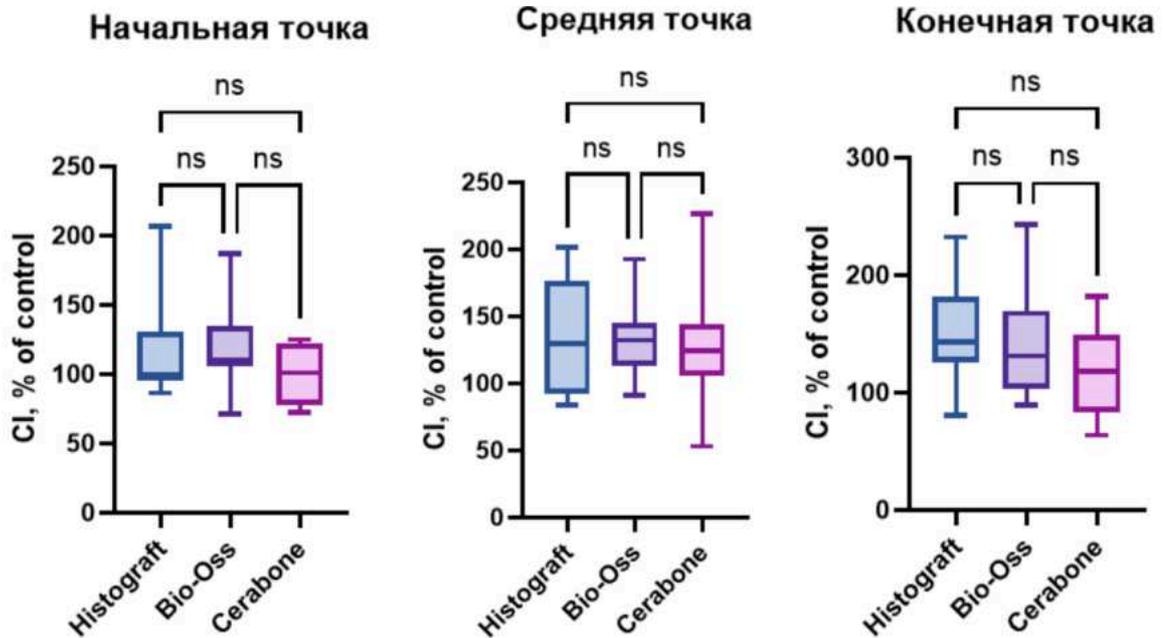


Рисунок 17 – Сравнение влияния различных остеопластических материалов на активацию нейтрофилов РМА, проведенное с помощью теста Краскела Уоллиса

Активированные нейтрофилы продуцируют ROS, среди которых наиболее активным является хлорноватистая кислота (далее – HOCl), которая способна окислять и деградировать материалы на основе коллагена.

3.1.2. Цитотоксичность остеопластических материалов

Цитотоксичность материалов и их влияние на формирование провоспалительного окружения в зоне имплантации изучали для макрофагов человека, дифференцированных из моноцитов. M0 – нейтральные макрофаги, которые могут быть поляризованы в провоспалительный M1 фенотип инкубацией с (LPS + IFN- γ). Материалы добавляли к клеткам на 6-й день культивирования сразу после индукторов поляризации (M1) или без (M0). На 8-й день инкубации не наблюдалось существенного изменения морфологических характеристик клеток рядом с материалами: клетки сохраняли форму, не наблюдалось некрозамакрофагов (Рисунок 18).

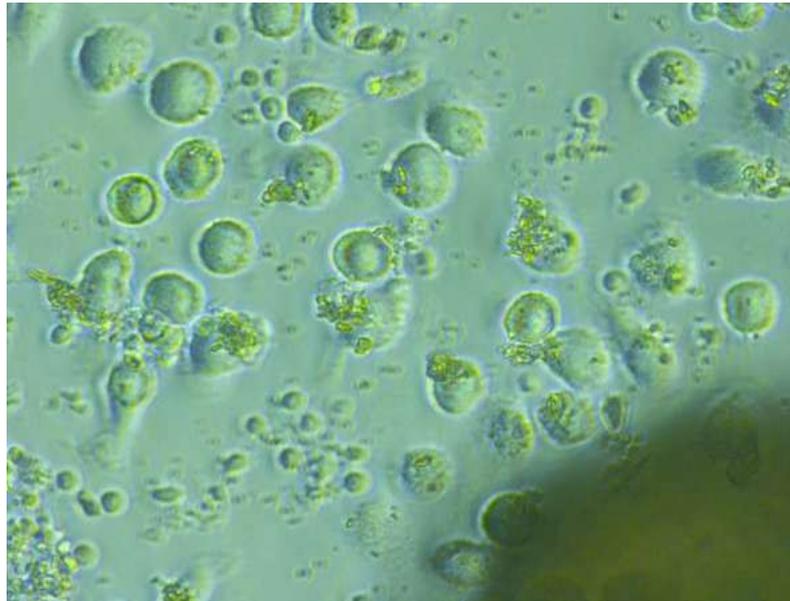


Рисунок 18 – M0 макрофаги, инкубированные с «Bio-Oss» двое суток. Темное пятно – материал. Мелкие клетки – остаточные эритроциты. Увеличение x20

На 8-й день отбирали среды и добавляли к клеткам раствор Аламарового синего или растворы красителей для Live/Dead теста. В живых клетках аламаровый синий восстанавливается до флуоресцирующего резазурина. В ходе изучения влияния цитотоксичности данных веществ в отношении макрофагов M0 с помощью этого метода было выявлено, что представленные костные заменители обладают незначительной цитотоксичностью, большая часть клеток выживала (Рисунок 19). Более цитотоксичным является «Cerabone», что также подтверждается Live/Dead тестом (Рисунок 19).

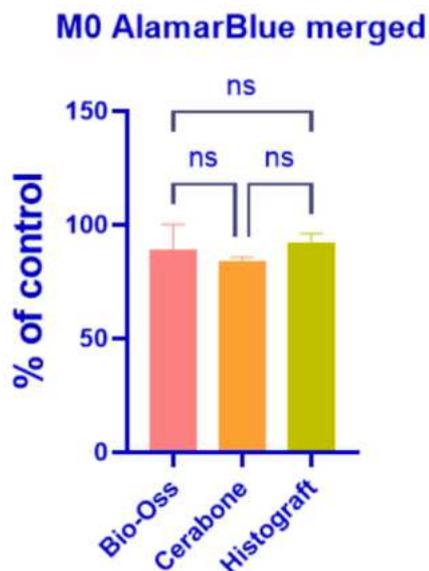


Рисунок 19 – Сравнение цитотоксичности разных материалов в отношении макрофагов M0, измеренной с помощью Аламарового синего, статистический анализ выполнен по тесту Краскела-Уоллиса

Стандартный тест Live/Dead позволяет отличить живые клетки от мертвых путем одновременного окрашивания клеток кальцеином-AM, который модифицируется внутриклеточной эстеразой живых клеток до флуоресцирующего в зеленой области кальцеина, и красным флуоресцентным гомодимером-1 пропидий йодида (PI), который накапливается в клетках при нарушении целостности плазматической мембраны (Рисунок 20).

В результате проведенных исследований на цитотоксичность в отношении макрофагов, поляризованных в M1 состояние, было обнаружено, что материалы не вызывают массовой гибели макрофагов, количество выживших клеток составило около 80% для всех материалов независимо от того, в каком растворе предварительно замачивались костные заменители. Сравнили цитотоксичность материалов после их обработки физраствором (Saline solution) или бычьей сывороткой (FBS) (Рисунок 21). Полученные данные также подтверждаются Live\Dead тестом (Рисунок 22).

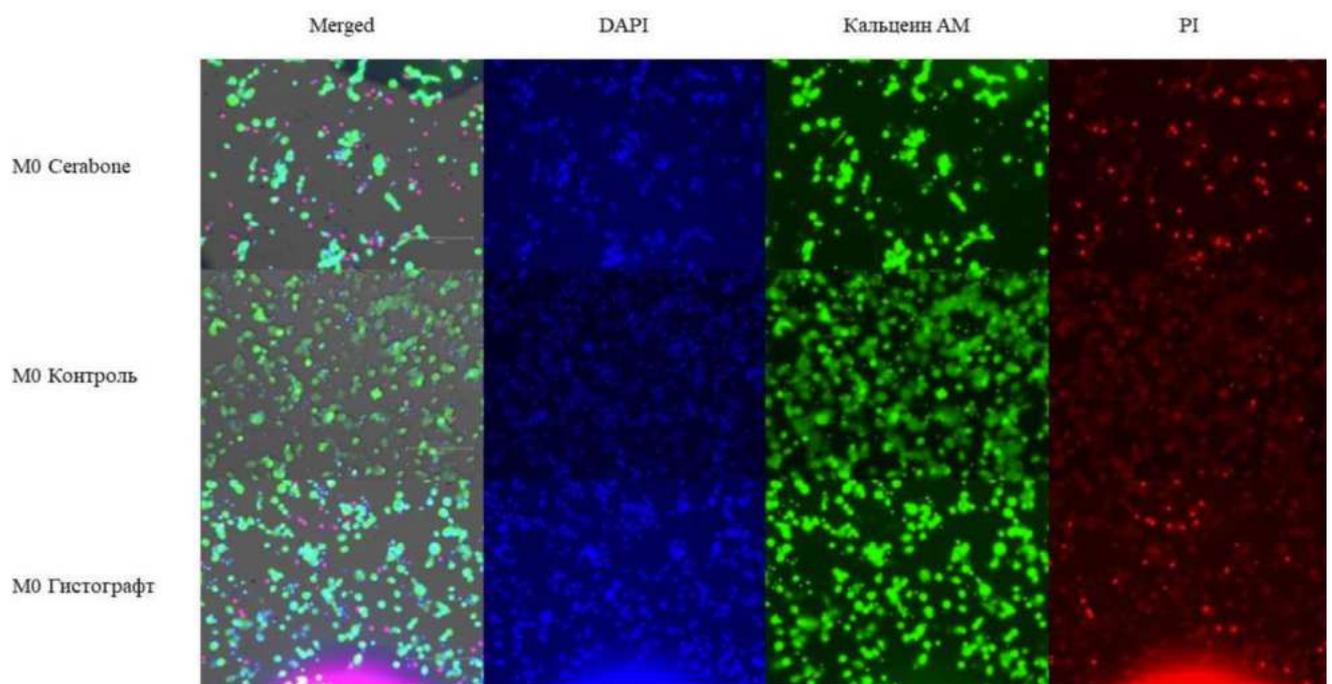


Рисунок 20 – Live/Dead тест макрофагов M0, инкубированных с «Нуклеостим-VEGF» и «Cerabone», по сравнению с контрольными клетками (без добавок).

DAPI окрашивает хроматин, PI – ядра клеток с поврежденной мембраной, кальцеин AM – цитоплазму живых клеток

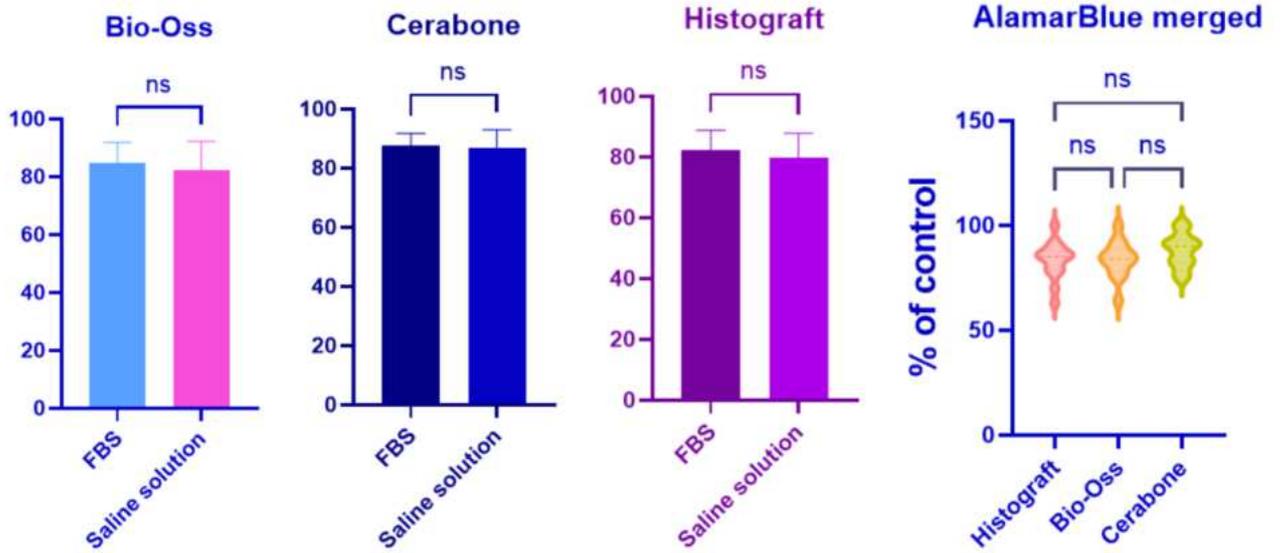


Рисунок 21 – Сравнение жизнеспособности макрофагов M1, измеренной с помощью Аламарового синего, после их инкубации с остеоматериалами, обработанными либо физраствором, либо FBS, проведенное по тесту Манна-Уитни. Сравнение жизнеспособности между выборками проведено с помощью теста Краскела-Уоллиса

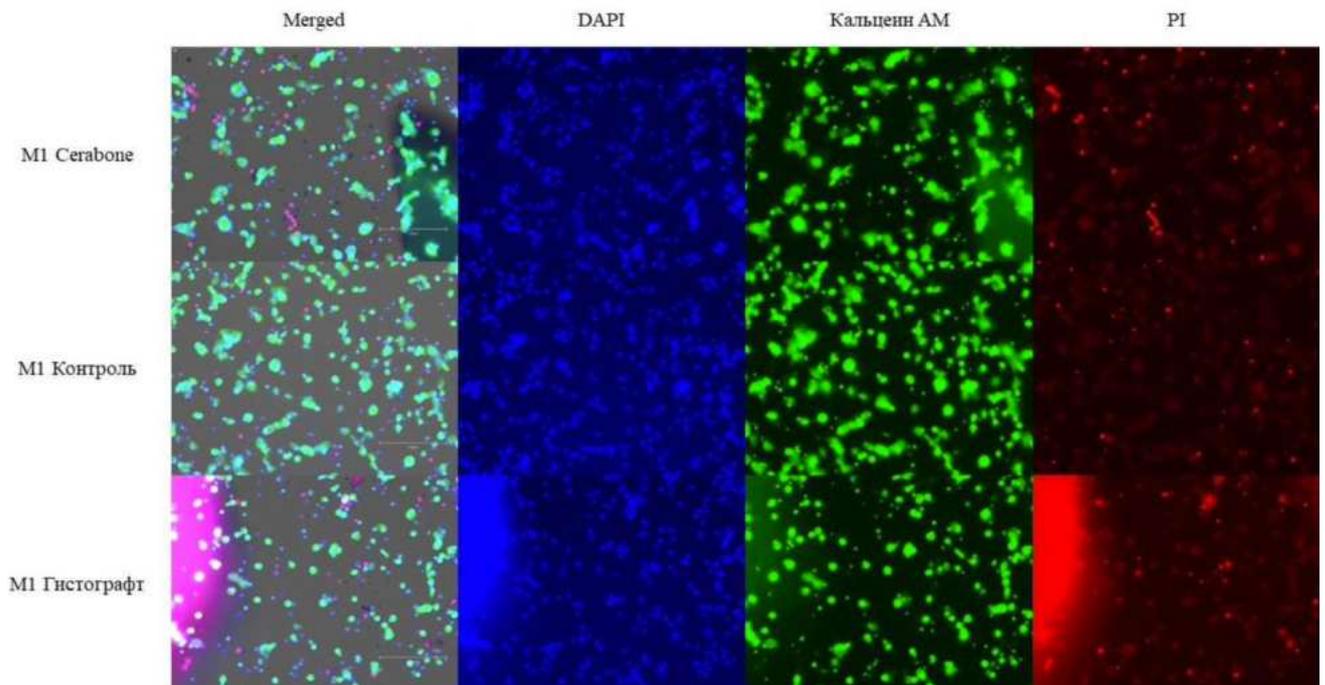


Рисунок 22 – Live/Dead тест макрофагов M1, инкубированных с «Нуклеостим-VEGF» и «Cerabone», по сравнению с контрольным значением

Незначительное уменьшение количества жизнеспособных макрофагов можно объяснить повреждением части клеток при контакте с материалами. Сами же материалы не обладают значимой цитотоксичностью.

3.1.3. Влияние остеопластических материалов на синтез TNF-а макрофагами M0 и M1

Секретируемые макрофагами цитокины влияют на все клетки в очаге воспаления, регулируя процессы регенерации ткани. TNF-а секретируется провоспалительными макрофагами M1 и способствует развитию воспаления. Для изучения влияния материалов на продукцию TNF-а макрофагами M0 и M1 были использованы две модели:

1) материалы добавляли к макрофагам сразу после замены среды и добавки индукторов поляризации (день 6-ой культивирования), как если бы имплантация материалов создавала провоспалительную среду,

2) через сутки после добавки индукторов поляризации (день 7-ой), как если бы материалы имплантировали в ткань с воспалительными процессами, что характерно для хронического воспалительного процесса в периапикальных тканях.

В обеих моделях на 8-ой день отбирали кондиционированные среды для измерения в них TNF-а. Для обеих моделей значимых различий между контрольными значениями концентрации TNF-а, и значениями, полученными после инкубации макрофагов M0 с материалами, обнаружено не было.

При добавке материалов к макрофагам на 7-й день культивирования ксеногенные материалы, «Bio-Oss» и «Cerabone», значимо не влияли на синтез TNF-а макрофагами M1 (94% и 96% соответственно), тогда как синтетический материал «Нуклеостим-VEGF» достоверно снижал секрецию TNF-а до 30% от контрольного значения (Рисунок 23). Данный эффект может объясняться тем, что в состав «Нуклеостим-VEGF» входит плазмида, содержащая ген VEGF-A. Согласно некоторым источникам [158], VEGF-A способствует поляризации макрофагов из M1 фенотипа в M2 фенотип, что может приводить к уменьшению

секреции провоспалительного цитокина.

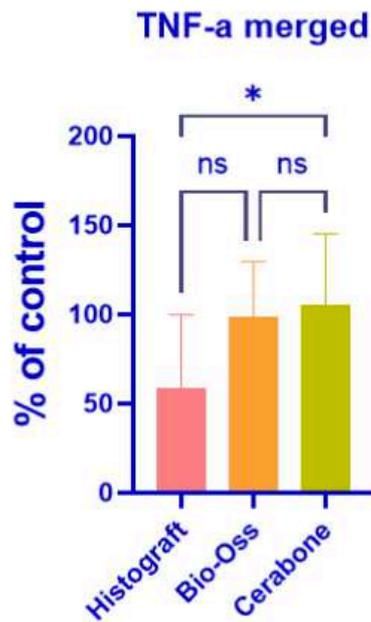


Рисунок 23 – Сравнение синтеза TNF-а при инкубации макрофагов M1 с различными материалами, добавка на 7 день культивирования (за 1 день до измерения TNF-а). * $p < 0,05$

Сравнение влияния материалов при добавке к M1 макрофагам на 6-ой и 7-ой день выявило дополнительные различия между материалами. При любой модели добавок «Cerabone» не влияет на поляризацию макрофагов из M0 в M1 фенотип.

В ходе анализа данных, полученных при инкубации клеток с «Bio-Oss», было замечено, что при ранней добавке концентрация TNF-а значительно снижается, то есть «Bio-Oss» препятствует поляризации макрофагов M0 в M1, будучи добавленным сразу после индукторов, однако не влияет на синтез TNF-а уже поляризованных клеток (добавка через сутки после начала поляризации в M1). «Bio-Oss» отличается от «Cerabone» тем, что на 10% состоит из свиного коллагена, который может адсорбировать на своей поверхности вещества-поляризаторы LPS и IFN- γ , вследствие чего наблюдается низкая секреция TNF-а. «Нуклеостим-VEGF» значительно понижал секрецию TNF-а, не обнаружено различий между добавками в разные дни (Рисунок 24).

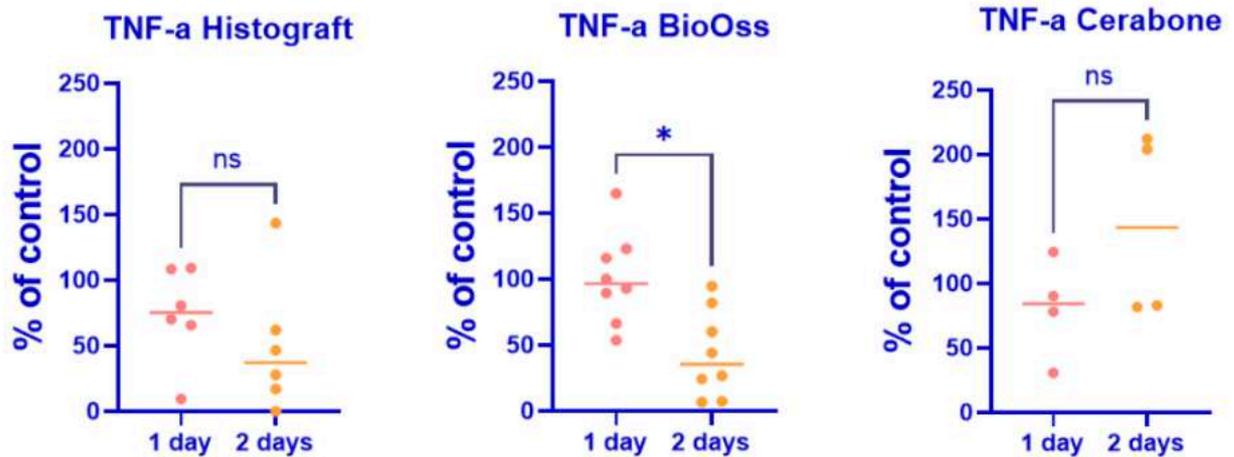


Рисунок 24 – Сравнение влияния макрофагов на поляризацию макрофагов из M0 фенотипа в M1. 1 day – добавка навесок за один день до проведения теста на TNF-a (через день после индукторов поляризации в M1 фенотип), 2 days – добавка навесок за два дня до проведения теста на TNF-a (сразу после добавления индукторов). Статистический анализ проводился с помощью теста Уилкоксона.

* $p < 0,05$

Изменение секреции провоспалительного цитокина в месте имплантации может существенно влиять на протекание воспалительного процесса и регенерацию ткани.

3.1.4. Жизнеспособность клеток и адгезия к образцам

При культивировании ММСК десны на поверхности материалов: ген-активированный материал «Нуклеостим-VEGF», «Bio-Oss» и «Cerabone» оба ксеногенного происхождения – была активная клеточная адгезия, и клетки оставались жизнеспособными на 1 и 3 сутки. При анализе образцов с помощью Live/Deadassay в оба дня мертвых клеток обнаружено практически не было. Небольшое количество мертвых клеток наблюдали на поверхности материалов в виде окрашенных синим и красным цветом ядер. На 1 сутки гранулы «Нуклеостим-VEGF» были практически полностью покрыты монослоем ММСК (Рисунок 25), тогда как на гранулах материала «Bio-Oss» клетки располагались не по всей поверхности (Рисунок 26). Спустя 3 суток после посадки плотность ММСК на поверхности гранул «Bio-Oss» заметно увеличилась, практически

достигая монослоя (Рисунок 27). На поверхности материала «Нуклеостим-VEGF» клетки по-прежнему располагались плотно и оставались жизнеспособными (Рисунок 28).

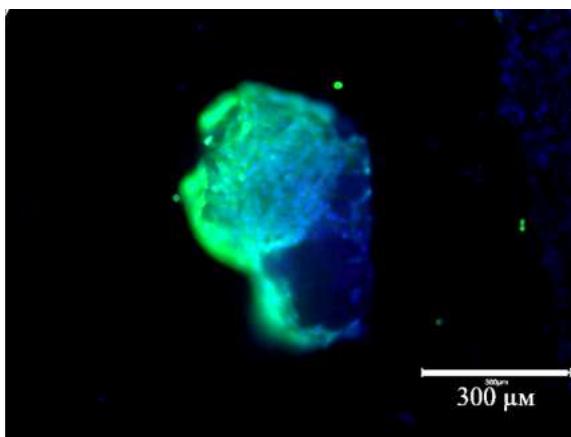


Рисунок 25 – ММСК на поверхности гранул материалов «Нуклеостим-VEGF». Анализ жизнеспособности ММСК на 1 сутки культивирования. Окрашивание Live\Dead, Calcein-AM (живые клетки, зеленый), Propidium Iodide (мертвые клетки, красный), Hoechst 33285 (ядра, синий). Флуоресцентная микроскопия, масштабный отрезок 300 μm

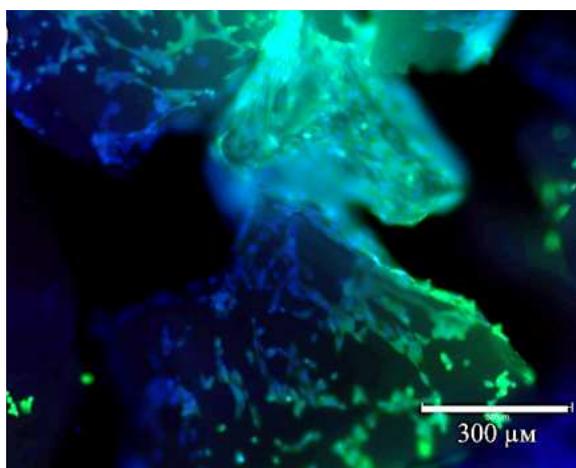


Рисунок 26 – ММСК на поверхности гранул материалов «Bio-Oss». Анализ жизнеспособности ММСК на 1 сутки культивирования. Окрашивание Live\Dead, Calcein-AM (живые клетки, зеленый), Propidium Iodide (мертвые клетки, красный), Hoechst 33285 (ядра, синий). Флуоресцентная микроскопия, масштабный отрезок 300 μm

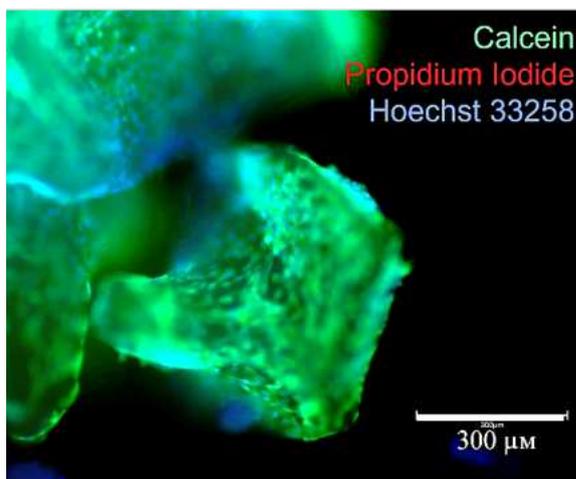


Рисунок 27 – ММСК на поверхности гранул материалов «Нуклеостим-VEGF». Анализ жизнеспособности ММСК на 3 сутки культивирования. Окрашивание Live\Dead, Calcein-AM (живые клетки, зеленый), Propidium Iodide (мертвые клетки, красный), Hoechst 33285 (ядра, синий). Флуоресцентная микроскопия, масштабный отрезок 300 μм

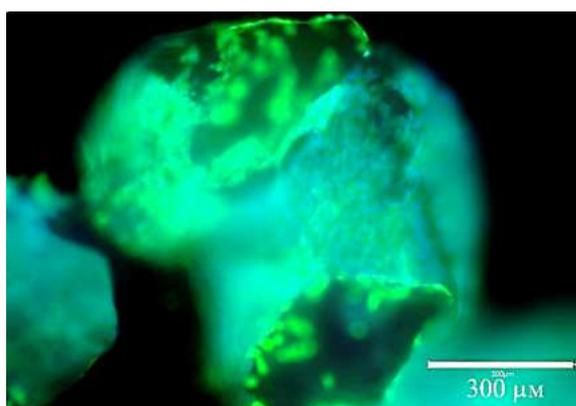


Рисунок 28 – ММСК на поверхности гранул материалов «Bio-Oss». Анализ жизнеспособности ММСК на 3 сутки культивирования. Окрашивание Live\Dead, Calcein-AM (живые клетки, зеленый), Propidium Iodide (мертвые клетки, красный), Hoechst 33285 (ядра, синий). Флуоресцентная микроскопия, масштабный отрезок 300 μм

Небольшое количество мертвых клеток наблюдали на материале «Cerabone» в виде окрашенных синим и красным цветом ядер, однако большая часть поверхности «Cerabone» была покрыта одиночно расположенными живыми ММСК с веретеновидной морфологией на 1 сутки (Рисунок 29).

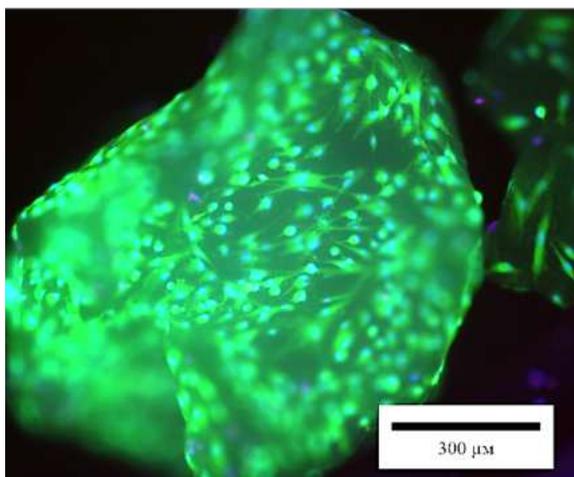


Рисунок 29 – ММСК на поверхности гранул материалов «Cerabone». Анализ жизнеспособности ММСК на 1 сутки культивирования. Окрашивание Live\Dead, Calcein-AM (живые клетки, зеленый), Propidium Iodide (мертвые клетки, красный), Hoechst 33285 (ядра, синий). Флуоресцентная микроскопия, масштабный отрезок 300 μм

На 3 сутки большая часть поверхности «Cerabone» (Рисунок 30) была покрыта одиночно расположенными живыми ММСК с веретеновидной морфологией.

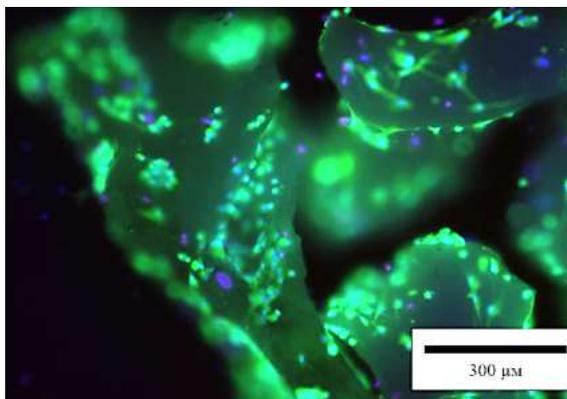


Рисунок 30 – ММСК на поверхности гранул материалов «Cerabone». Анализ жизнеспособности ММСК на 3 сутки культивирования. Окрашивание Live\Dead, Calcein-AM (живые клетки, зеленый), Propidium Iodide (мертвые клетки, красный), Hoechst 33285 (ядра, синий). Флуоресцентная микроскопия, масштабный отрезок 300 μм

3.2. Результаты эксперимента *in vivo*

3.2.1. Морфологический анализ по результатам микро-КТ

При анализе всех образцов были отмечены признаки регенерации кости [39, 41]. Во всех образцах обнаруживались признаки созданного дефекта, представленного окружностью с прямым углом в месте прохождения фрезы (Рисунок 31А). На более отдаленных точках данный угол имел тенденцию к скруглению из-за регенерации кости. На нижней грани сформированного дефекта определялась новообразованная кость, представленная тонкой пластиной ткани пониженной плотности (Рисунок 31Б). Данная новообразованная ткань нарастает неравномерно от границ дефекта, сужая внутренний диаметр отверстия.

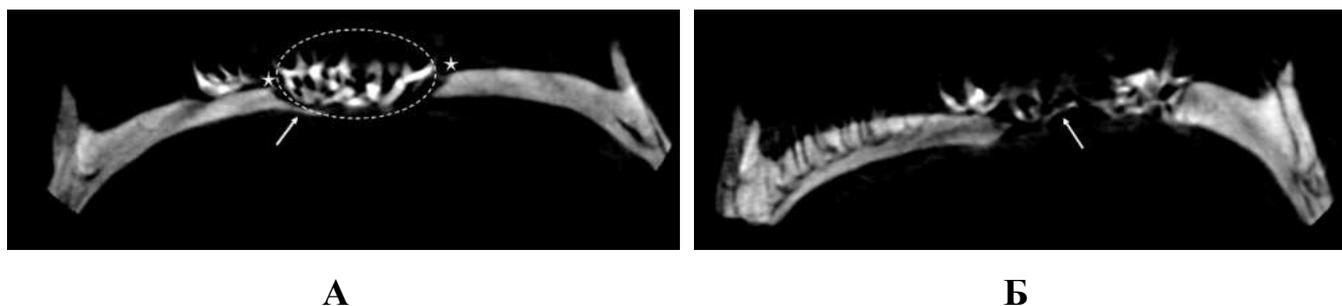


Рисунок 31 – Общие паттерны регенерации дефекта. А – паттерн регенерации костной ткани: звездами обозначены границы созданного дефекта, стрелка указывает на новообразованную костную ткань, овал показывает гранулы материала в границах дефекта. Б – паттерн распределения гранул материала: стрелка указывает на тяжи низкой плотности

Исследуемые материалы располагались как в границах дефекта, так и за его пределами и представляли собой гранулы повышенной рентгеновской плотности (Рисунок 32). На более отдаленных сроках отмечали тенденцию к снижению плотности материала, вероятно, из-за увеличения дисперсности агрегатов гранул и их миграции. Также определяли тяжистые образования низкой плотности в толще дефекта, которые могут быть представлены новообразованной костью или распределёнными деградировавшими гранулами материала и требуют дальнейшей гистологической оценки (Рисунок 32).

Общие паттерны регенерации в виде тонкого тяжа новообразованной кости

пониженной плотности определяли у всех образцов, без возможности определения четко различающихся паттернов между временными точками и группами препаратов. Однако, при анализе трехмерных изображений наблюдается склонность к миграции гранул материала за пределы дефекта.

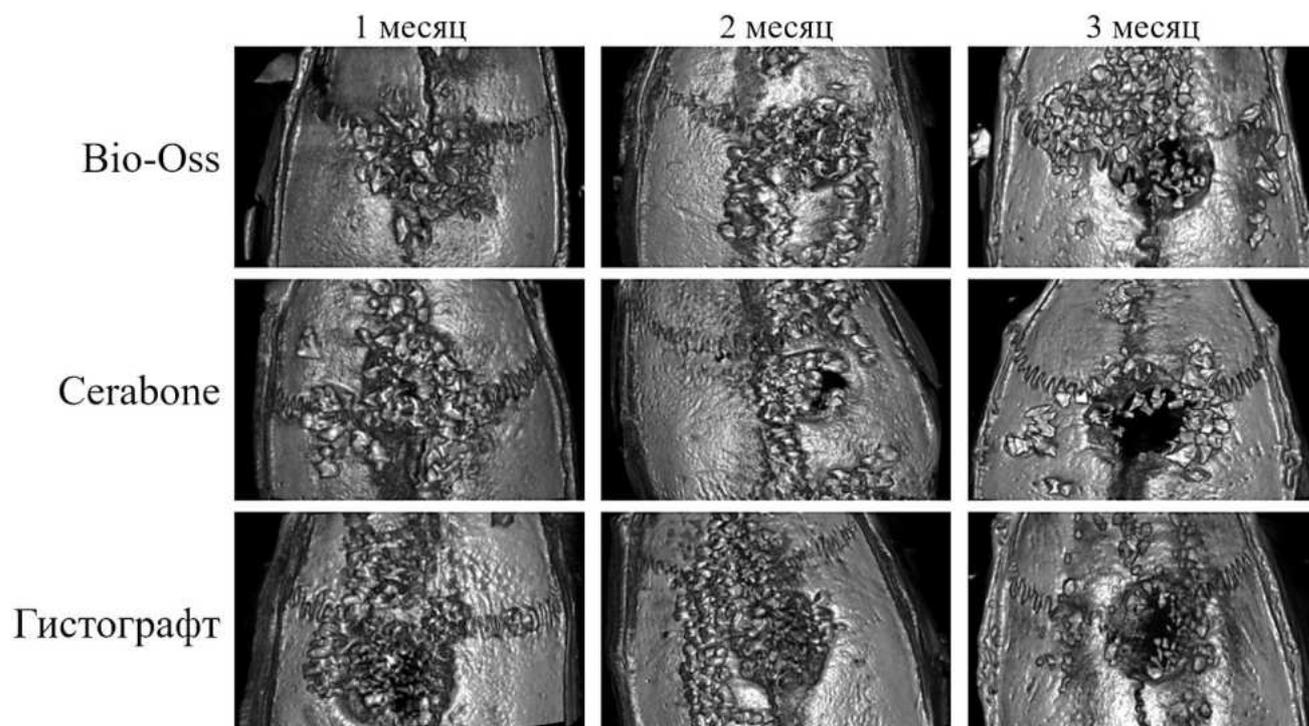


Рисунок 32 – Панель трехмерных изображений образцов с дефектами теменных костей, заполненные остеопластическим материалом

3.2.2. Морфометрический анализ

При анализе площади новообразованной костной ткани достоверные различия были получены только при сравнении исследуемых материалов на точке 3 месяца (Рисунок 32). При использовании материала «Cerabone» наблюдалось наибольшее формирование новообразованной костной ткани при анализе через 3 месяца относительно как «Bio-Oss», так и «Нуклеостим-VEGF» ($p=0,0043$, $p=0,0157$, two-way ANOVA). Сравнения материалов между собой на остальных временных точках, а также внутри группы материала на разных временных точках не имели статической значимости. Однако на всех временных точках наблюдалась тенденция к большему росту новообразованной кости при применении «Cerabone». При использовании «Нуклеостим-VEGF» отмечали

тенденцию к несколько большему формированию новообразованной кости относительно применения «Cerabone».

При анализе содержания гранул материала в границах дефекта не было выявлено достоверных различий между группами временными точками (Рисунок 33). Однако была выявлена тенденция к меньшему содержанию гранул «Гистографт» относительно «Bio-Oss» и «Cerabone», а также тенденция к динамическому снижению объема гранул данного материала. Однако данные результаты могут быть получены из-за трансформации гранул «Нуклеостим-VEGF» в тяжи низкой плотности, вероятно, костного происхождения. Большие объемы «Bio-Oss» и «Cerabone» могут быть объяснены как их низкой склонность к миграции внутри дефекта, так и низкой способностью к индукции образования множества трабекул костной ткани в толще дефекта. Данные гипотезы должны быть изучены в последующих работах.

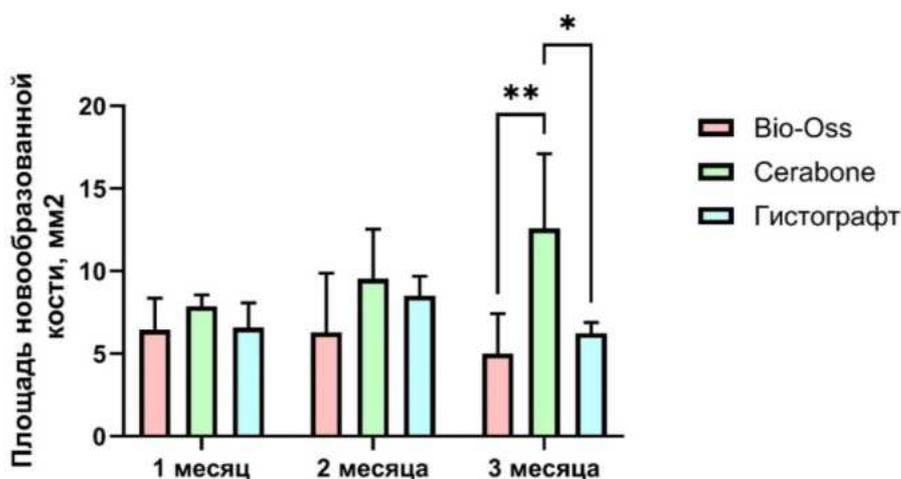


Рисунок 33 – Площадь новообразованной костной ткани: ** - $p=0,0043$,
* - $p=0,0157$

Кроме того, при анализе корреляции между площадью новообразованной костной ткани по нижнему краю дефекта и объемом гранул материала в границах дефекта была получена достоверная слабая положительная связь ($r=0,3824$, $p<0,05$). Однако, в особенности на отдаленных точках, наблюдается уменьшение доли материала в центре дефекта с сохранением гранул на периферии (Рисунок 34), где происходит основной рост новообразованной кости. Характер

взаимодействия материала в центральной зоне дефекта должен быть уточнен при помощи гистологических методов.

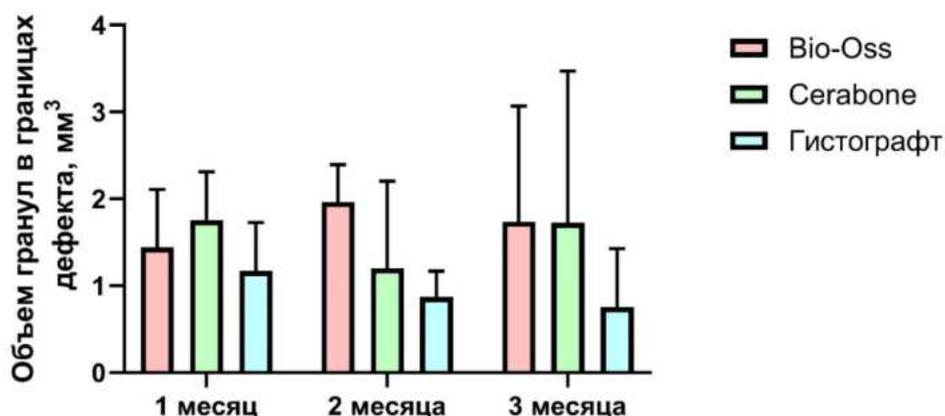


Рисунок 34 – Объем гранул исследуемых материалов, лежащих в границах дефекта

3.3. Гистологическое исследование

На 30 сутки эксперимента в группе «Нуклеостим-VEGF» дефект между краями костной ткани был заполнен тонкой прослойкой фиброзной ткани, в которой определялись фрагменты имплантированного материала размером 150-250 мкм (Рисунок 35а). Материал был рыхлым, пористым, содержал тонкие прослойки соединительной ткани, окрашивающейся как коллагеновые волокна по Маллори. В непосредственной близости от фрагментов материала определялись полнокровные тонкостенные кровеносные сосуды высокой плотности (Рисунок 36). Важно отметить, что уже на этом сроке в части препаратов фрагменты материала определялись на поверхности интактной костной пластины черепа, что указывает на то, что материал «Нуклеостим-VEGF» локализовался не только в самой зоне дефекта, но и распространялся в более отдаленные регионы. Средний размер дефекта составил 3.0 ± 0.6 мм. На краях костной ткани отмечалась пролиферация остеобластов, приблизительно $100 \mu\text{m}$ со стороны каждого края. Но полноценный очаг регенерации дефекта костной ткани не формировался. Края дефекта были перпендикулярны костной пластине, с небольшими наростами, 0.5–1.3 мм. Признаков регенерации костной ткани в толще дефекта обнаружено не было. Небольшие участки инфильтрации иммунными клетками определялись

около фрагментов имплантата, сами фрагменты были окружены макрофагами, и также, возможно, остеокластами.

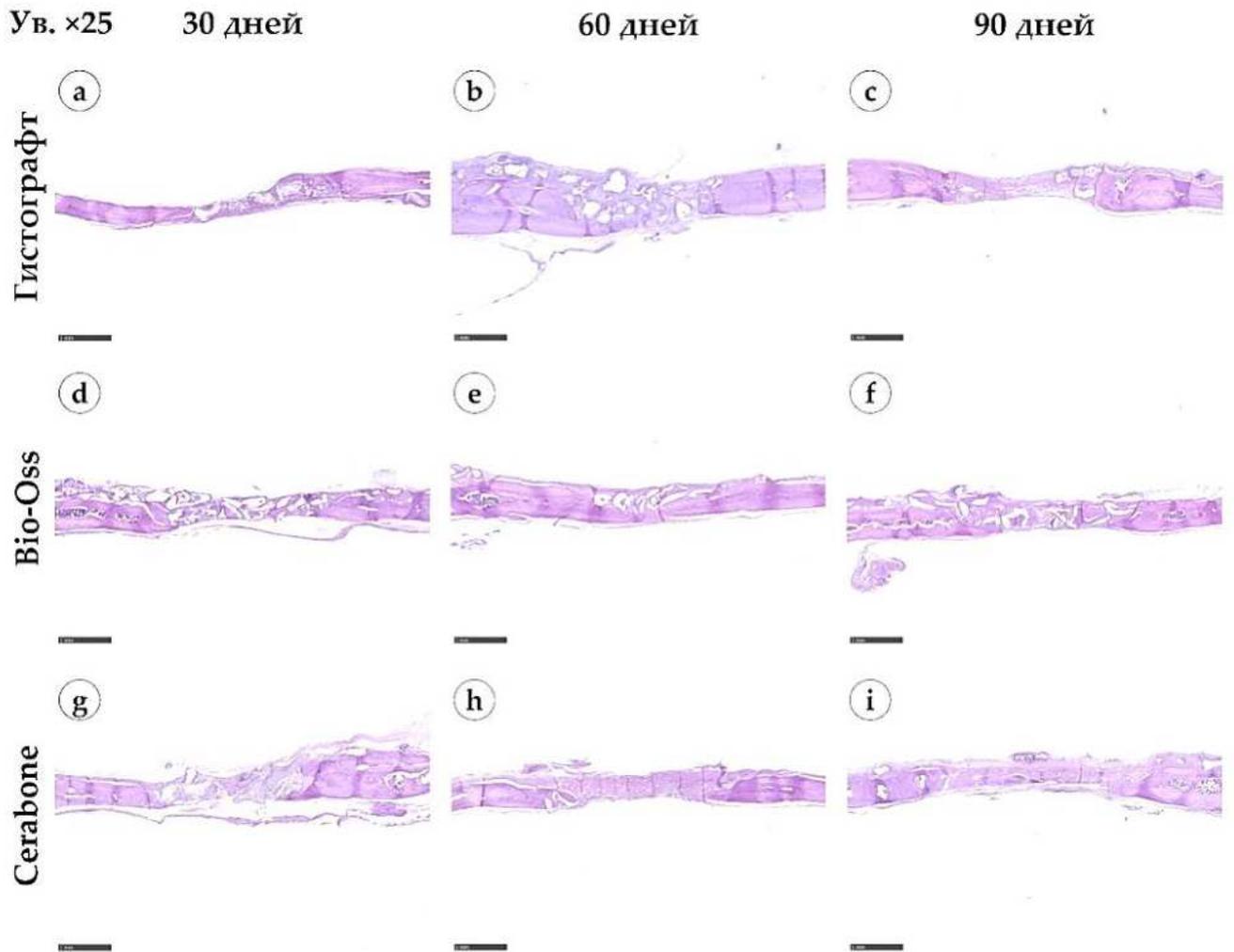


Рисунок 35 – Морфологическое исследование участков дефектов с применением остеокондуктивных материалов, окраска гематоксилином и эозином, увеличение ×12.5

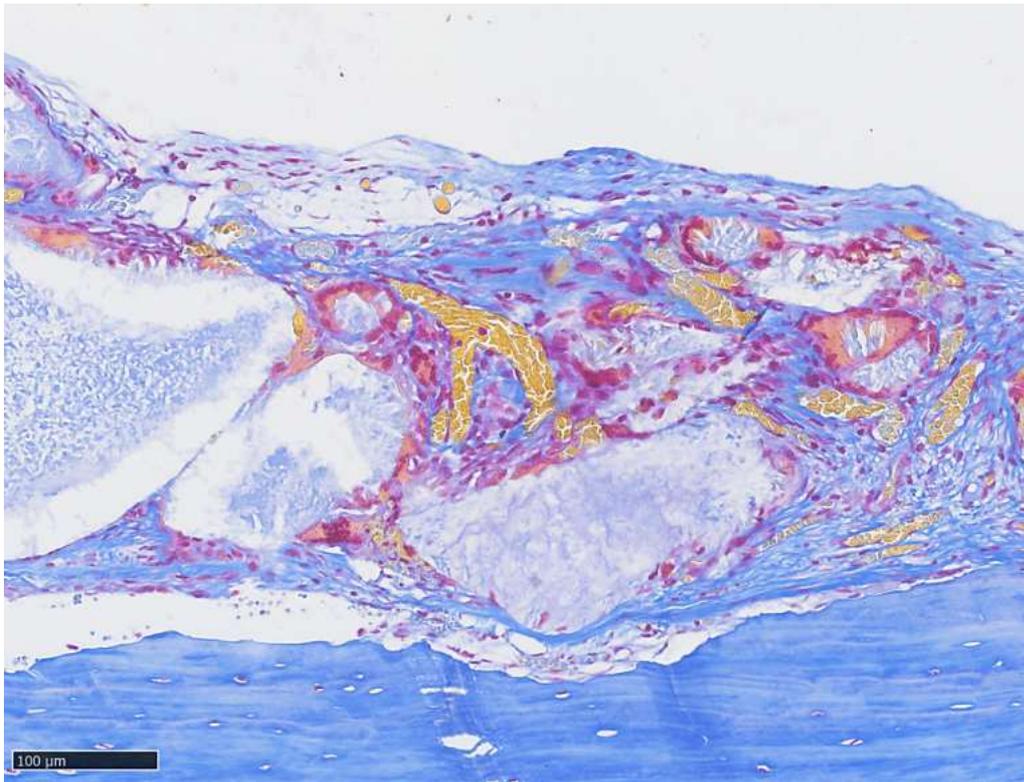


Рисунок 36 – «Нуклеостим-VEGF», 30 сутки. Полнокровные тонкостенные кровеносные сосуды около фрагментов материала

В группе «Bio-Oss» средний размер дефекта составил 2.9 ± 0.5 мм (Рисунок 35d). Пространство между краями дефекта было заполнено фрагментами имплантированного материала – гомогенного, полигонального, до 500 мкм в размере. Фрагменты окрашивались как коллаген по Маллори, и были окружены макрофагами и фиброзной тканью (Рисунок 37). Фрагменты материала были окружены единичными небольшими кровеносными сосудами. Признаков пролиферации клеток костной ткани обнаружено не было. Инфильтрация иммунными клетками не определялась.

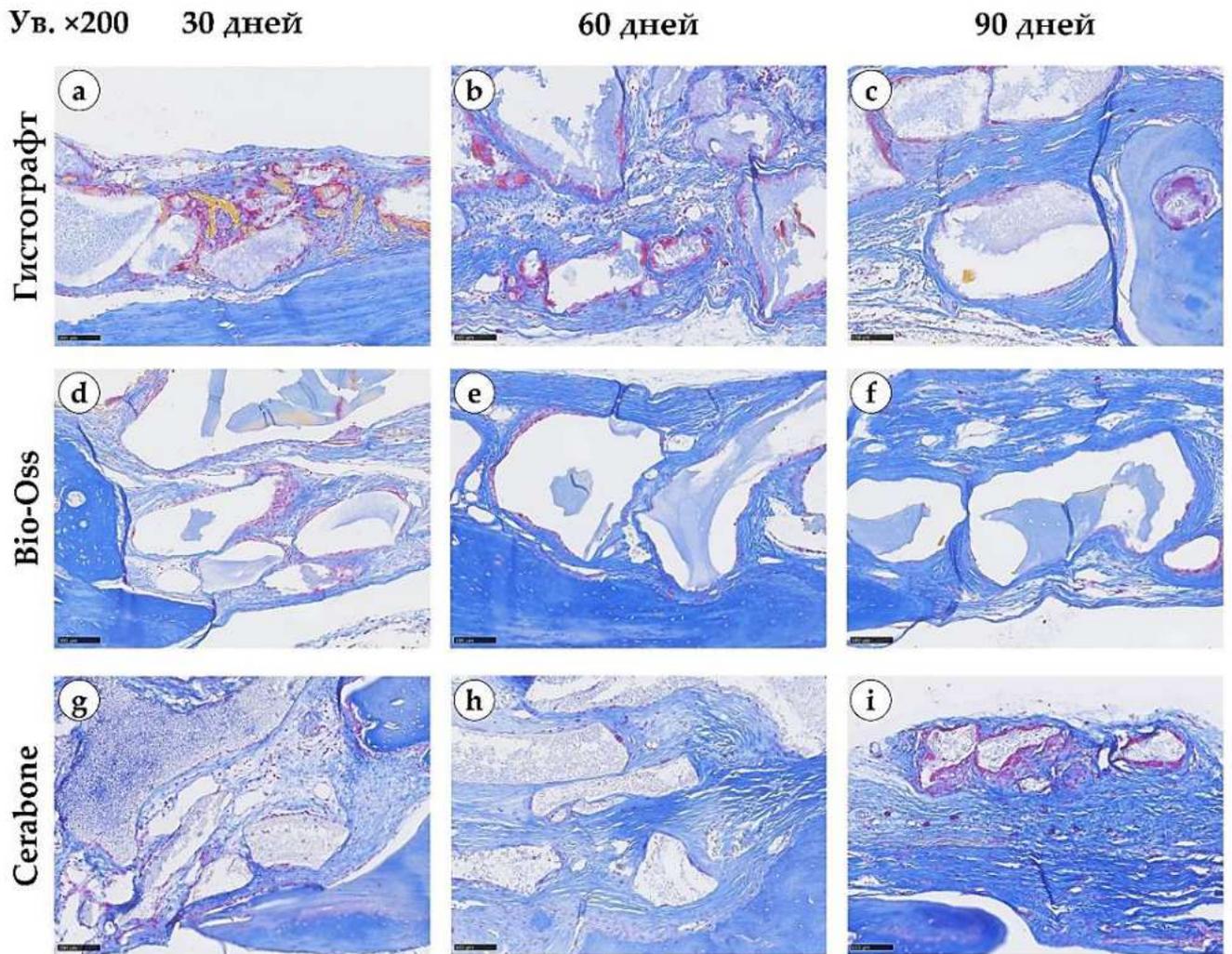


Рисунок 37 – Морфологическое исследование участков дефектов с применением остеокондуктивных материалов, окраска по Маллори, увеличение $\times 200$

В группе «Serabone» размер дефекта составил 2.8 ± 0.3 мм. В толще дефекта располагалась фиброзная ткань с фрагментами материала и очагами образования костной ткани (Рисунок 35g). Фрагменты материала были крупными, полигональными, сам материал был несколько более фрагментированным, чем в группе «Bio-Oss», содержал тонкую сеть волокон, окрашиваемых синим по Маллори. Фрагменты материала были окружены умеренным количеством полнокровных тонкостенных небольших кровеносных сосудов. При применении этого материала уже на 30 сутки определялись тонкие пластины регенерирующей костной ткани.

На 60 сутки эксперимента в группе «Нуклеостим-VEGF» определялись участки регенерации костной ткани (Рисунок 35b). В просвете между краями

раны и над тонкими участками нароста костной ткани определялась плотная упаковка фрагментами имплантированного материала. Размер дефекта составил 3.3 ± 0.7 мм, размер фрагментов материала варьировал от 200 до 500 мкм, некоторые фрагменты сливались вместе. Фрагменты материала были окружены собственной соединительнотканной капсулой из множества пучков коллагеновых волокон. На периферии этих капсул обнаруживались в основном пустые или тонкостенные кровеносные сосуды. Прирост костной ткани с краев составил 1.0–1.3 мм. Заметных признаков инфильтрации иммунными клетками обнаружено не было.

В группе «Bio-Oss» размер дефекта составил 2.2 ± 0.3 мм. С обоих краев определялись тонкие участки нарастания костной ткани над фрагментами материала, образующаяся тонкая пластина новообразованной костной ткани была почти непрерывной, но больший объем дефекта был все еще занят фиброзной тканью (Рисунок 35е). В просвете дефекта определялись единичные фрагменты материала в очень плотной соединительной ткани с единичными пустыми тонкостенными кровеносными сосудами. Края дефекта росли с погружением в себя фрагментов материала и содержали выраженные признаки пролиферации остеобластов в участках роста вокруг них.

В группе «Cerabone» в двух случаях наблюдалось восстановление дефекта, незавершенное восстановление дефекта отмечалось в одном случае, размер дефекта составил 2.5 мм (Рисунок 35h). Были обнаружены фрагменты материала размером 400–800 мкм под регенерирующей костной пластиной. Объем дефекта восстанавливался за счет толстых *de novo* образованных пластин костной ткани с выраженными признаками регенерации костной ткани (Рисунок 38).

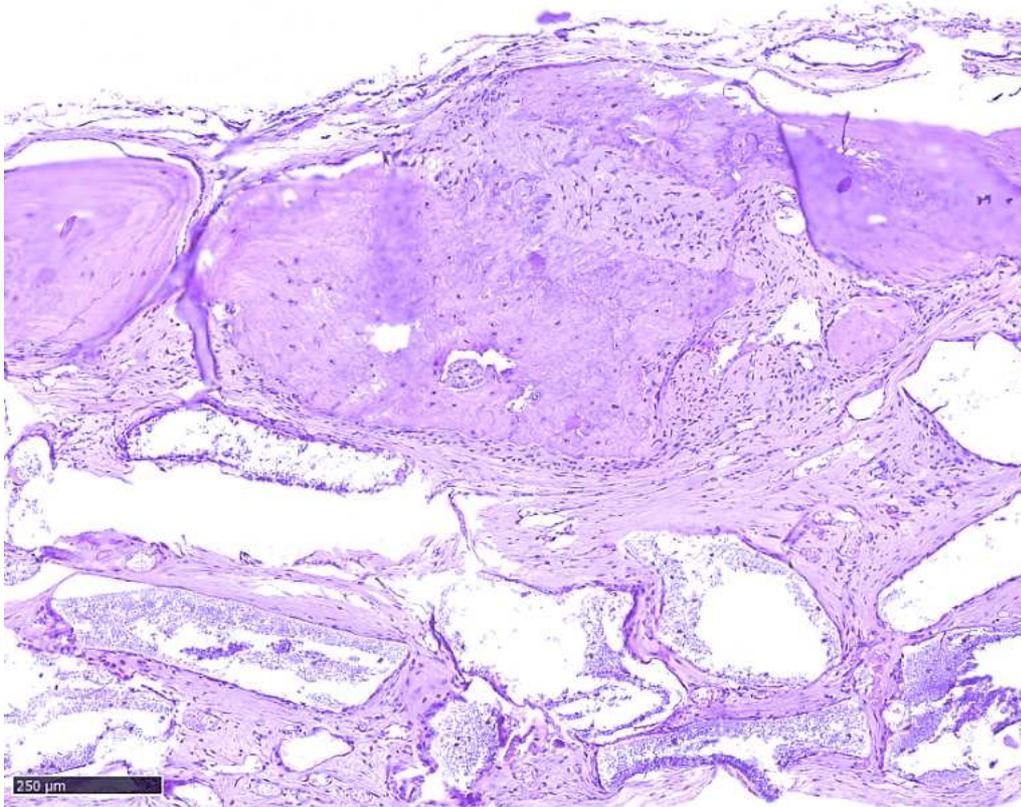


Рисунок 38 – «Cerabone» 60 суток. При применении «Cerabone» костная ткань на 60 сутки полностью восстанавливает объем дефекта, наблюдается образование новой костной ткани, миграция остеобластов

На 90 сутки эксперимента в группе «Нуклеостим-VEGF» в двух образцах отмечалось восстановление дефекта, в одном образце сохранился дефект, размер дефекта составил 3.0 ± 0.5 мм (Рисунок 35с). Единичные, но крупные (до 1 мм) фрагменты имплантированного материала определялись в центре и над краями дефекта. Дефект был заполнен фиброзной прослойкой с толщиной интактной костной пластины, $400\text{--}500$ μм. В этой прослойке между плотным внеклеточным матриксом из параллельно ориентированных пучков коллагеновых волокон определялось множество кровеносных сосудов, в основном пустых. Кровеносные сосуды на периферии соединительнотканых капсул фрагментов материала, располагавшихся под костной пластиной, были наполнены эритроцитами, определялись участки диапедезных кровоизлияний. Вероятно, данная реакция со стороны кровеносных сосудов определялась в участках роста костной ткани.

В группе «Bio-Oss» один дефект зажил, два дефекта были заполнены фиброзной тканью, размеры дефектов составили 2.3 ± 0.5 мм и 2.8 ± 0.5 мм (Рисунок

35f). Гранулы материала определялись в толще и под костной пластиной и были окружены богато васкуляризированной фиброзной тканью. В одном случае незавершенной регенерации дефекта кровеносные сосуды были полнокровными и отмечались признаки диапедезного кровоизлияния (Рисунок 39), в других двух случаях кровеносные сосуды были в основном пустыми.

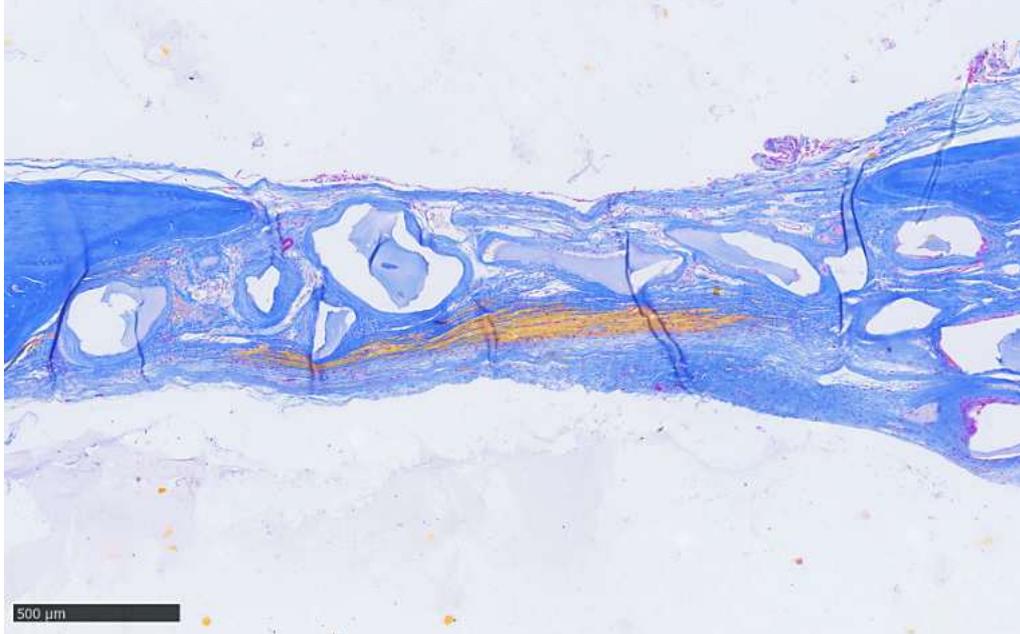


Рисунок 39 – «Bio-Oss» 90 суток. Диапедезное кровоизлияние (желтые эритроциты) под участком незавершенного восстановления дефекта

В группе «Cerabone» дефекты обнаруживались снова во всех трех образцах, размер дефекта составил 3.0 ± 0.7 мм (Рисунок 35i). В центре дефекта остались фрагменты материала, они были окружены 1-3 рядами макрофагов. Края дефекта содержали выступы роста костной ткани, около 1 мм в длину с каждого края. В толще фиброзной прослойки определялись островки костной регенерации со слабой васкуляризацией. Признаков инфильтрации иммунными клетками не было.

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

4.1. Клиническая характеристика пациентов с диагнозом «радикулярные кисты челюстей»

В исследование было включено 100 пациентов, из которых 42 (42%) составили женщины и 58 (58%) – мужчины. Средний возраст пациентов составил $36,2 \pm 5,4$ года. Пациенты были разделены на 3 группы по виду костнопластического материала для аугментации костного дефекта челюсти после цистэктомии. В каждой группе пациенты были разделены на подгруппы (А, Б) по методу лечения: удаление зуба или резекция верхушки корня с ретроградным пломбированием (Таблица 1).

Так как в экспериментальной части исследований *in vitro* и *in vivo* ксеногенные материалы «Bio-Oss» и «Cerabone» не показали существенных и статистически значимых отличий, было принято решение использовать в клиническом исследовании только материал «Cerabone».

- Пациентам 1 группы (n=32) проводилось заполнение дефекта костнопластическим материалом «Cerabone»:

В подгруппе 1А было 14 пациентов (9 мужчин, 5 женщины), которым удаляли причинный зуб, проводили цистэктомию и направленную костную регенерацию;

В подгруппе 1Б было 18 пациентов (6 мужчин, 12 женщин), у которых проводили резекцию верхушки корня причинного зуба, проводили цистэктомию и направленную костную регенерацию.

- Пациентам 2 группы (n=35) проводилось заполнение дефекта костнопластическим материалом «Нуклеостим-VEGF»:

В подгруппе 2А было 20 пациентов (12 мужчин, 8 женщины), которым удаляли причинный зуб, проводили цистэктомию и направленную костную регенерацию синтетическим материалом «Нуклеостим-VEGF» и изолировали коллагеновой мембраной;

В подгруппе 2Б было 15 пациентов (7 мужчин, 8 женщины), у которых

проводили резекцию верхушки корня причинного зуба с направленной костной регенерацией синтетическим материалом «Нуклеостим-VEGF» и изолировали коллагеновой мембраной.

- У пациентов 3 группы (n=33) после проведения цистэктомии костный дефект заполнялся кровяным сгустком:

В 3А подгруппу вошли 15 пациентов (8 мужчин, 7 женщин), которым удаляли причинный зуб;

В 3Б подгруппу вошли 18 пациентов (8 мужчин, 10 женщин), у которых проводилась резекция верхушки корня причинного зуба.

Таблица 1 – Распределение пациентов по группам исследования и полу (абс., %)

Группа исследования	Мужчины, абс., %	Женщины абс., %	Итого абс., %
1А подгруппа («Cerabone»+удаление)	9 (64%)	5 (36%)	14 (14%)
1Б подгруппа («Cerabone»+резекция)	6 (34%)	12 (66%)	18 (18%)
2А подгруппа («Нуклеостим- VEGF»+удаление)	12 (60%)	8 (40%)	20 (20%)
2Б подгруппа («Нуклеостим- VEGF»+резекция)	7 (47%)	8 (53%)	15 (15%)
3А подгруппа (сгусток+удаление)	8 (54%)	7 (46%)	15 (15%)
3Б подгруппа (сгусток+резекция)	8 (45%)	10 (55%)	18 (18%)

Распределение пациентов по полу в группах представлено в Таблице 1 и на Рисунках 40-43. Для проверки однородности групп по половому составу был применен критерий хи-квадрат. Статистически значимых различий в

распределении мужчин и женщин между группами выявлено не было ($p > 0,05$), что свидетельствует о случайном характере распределения и сопоставимости групп по данному демографическому признаку.

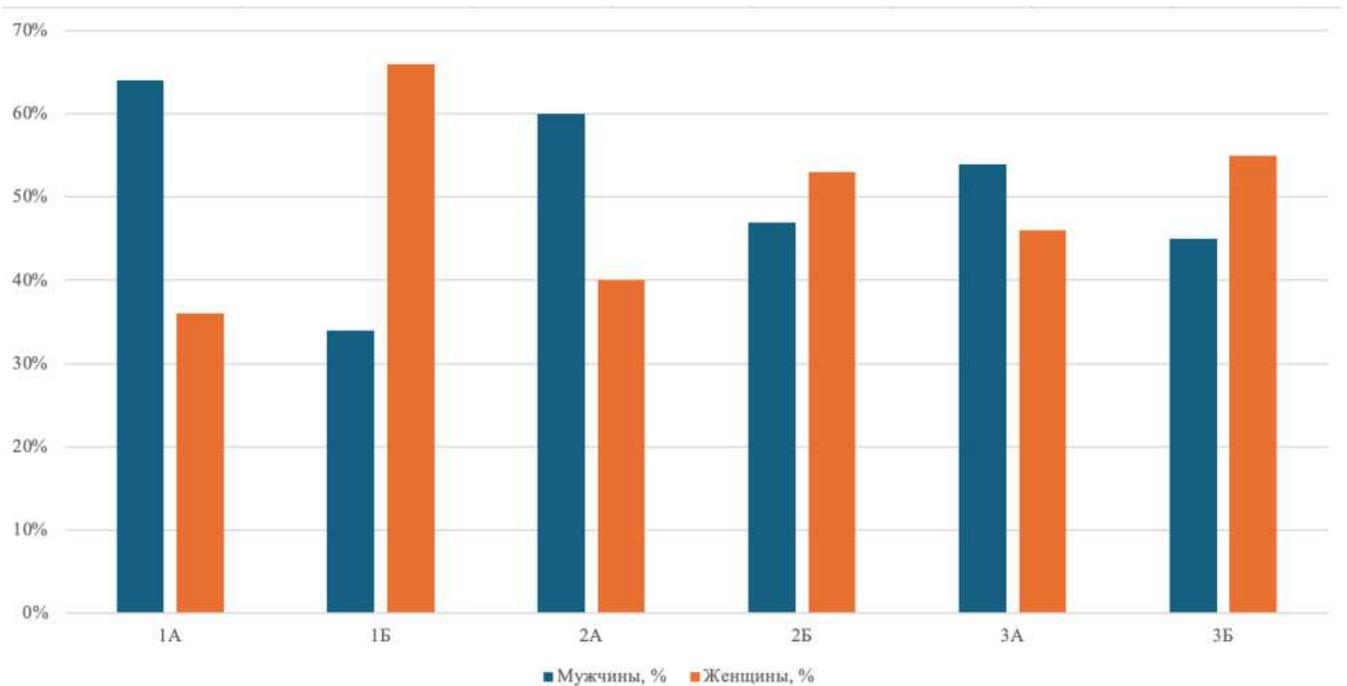


Рисунок 40 – Абсолютное соотношение по половому признаку

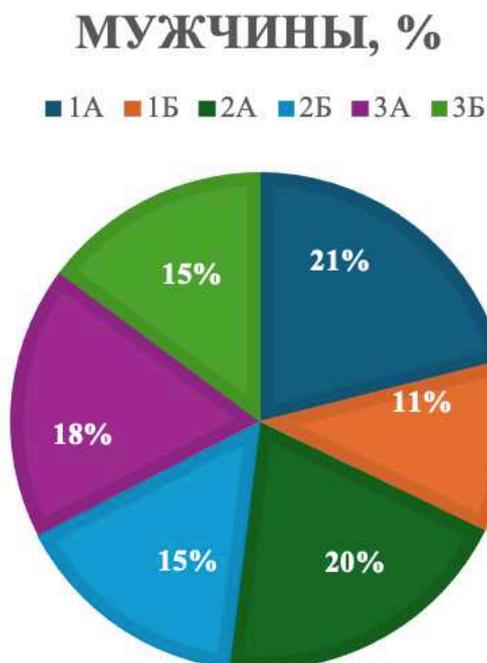


Рисунок 41 – Процентное соотношение пациентов мужского пола между

группами пациентов

ЖЕНЩИНЫ, %

■ 1А ■ 1Б ■ 2А ■ 2Б ■ 3А ■ 3Б

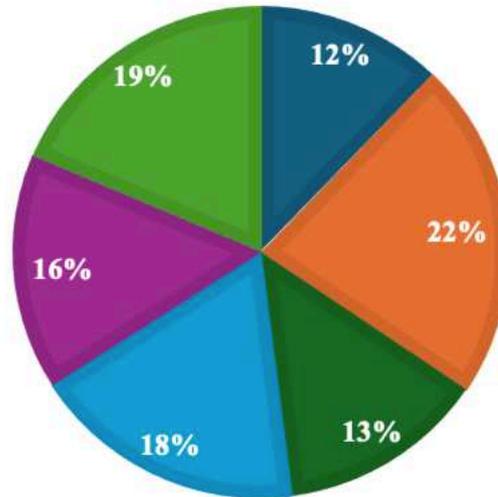


Рисунок 42 – Процентное соотношение пациентов женского пола между группами пациентов

ПРОЦЕНТНОЕ СООТНОШЕНИЕ ПАЦИЕНТОВ, %

■ 1А ■ 1Б ■ 2А ■ 2Б ■ 3А ■ 3Б

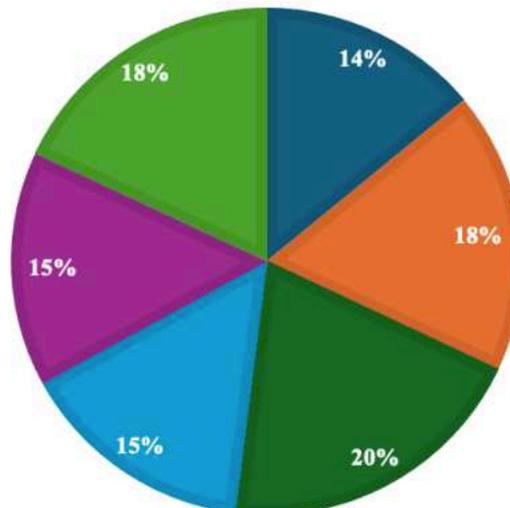


Рисунок 43 – Процентное соотношение пациентов между 6 группами

4.2. Оценка закрытия дефекта кости в области радикулярной кисты

Пациентам во всех группах проводилось КЛКТ исследование до оперативного вмешательства, через 6 и 12 месяцев. Производились замеры объема дефекта кости в проекции корня причинного зуба в аксиальной, сагиттальной и коронарной плоскостях (Таблица 2).

Таблица 2 – Среднее значение объема дефекта кости до лечения, через 6 и 12 месяцев после хирургического лечения (см³)

Группа исследования	Среднее значение объема дефекта кости до лечения (см³)	Среднее значение объема дефекта кости через 6 мес. (см³)	Среднее значение объема дефекта кости через 12 мес., (см³)
1А подгруппа («Cerabone»+удаление)	2,05	0,028	0,01
1Б подгруппа («Cerabone»+резекция)	1,384	0,038	0,021
2А подгруппа («Нуклеостим-VEGF»+удаление)	1,738	0,116	0,087
2Б подгруппа («Нуклеостим-VEGF»+резекция)	1,558	0,218	0,074
3А подгруппа (сгусток+удаление)	1,523	0,5	0,440
3Б подгруппа (сгусток+резекция)	2,167	0,792	0,658

В 1А подгруппе отмечалось полное закрытие дефекта кости после удаления причинных зубов и проведенной цистэктомии с заполнением полости материалом «Cerabone» уже на 6 месяце после оперативного вмешательства. Лечение продемонстрировало высокую эффективность в закрытии дефектов – 98,04% с

низким средним остаточным дефектом – 1,96% по данным КЛКТ уже через 6 месяцев. Для 75% пациентов закрытие дефекта составляет не менее 99,41%, а остаточный дефект – не более 2,20%. Это показывает стабильно хорошие результаты у большинства пациентов уже через 6 месяцев. В данной группе отмечалось очень низкое стандартное отклонение – 1,72%.

В 2А подгруппе отмечалось полное закрытие дефекта кости после удаления причинных зубов и проведенной цистэктомии с заполнением полости материалом «Нуклеостим-VEGF» (ООО «Гистографт»). У всех пациентов наблюдалось значительное сокращение объема дефекта кости после оперативного вмешательства, средний процент закрытия дефекта составил 97,764%, стандартное отклонение составило 0,127 см³ что свидетельствует о высокой эффективности исследуемого материала.

В 3А подгруппе пациентов, которым проводилось удаление причинных зубов и цистэктомия с заполнением дефекта собственной кровью пациентов наблюдалось не полное закрытие дефекта, возможно дефекты, заполненные преимущественно неминерализованной тканью. Средняя эффективность закрытия дефектов – 67,59%, значительно ниже, чем в первой группе пациентов при 98,04%. Высокое стандартное отклонение 11,85% говорит о непредсказуемости результатов методики с ведением полости кисты под сгустком крови, ввиду неконтролируемой инвагинации эпителия в полость дефекта кости. Результаты подтверждают ограниченную эффективность метода для полного восстановления костных дефектов, для чего необходимо проведение повторных остеопластических операций с целью восстановления необходимого объема для проведения отсроченной дентальной имплантации.

В 1Б подгруппе отмечалось полное закрытие дефекта кости после резекции верхушки корня причинного зуба, проведенной цистэктомии с заполнением полости материалом «Cerabone». Среднее закрытие дефекта составило 98,11%, что указывает на высокую эффективность использования материала «Cerabone». Выборочное стандартно отклонение составило 0,913%, что также свидетельствует о его высокой эффективности (Таблица 3).

В 2Б подгруппе отмечалось полное закрытие дефекта кости после резекции верхушки корня причинного зуба, проведенной цистэктомии с заполнением полости материалом «Нуклеостим-VEGF». Средний процент закрытия дефектов составил 96,60%, а стандартное отклонение составило 0,010 см³, разброс значений остаточного объема дефектов после лечения значительно снизился, что подтверждает надёжность материала «Нуклеостим-VEGF» (ООО «Гистографт») для восстановления костных дефектов, но демонстрирует более низкую эффективность в сравнении с ксеногенным материалом «Cerabone».

В 3Б подгруппе отмечалось неполное закрытие дефекта кости после резекции верхушки корня причинного зуба, проведенной цистэктомии с заполнением полости собственной кровью пациента. Низкая средняя эффективность: среднее закрытие дефекта – 64,13%, средний остаточный дефект – 25,87%. Результаты значительно хуже, чем в группе 1Б с применением «Cerabone» – 98,05%. Выборочное стандартное отклонение составило 24,88%, что является самым высоким показателем среди всех подгрупп, из чего следует вывод о низкой эффективности метода. В подгруппе 3Б только 25% пациентов имеют остаточный дефект объемом более 37,5%. Только 10 из 18 пациентов достигли более 95% закрытия. У большинства пациентов остаточный дефект составил более 16,67%. Средний остаток 25,87% соответствует преимущественно формированию соединительного репарата вместо костного.

В обеих подгруппах 3А и 3Б, где не использовались остеопластические материалы, отмечался наихудший результат. В подгруппе 3А средний процент закрытия дефекта составил всего 71% через 12 месяцев, а в подгруппе 3Б – всего 67,65% через 12 месяцев, что говорит о выраженной прогрессирующей атрофии кости альвеолярного гребня челюсти и соответственно подтверждает недостаточную эффективность данного метода для полноценного восстановления костной ткани (Таблица 3).

В результате анализа среднего процента закрытия дефекта установлено, что наивысший процент закрытия костного дефекта через 6 месяцев наблюдался в подгруппе 1Б, где средний показатель составил 98,11%. Высокий результат также

зафиксирован в подгруппе 1Б (98,11%). Через 12 месяцев подгруппы 1А и 1Б с использованием остеопластического материала «Cerabone» достигли 99% закрытия дефекта, что свидетельствует о завершённой регенерации костной ткани. Также удовлетворительная динамика восстановления наблюдалась в подгруппах 2А и 2Б, где прирост закрытия дефекта с 6 до 12 месяцев составил +1,056% и +2,4% соответственно, что указывает на продолжение остеогенеза в отдалённые сроки, но говорит о замедленной остеокондукции (Таблица 3).

Таблица 3 – Средний % закрытия дефекта кости через 6 и 12 месяцев после хирургического лечения (%)

Группа исследования	Средний % закрытия дефекта кости через 6 мес. (%)	Средний % закрытия дефекта кости через 12 мес., (%)
1А подгруппа («Cerabone»+удаление)	98,04±0,029	99,0±0,001
1Б подгруппа («Cerabone»+резекция)	98,11±0,016	99,0±0,001
2А подгруппа («Нуклеостим-VEGF»+удаление)	97,764±0,34	98,82±0,02
2Б подгруппа («Нуклеостим-VEGF»+резекция)	96,60±0,15	98,0±0,03
3А подгруппа (сгусток+удаление)	67,589±1,26	71,0±0,68
3Б подгруппа (сгусток+резекция)	64,23±1,15	67,65±0,87

Наибольший остаточный объем дефекта кости зафиксирован в группах с ведением дефекта под кровяным сгустком: подгруппа 3А – 0,556 см³, подгруппа 3Б – 0,792 см³. Применение материала «Cerabone» в группе 1А и 1Б обеспечивает снижение остаточного объема дефекта кости в 7–10 раз по сравнению с группами 3А и 3Б, что подтверждается минимальным разбросом данных (±0,016-0,029)

(Таблица 4). Наименьшее стандартное отклонение также отмечается у подгрупп с материалом «Cerabone», что говорит о предсказуемости результатов лечения (Рисунок 40).

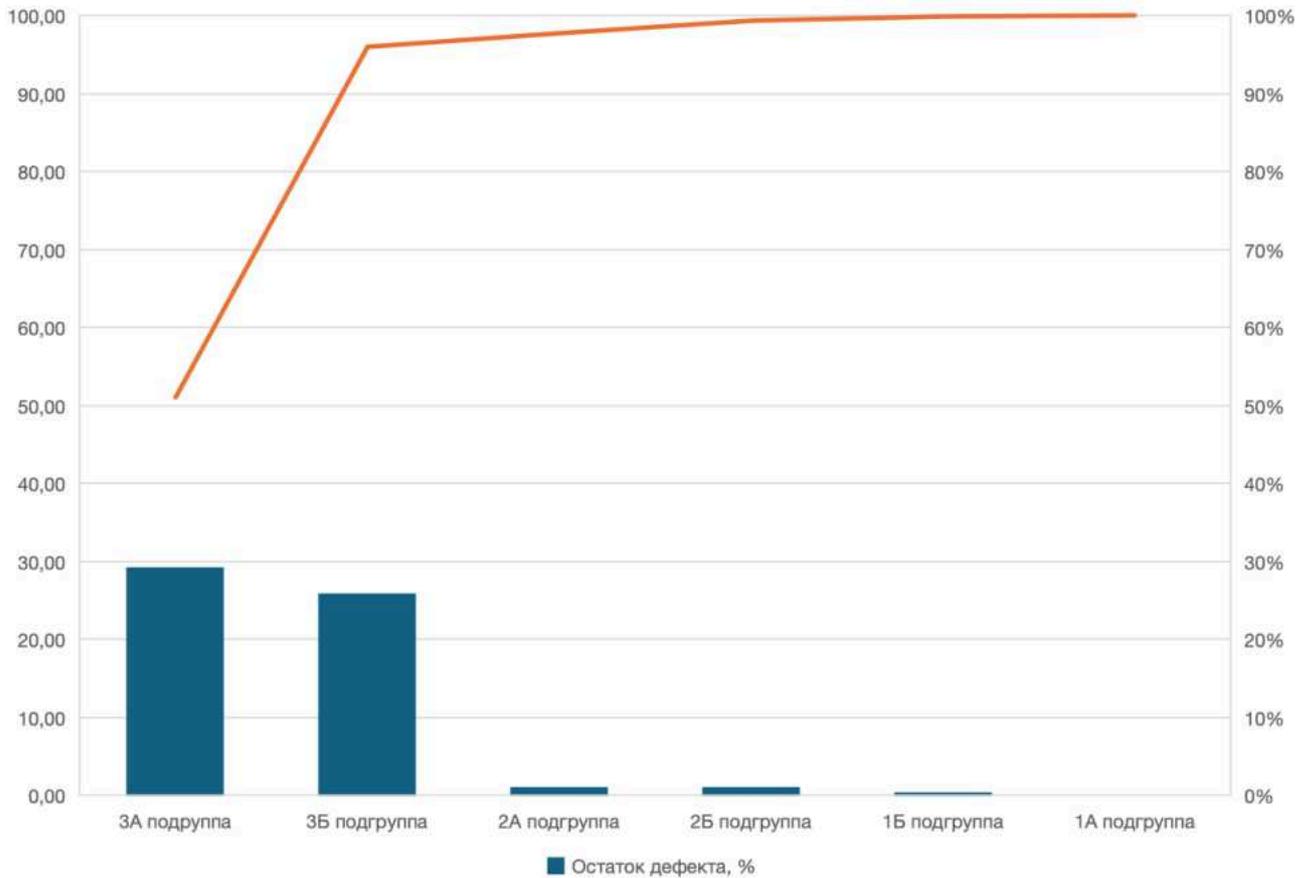


Рисунок 44 – Средний % закрытия дефекта кости через 12 месяцев после хирургического лечения

При использовании «Cerabone» и «Нуклеостим-VEGF» не выявлено статистически значимых различий в восстановлении объема дефекта в подгруппах с удалением зуба и резекцией корня ($p=0,447$ и $p=0,32$). В подгруппах с ведением дефектов под кровяным сгустком также нет различий между методами ($p=0,610$) (Таблица 4). Анализ результатов, представленных в Таблице 4, демонстрирует выраженную положительную динамику репаративного остеогенеза во всех исследуемых подгруппах.

Наиболее интенсивное замещение дефектов костной тканью наблюдалось в подгруппах 1А и 1Б. В подгруппе 1А объем дефекта через 6 месяцев достигал значений $0,027 \pm 0,016 \text{ см}^3$, а к 12 месяцу достиг минимальных значений – $0,003 \pm 0,006 \text{ см}^3$, что указывает на полное восстановление кости в области дефекта

радикулярной кисты. В подгруппе 1Б также зафиксировано уменьшение объема с $0.018 \pm 0.05 \text{ см}^3$ на сроке 6 месяцев до $0.008 \pm 0.004 \text{ см}^3$ через 12 месяцев.

В подгруппах 2А и 2Б к 12 месяцу отмечается формирование костного репарата ($0.042 \pm 0.011 \text{ см}^3$ и $0.009 \pm 0.007 \text{ см}^3$ соответственно).

В подгруппах 3А и 3Б объем дефекта через 6 месяцев составлял $0.316 \pm 0.02 \text{ см}^3$ и $0.256 \pm 0.182 \text{ см}^3$ соответственно, а к 12 месяцу установился на уровне $0.284 \pm 0.02 \text{ см}^3$ и $0.205 \pm 0.031 \text{ см}^3$, что вероятно, связано с инвагинацией эпителия в зону постоперационного дефекта кости челюсти.

Таблица 4 – Результаты клинических исследований. Средний объем дефекта кости до операции, через 6 и 12 месяцев после операции (см^3).

Группа исследования	Средний объем дефекта до операции (см^3)	Средний объем дефекта через 6 мес. (см^3)	Средний объем дефекта через 12 мес. (см^3)
1А подгруппа (Cerabone+удаление)	2.05±1.15	0.027±0.016	0.003±0.006
1Б подгруппа (Cerabone+резекция)	1.43±1.32	0.018±0.05	0.008±0.004
2А подгруппа (Нуклеостим-VEGF+удаление)	0.86±1.40	0.160±0.326	0.042±0.011
2Б подгруппа (Нуклеостим-VEGF+удаление)	0.56±0.54	0.037±0.029	0.009±0.007
3А подгруппа (сгусток+удаление)	1.74±1.04	0.316±0.02	0.284±0.02
3Б подгруппа (сгусток+резекция)	1.05±0.92	0.256±0.182	0.205±0.031

4.3. Оценка плотности костного репарата в области дефекта кости

Согласно показателям средней интенсивности плотности костной ткани в области дефектов кости (Таблица 5), наблюдается различная динамика между группами исследования на 6-м и 12-м месяце наблюдения.

Группы 1А и 1Б демонстрируют абсолютную стабильность показателя плотности кости. Значения остаются почти неизменными к 12 месяцам исследований (1180.0 ± 21.10 и 1200.04 ± 76.12 соответственно), что указывает на отсутствие негативной динамики и сохранение целостности костной ткани на протяжении всего годичного периода исследования.

Подгруппы 2А и 2Б показывают менее высокие значения плотности в сравнении с подгруппами 1А и 1Б (1150.47 ± 14.54 и 1119.67 ± 49.12 соответственно), что, несомненно, свидетельствует о благоприятном исходе лечения, но в тоже время демонстрирует сниженные остеокондуктивные свойства материала «Нуклеостим-VEGF». Несмотря на то, что исходные объемы дефектов в этих группах были меньше в сравнении с подгруппами 1А и 1Б (Таблица 4), достигнутое сочетание минимального остаточного объема и высокой плотности новообразованной ткани подтверждает эффективность применявшихся остеопластического синтетического материала (Таблице 5).

Таблица 5 – Средняя интенсивность плотности, рассчитанная на 6 и 12 месяц

Группа исследования	Средняя интенсивность плотности (Average) на 6 месяц	Средняя интенсивность плотности (Average) на 12 месяц
1А подгруппа (Cerabone+удаление)	1151.3 ± 29.03	1180.0 ± 21.10
1Б подгруппа (Cerabone+резекция)	1135.17 ± 96.18	1200.04 ± 76.12
2А подгруппа (Нуклеостим-VEGF+удаление)	1082.17 ± 45.76	1150.47 ± 14.54
2Б подгруппа (Нуклеостим-VEGF+удаление)	1095.67 ± 52.31	1119.67 ± 49.12
3А подгруппа (сгусток+удаление)	230.17 ± 171.39	630.17 ± 171.39
3Б подгруппа (сгусток+резекция)	254.00 ± 43.62	734.00 ± 154.62

Напротив, в подгруппах 3А и 3Б зафиксирована выраженная положительная динамика. К 12-му месяцу в подгруппе 3Б средний показатель плотности значимо вырос с 254.00 ± 43.62 до 734.00 ± 154.62 , а в подгруппе 3А – с 230.17 ± 171.39 до 630.17 ± 171.39 . Несмотря на трехкратное увеличение, итоговые значения в этих подгруппах остаются существенно ниже, чем в подгруппах 1А и 1Б.

Несмотря на преимущество ксеногенного материала «Cerabone» по величине остаточного дефекта в подгруппах 1А и 1Б (0.003 ± 0.006 и 0.008 ± 0.004 соответственно), ген-активированный материал «Нуклеостим-VEGF» может быть рекомендован к использованию для аугментации после цистэктомии. Метод с заполнением собственной кровью пациента не рекомендовано использовать при работе с большими дефектами, ввиду высокого риска неполного восстановления кости и необходимости повторных вмешательств.

4.4. Характеристика заживления в области оперативного вмешательства

У большинства пациентов всех групп послеоперационный период протекал без осложнений. Обычно, послеоперационное воспаление длилось $7 \pm 0,3$ ($p < 0,05$) суток и благополучно разрешалось на фоне рекомендаций.

Анализ динамики болевого синдрома в исследуемых группах показывает четкую тенденцию к снижению интенсивности боли к 14 суткам наблюдения. Во всех без исключения группах к 14 суткам зафиксировано полное купирование болевого синдрома, что свидетельствует о благоприятном течении послеоперационного периода у всех пациентов, вне зависимости от групповой принадлежности (Рисунок 45).

Самый высокий уровень боли среди подгрупп, где использовались остеопластические материалы, на 1 сутки зафиксирован в подгруппе 2Б (2,6 балла). Наименьший болевой синдром испытывают пациенты подгруппы 1Б (1,6 балла). К 3 суткам боль усиливается практически во всех группах, что связано с развитием послеоперационного воспаления. Самый высокий показатель зафиксирован в подгруппе 2Б (5,1 балла), а наименьший уровень боли в подгруппе 1Б (4,6 балла).

К 7 суткам происходит резкое снижение болевого синдрома во всех группах, что свидетельствует о начале активной фазы заживления и регенерации. Наименьший уровень боли отмечался в подгруппе 3А (0,3 балла) и 3Б (0,2 балла). В группах 1А, 1Б, 2А, 2Б отмечается значительное уменьшение болевого синдрома по сравнению с 1 и 3 сутками, но в сравнении с подгруппами 3А и 3Б остается выше (0,5 баллов).

На 14 сутки в подгруппах болевой синдром полностью купирован (среднее значение равно 0).

Подгруппа 3Б демонстрирует наилучшую динамику снижения боли: низкие показатели на 1 сутки (1,4 балла), умеренный пик на 3 сутки (2,4 балла) и самые низкие значения на 7 сутки (0,2). Пациенты в подгруппах 2А и 2Б, напротив, отмечали самый высокий уровень боли на 1 и 3 сутки, что объясняется активацией неоангиогенеза в области дефекта.

Таблица 6 – Среднее значение результатов клинической оценки постоперационной боли у пациентов исследуемых групп

Группа исследования	1 сутки	3 сутки	7 сутки	14 сутки
1А подгруппа (Serabone+удаление)	1,8	5,125	0,5	0
1Б подгруппа (Serabone+резекция)	1,6	4,2	0,5	0
2А подгруппа (Нуклеостим-VEGF+удаление)	2,3	5,3	0,5	0
2Б подгруппа (Нуклеостим-VEGF+удаление)	2,6	5,1	0,6	0
3А подгруппа (сгусток+удаление)	1,8	3,2	0,3	0
3Б подгруппа (сгусток+резекция)	1,4	2,4	0,2	0

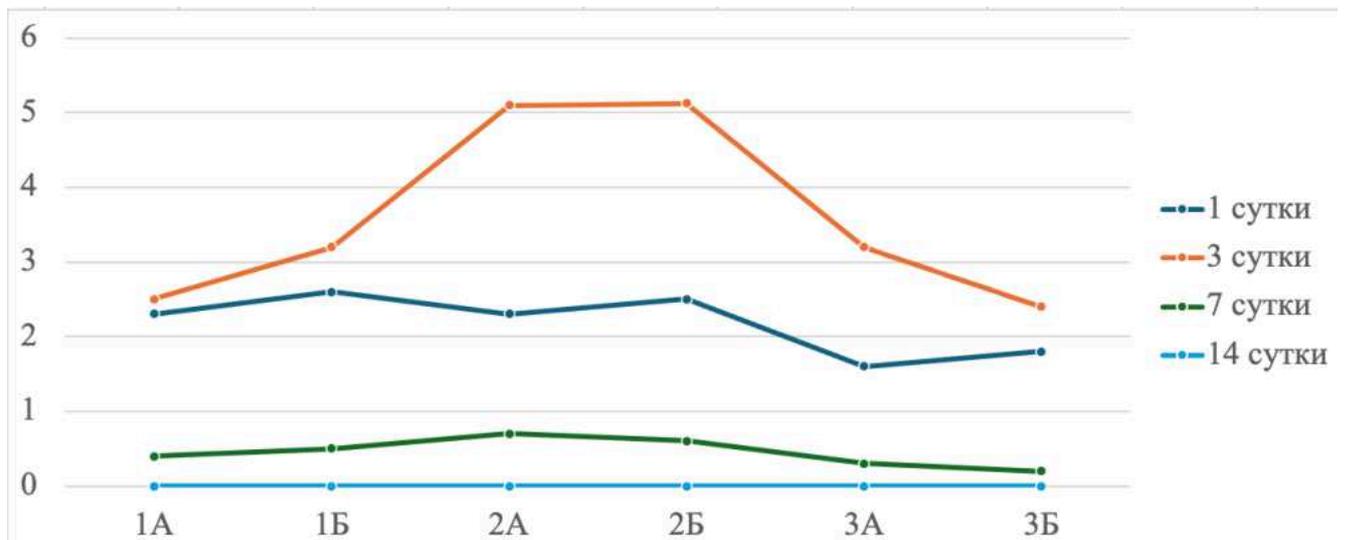


Рисунок 45 – оценка интенсивности боли у пациентов в постоперационный период

С помощью индекса **HI (Healing Index of Landry, Turnbull and Howley)** у пациентов проводилась клиническая оценка эпителизации ран и выраженности воспаления на 1, 3, 7 и 14 сутки. Во всех исследуемых группах наблюдалась устойчивая положительная динамика регенерации тканей на протяжении всего периода наблюдения. К 14 суткам во всех группах результат достигает максимального значения (5 баллов), что свидетельствует о полном клиническом выздоровлении всех пациентов независимо от группы (Рисунок 46).

Начальные показатели во всех группах примерно одинаковы и находятся в диапазоне от 1,7 до 2,0. Наименьший стартовый показатель зафиксирован в группах 3А и 3Б (1,7 балла), в то время как группы 2А и 2Б демонстрируют чуть более высокий средний балл (2,0 балла).

К 3 суткам среди всех групп наибольшее среднее значение отмечается в подгруппах 3А и 3Б (по 3,0 балла). Подгруппы 1А и 1Б достигают значений – 3,0 балла и 2,8 балла соответственно. Наименьший прирост на этом этапе наблюдается в подгруппах 2А и 2Б (2,5 балла), что говорит о более медленной эпителизации тканей.

На 7 сутки среднее значение заживления тканей увеличивается в подгруппах 1А, 1Б, 3А и 3Б – 4,5 балла. Наименьшие значения на этом сроке зафиксированы в подгруппах 2А и 2Б (3,2 балла), что указывает на замедление

процесса заживления в этих подгруппах по сравнению с другими. Также следует отметить, что у всех пациентов подгрупп 2А и 2Б отмечалась стойкая гиперемия и коллатеральный отек, что вероятнее всего связан с активным неоангиогенезом в области оперативного вмешательства. К 14 суткам в подгруппах 1А, 1Б, 3А и 3Б результаты показали полное заживление тканей (Рисунок 42).

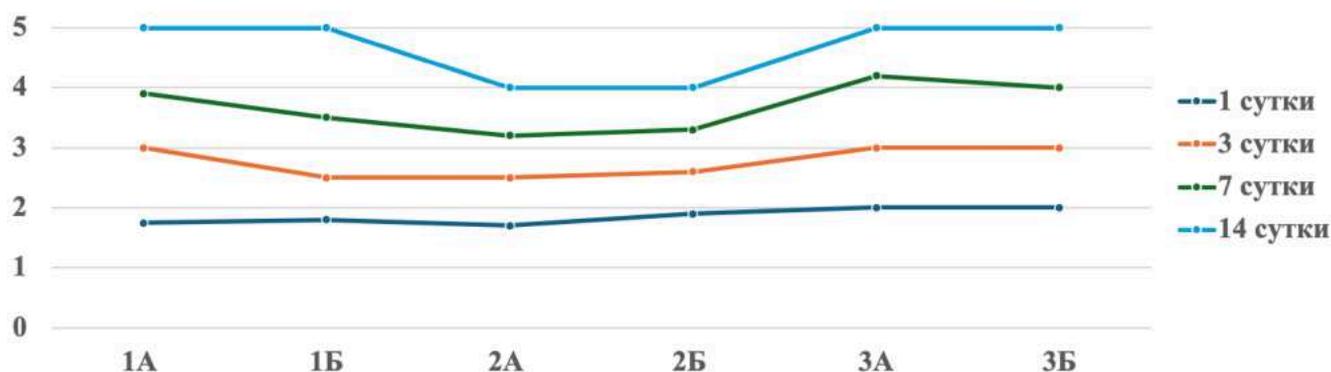


Рисунок 46 – клиническая оценка эпителизации ран и выраженности воспаления у пациентов в постоперационный период

В постоперационном периоде во всех исследуемых группах случаев гнойно-воспалительных осложнений, отторжения материалов или выраженных болевых синдромов зафиксировано не было. Рентгенологическая оценка регенерации костной ткани в области дефектов радикулярных кист у пациентов на сроках 6 и 12 месяцев соответствовала стадиям формирования костного репарата без признаков остеолита или секвестрации, что коррелирует с данными об уменьшении объема дефекта (Таблица 4).

4.5. Клинические примеры

Клинический пример 1

Удаление зуба и заполнение дефекта кости костнопластическим материалом «Cerabone». Пациент 3. 35 лет обратился в отделение хирургической стоматологии ФГБУ НМИЦ «ЦНИИСиЧЛХ» Минздрава России с жалобами на наличие радикулярной кисты. При объективном обследовании открывание рта свободно, визуально слизистая оболочка рта нормально увлажнена, бледно-

розового цвета. Зубы 1.6, 1.5, 1.4 ранее не пролечены эндодонтически, перкуссия зубов 1.6, 1.5, 1.4 отрицательная, пальпация безболезненна (Рисунок 47).



Рисунок 47 – Пациент 3. 35 лет, до оперативного вмешательства

В просвете полостного образования, отесняющего дно альвеолярной бухты верхней челюсти с ее деформацией в виде купола, отмечается остаток корня зуба 1.5. Костный купол имеет толщину стенок 1-2,5 мм. Утолщения слизистой верхнечелюстной пазухи (далее – ВЧП) не выявлено (Рисунок 48).

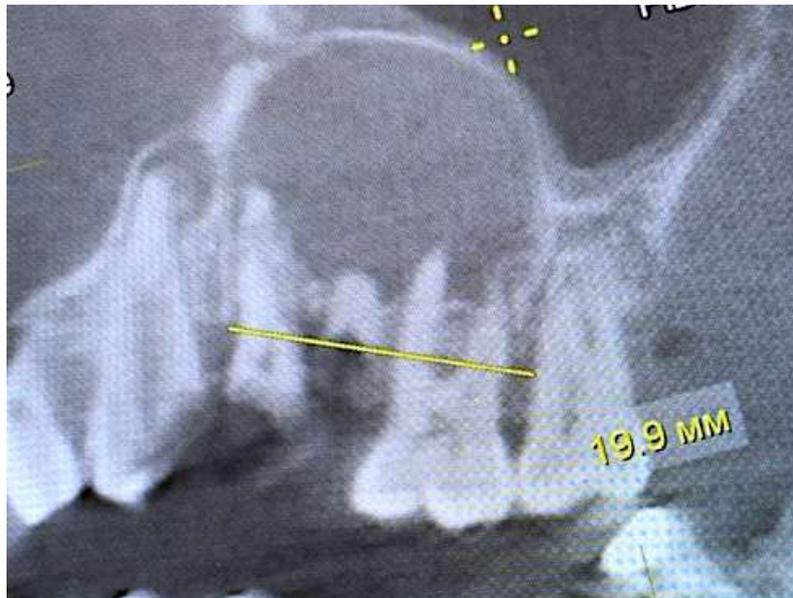


Рисунок 48 – Данные КЛКТ пациента 3., объем радикулярной кисты 2,3 см³

Под местной инфильтрационной анестезией Sol. Ultracaini DS Forte выполнен трапециевидный разрез в проекции зубов 1.7, 1.6, 1.5, 1.4 с переходом

на бугор верхней челюсти. Удалены зубы 1.6, 1.5, 1.4, проведена цистэктомия, целиком удалена оболочка полостного образования. Костная полость герметична, перфорации в верхнечелюстной синус не выявлено, стенки дефекта плотные и неподвижные, что позволяет провести аугментацию дефекта кости. В полость дефекта плотно уложен ксеногенный костнопластический материал «Cerabone» (Рисунок 49).

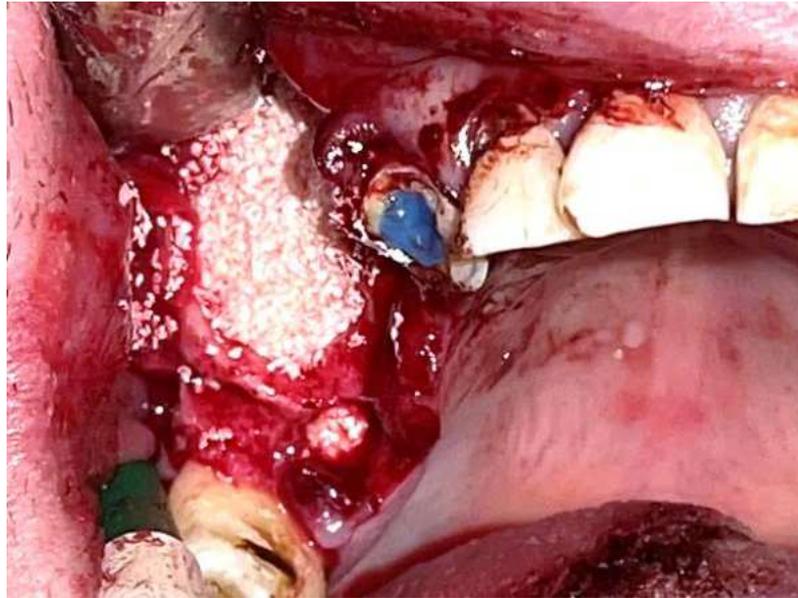


Рисунок 49 – Полость дефекта, заполненная костнозамещающим материалом «Cerabone»

Проведена аугментация дефекта кости и лунок удаленных зубов. Материал изолирован стерильной коллагеновой мембраной «Jason» (Рисунок 50).

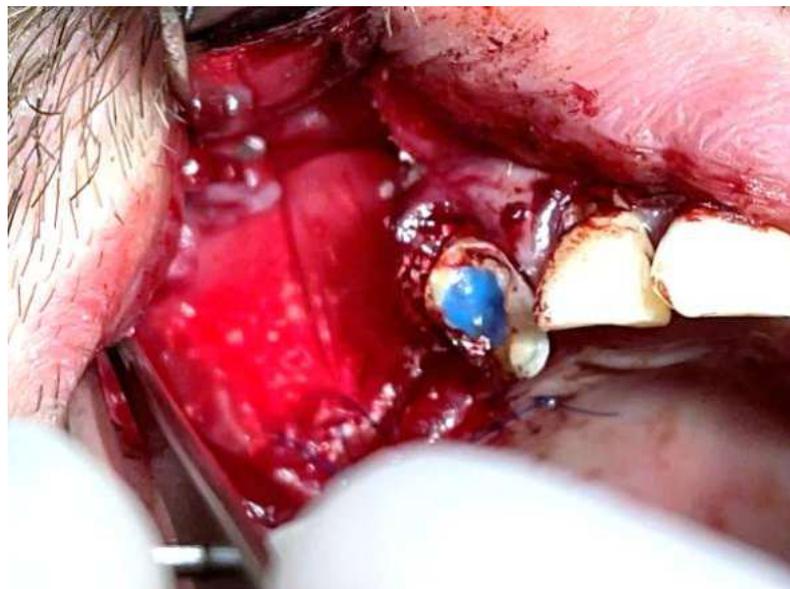


Рисунок 50 – Изоляция дефекта коллагеновой резорбируемой мембраной «Jason»

Мобилизован слизисто-надкостничный лоскут, фиксирован без натяжения матрацными и узловыми швами материалом Monosyn 4/0. Через 6 месяцев произведена контрольная КЛКТ. По данным КЛКТ, сформирован плотный костный репарат в полости дефекта с незначительным фиброзом в нескольких областях репарата по гребню альвеолярного отростка. Данные условия позволяют в дальнейшем проведение дентальной имплантации в области отсутствующих зубов 1.6, 1.5, 1.4 (Рисунок 51).



Рисунок 51 – КЛКТ через 6 месяцев после оперативного вмешательства

Клинический пример 2

Пациентка К., 30 лет обратилась в отделение хирургической стоматологии ФГБУ НМИЦ «ЦНИИСиЧЛХ» Минздрава России с жалобами на наличие радикулярной кисты. При объективном обследовании открывание рта свободно, визуальна слизистая оболочка рта нормально увлажнена, бледно-розового цвета. Зубы 2.6 и 2.7 ранее не пролечены эндодонтически, перкуссия зубов отрицательная, пальпация безболезненна.

В просвете полостного образования, отесняющего дно альвеолярной бухты верхней челюсти с ее деформацией в виде купола с толщиной стенок – 4 мм без утолщения слизистой ВЧП. На КЛКТ также отмечается резорбция медиально-щечного и дистального-щечного корней зуба 2.6, а также щечного корня зуба 2.7 (Рисунок 52).

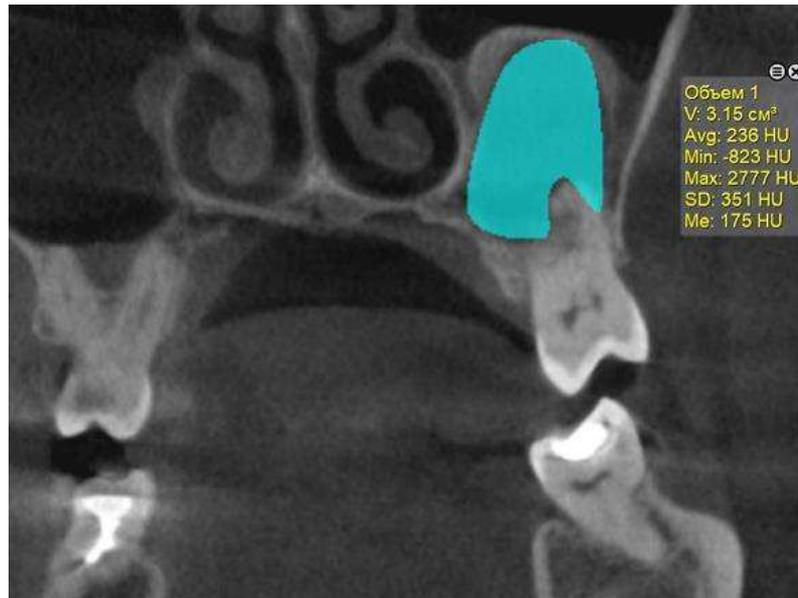


Рисунок 52 – Данные КЛКТ пациентки З. перед удалением зубов 2.6 и 2.7 и цистэктомии

Под местной инфильтрационной анестезией Sol. Ultracaini DS Forte выполнен трапециевидный разрез в проекции зубов 2.7, 2.6, 2.5, зубы 2.6 и 2.7 удалены, проведена цистэктомия, целиком удалена оболочка полостного образования. Костная полость герметична, перфорации в ВПЧ не выявлено, стенки дефекта плотные и неподвижные, что позволяет провести аугментацию дефекта кости. В полость дефекта плотно уложен ксеногенный костнопластический материал «Cerabone». Материал изолирован стерильной коллагеновой мембраной «Jason».

Мобилизован слизисто-надкостничный лоскут, фиксирован без натяжения матрацными и узловыми швами материалом Monosyn 4/0. Через 6 месяцев проведено контрольное КЛКТ (Рисунок 53).



Рисунок 53 – КЛКТ пациентки З. через 6 месяцев после оперативного вмешательства

По данным КЛКТ, сформирован плотный костный репарат в полости дефекта с незначительным фиброзом в нескольких областях в верхней его части. Данные условия позволяют проведение дентальной имплантации в области отсутствующих зубов (Рисунок 54).

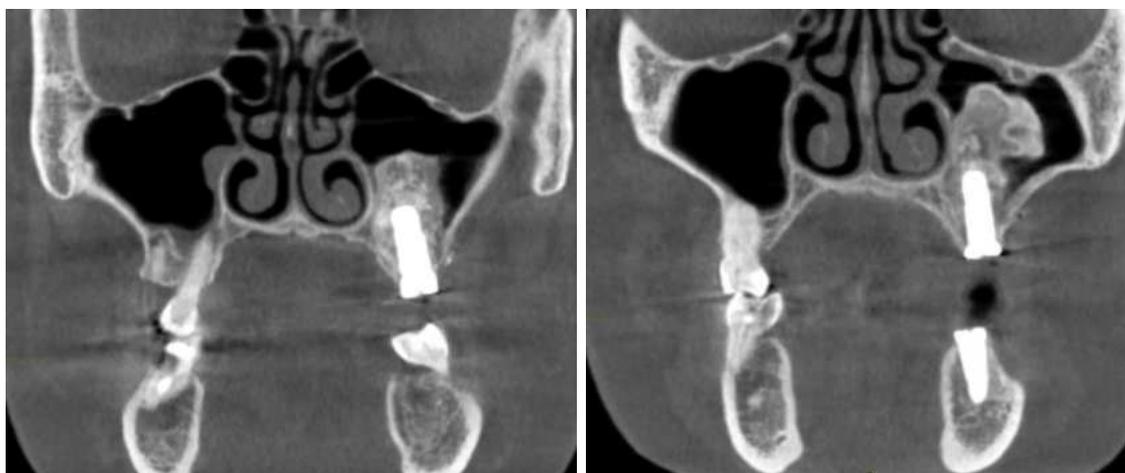


Рисунок 54– Установлены дентальные имплантаты в области отсутствующих зубов 2.6 и 2.7 через 6 месяцев, торк – 50Нсм

Клинический пример 3

Удаление зуба и заполнение дефекта кровяным сгустком. Пациентка Ж. 32 лет обратилась в отделение хирургической стоматологии ФГБУ НМИЦ «ЦНИИСиЧЛХ» Минздрава России с жалобами на наличие радикулярной кисты.

При объективном обследовании открывание рта свободно, визуально слизистая оболочка рта нормально увлажнена, бледно-розового цвета. Зубы 3.7, 3.6, 3.5 ранее не пролечены эндодонтически, перкуссия зубов 3.7, 3.5 отрицательная, перкуссия зуба 3.6 слабоболезненна, пальпация безболезненна (Рисунок 55, 56). На КЛКТ отмечается резорбция межзубной перегородки, что является показанием к удалению зуба.

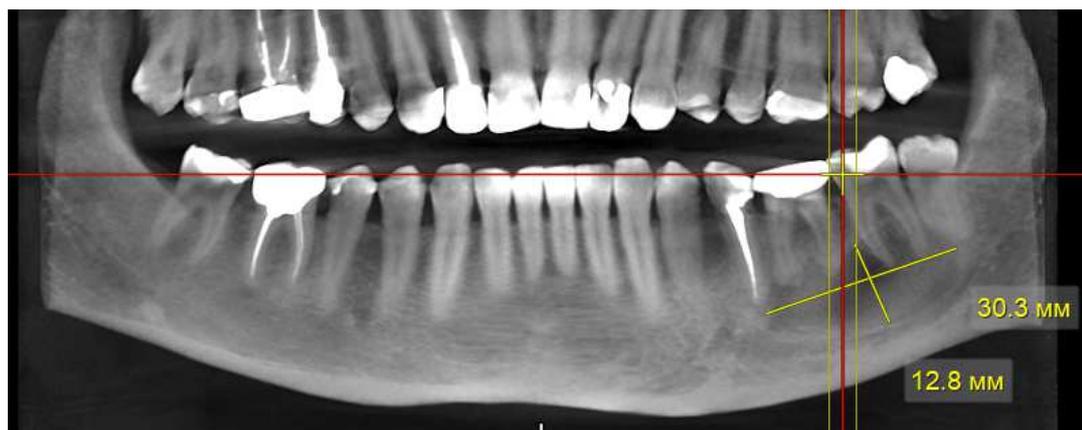


Рисунок 55 – Пациентка Ж., радикулярная киста зубов 3.7, 3.6, 3.5

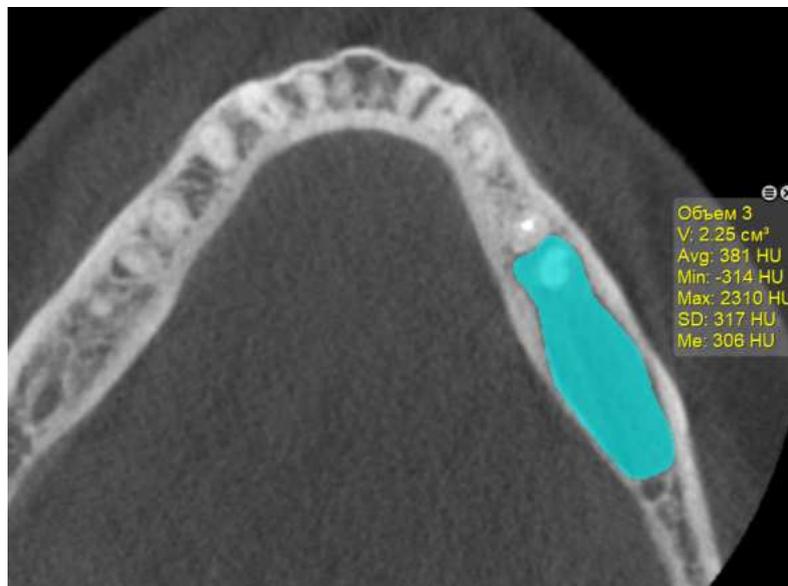


Рисунок 56 – КЛКТ пациентки Ж. до оперативного вмешательства, отмечен объем полостного образования кости нижней челюсти

Под местной инфильтрационной анестезией Sol. Ultracaini DS Forte выполнен трапециевидный разрез в проекции зубов 3.7, 3.6, 3.5, 3.4. Удален зуб 3.6, проведена цистэктомия, целиком удалена оболочка полостного образования.

Мобилизован слизисто-надкостничный лоскут, фиксирован безнатяжения матрачными и узловыми швами материалом Monosyn 4/0. Полость кисты рыхло тампонирована йодоформной турундой. Замена йодоформной турунды проводилась на 1, 7, 14 и 21 сутки. Динамическое КЛКТ проводилось через 6 месяцев и через 12 месяцев. Оптимальные условия для проведения дентальной имплантации в области удаленного зуба 3.6 отмечались только спустя 12 месяцев (Рисунок 57). Также отмечается остаточный дефект размером 3,7х9,0 мм, что потребует дополнительных хирургических вмешательств при установке дентального имплантата (Рисунок 58).

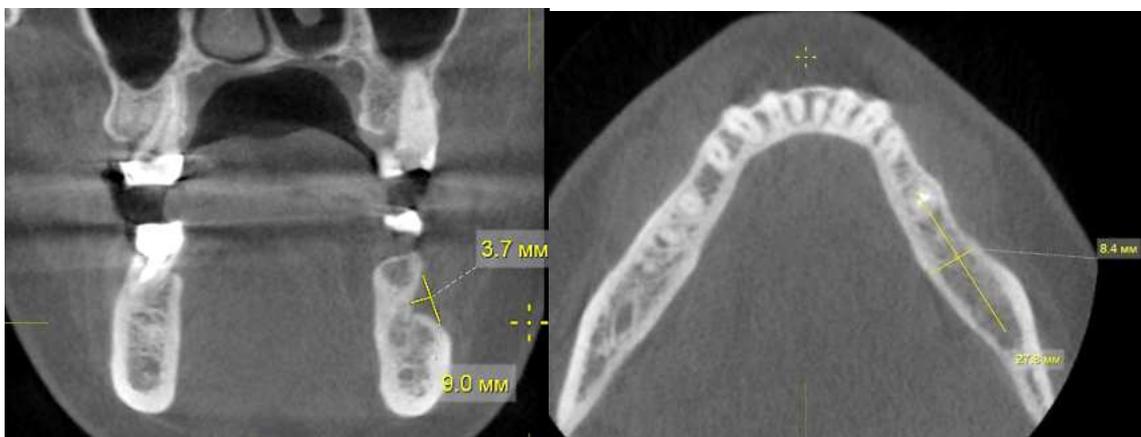


Рисунок 57 – КЛКТ через 12 месяцев после оперативного вмешательства

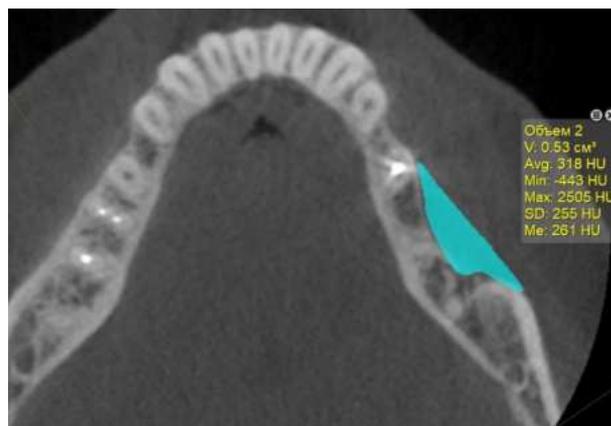


Рисунок 58 – Объем дефекта кости нижней челюсти после операции цистэктомии без аугментации полости остеопластическим материалом

Клинический пример 4

Пациентка У. 45 лет обратилась в отделение хирургической стоматологии ФГБУ НМИЦ «ЦНИИСиЧЛХ» Минздрава России с жалобами на наличие

радикулярной кисты. При объективном обследовании открывание рта свободно, визуально слизистая оболочка рта нормально увлажнена, бледно-розового цвета. Зуб 2.6 ранее пролечен эндодонтически, перкуссия зуба отрицательная, перкуссия безболезненна, пальпация безболезненна (Рисунок 59). На КЛКТ отмечается радикулярная киста, локализуемая также в зоне фуркации корней, что является показанием к удалению зуба.

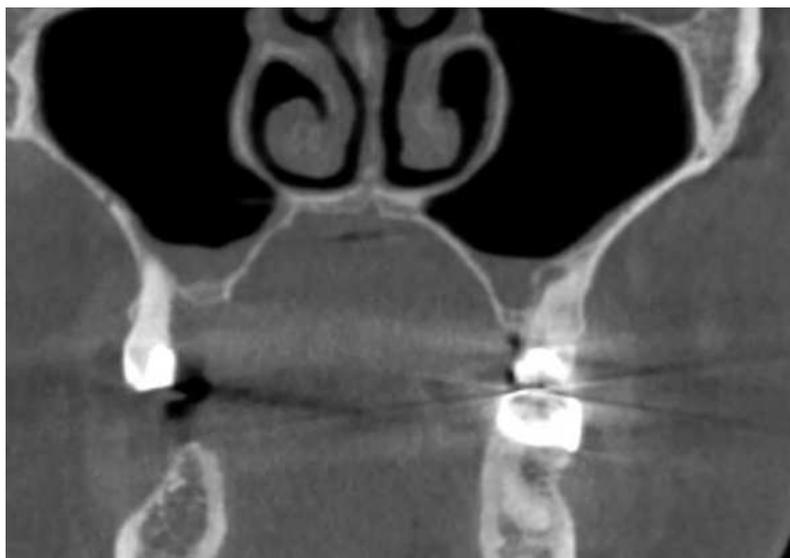


Рисунок 59 – КЛКТ пациентки У. перед удалением зуба 2.6 и цистэктомией

Под местной инфильтрационной анестезией Sol. Ultracaini DS Forte проведено удаление зуба 2.6, проведена цистэктомия, целиком удалена оболочка полостного образования. Лунка удаленного зуба 2.6 выполнена кровяным сгустком. Мобилизован слизисто-надкостничный лоскут, фиксирован безнатяжения матрацными и узловыми швами материалом Monosyn 4/0. Динамическое КЛКТ проводилось через 6 месяцев и через 12 месяцев.

Через 12 месяцев отмечалась недостаточная высота альвеолярного гребня для установки дентального имплантата, что потребовало проведения дополнительного хирургического вмешательства – операция синус-лифтинг (Рисунок 60). Также отмечается остаточный дефект с вестибулярной стороны, что также потребует дополнительных хирургических вмешательств при установке дентального имплантата (Рисунок 60).

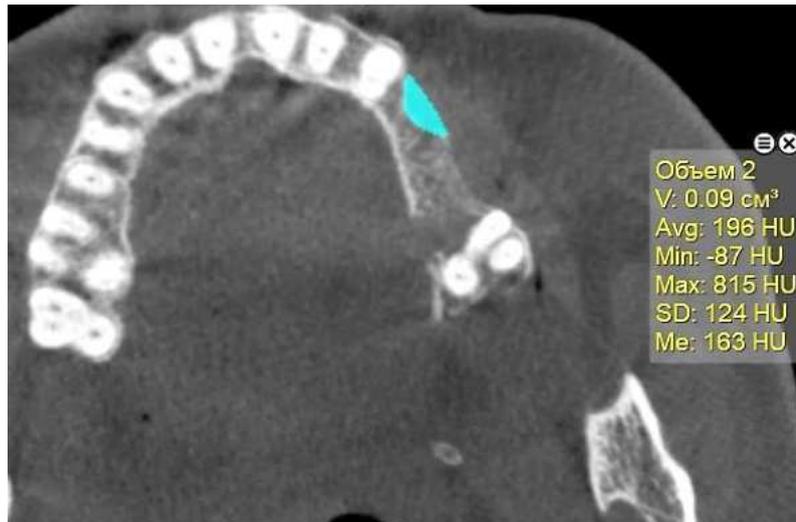


Рисунок 60 – КЛКТ пациентки У. через 12 месяцев после оперативного вмешательства

Клинический пример 5.

Резекция верхушки корней зубов и заполнение дефекта кости ксеногенным материалом «Cerabone», а также собственной кровью пациента.

Пациент М. 42 лет обратился в отделение хирургической стоматологии ФГБУ НМИЦ «ЦНИИСиЧЛХ» Минздрава России с жалобами на наличие радикулярной кисты. При объективном обследовании открывание рта свободно, визуально слизистая оболочка рта нормально увлажнена, бледно-розового цвета (Рисунок 61). Зубы 4.1, 4.2, 3.2, 3.1 ранее пролечены эндодонтически, перкуссия зубов 4.1, 4.2, 3.2, 3.1 отрицательная, пальпация безболезненна.



Рисунок 61 – Пациент М., до оперативного вмешательства

Под местной инфильтрационной анестезией Sol. Ultracaini DS Forte выполнен трапециевидный разрез в проекции зубов 4.2, 4.1, 3.1, 3.2. Проведена цистэктомия, целиком удалены оболочки полостных образований (Рисунок 62). Верхушки корней зубов 4.1, 4.2, 3.2, 3.1 резецированы на 3 мм, проведено ретроградное пломбирование корней зубов стеклоиномерным цементом (Рисунок 58). Костная полость герметична, стенки дефекта плотные и неподвижные, что позволяет провести аугментацию дефекта кости. Полость дефекта в проекции корней зубов 3.1, 4.1 и 4.2 заполнена костнозамещающим материалом (далее – КЗМ) ксеногенного происхождения «Cerabone» (Рисунок 63). Проведена аугментация дефекта кости. Материал изолирован стерильной коллагеновой мембраной «Jason».

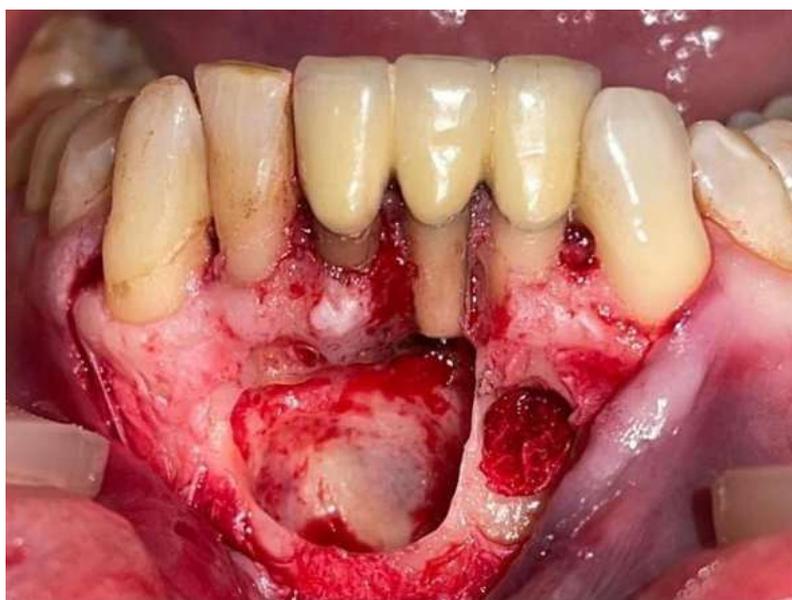


Рисунок 62 – Цистэктомия, резекция и ретроградное пломбирование зубов 4.1, 4.2, 3.2, 3.1

Полость дефекта в проекции корня зуба 3.2 заполнена собственной кровью пациента (Рисунок 63). Мобилизован слизисто-надкостничный лоскут, фиксирован безнатяжения матрацными и узловыми швами материалом Monosyn 4/0.



Рисунок 63 – Полость дефекта в проекции зубов 3.1, 4.1 и 4.2 заполнена ксеногенным костнопластическим материалом «Cerabone», полость дефекта в проекции зуба 3.2 заполнена кровяным сгустком

Через 12 месяцев пациенту было проведено КЛКТ для оценки динамики заживления. В области вершечек зубов 4.1 и 4.2, где дефект полностью был заполнен материалом «Cerabone», отмечается полное восстановление дефекта. В области зуба 3.1 отмечалась частичная резорбция костнопластического материала, что привело к неполному восстановлению дефекта кости. В области верхушки зуба 3.2 сохраняется дефект кости (Рисунок 64).

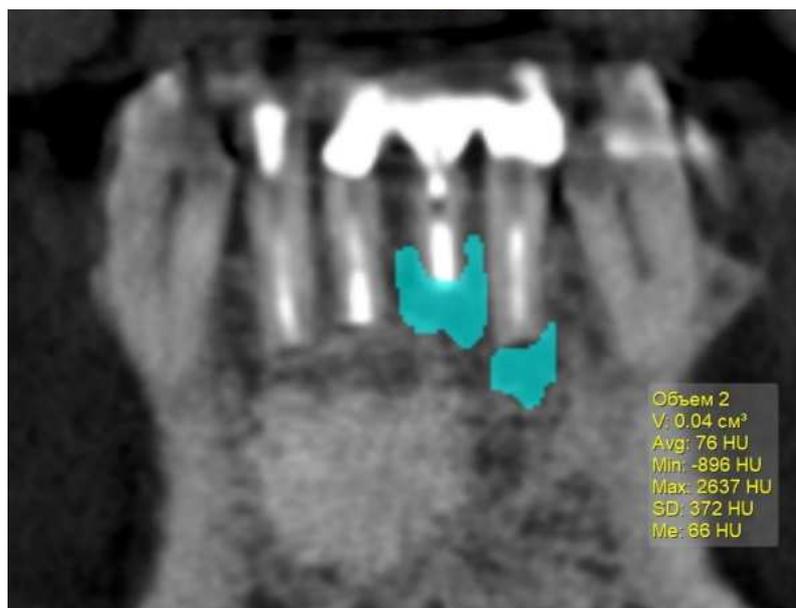


Рисунок 64 – КЛКТ пациента М. через 12 месяцев

Клинический пример 6

Пациентка Х. 36 лет обратилась в отделение хирургической стоматологии ФГБУ НМИЦ «ЦНИИСиЧЛХ» Минздрава России с жалобами на наличие радикулярной кисты. При объективном обследовании открывание рта свободно, визуально слизистая оболочка рта нормально увлажнена, бледно-розового цвета. Зуб 1.3 ранее пролечен эндодонтически, перкуссия отрицательная, пальпация безболезненна.

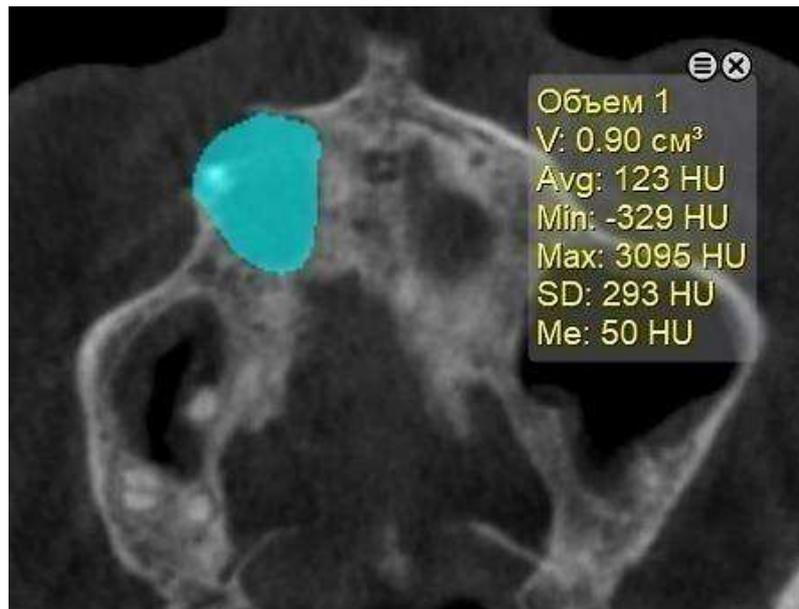


Рисунок 65 – КЛКТ пациентки Х. до проведения операции в области зуба 1.3

Под местной инфильтрационной анестезией Sol. Ultracaini DS Forte выполнен трапецевидный разрез в проекции зубов 1.1, 1.2, 1.3, 1.4 проведена цистэктомия, целиком удалена оболочка полостного образования (Рисунок 66).



Рисунок 66 – Радикулярная киста зуба 1.3.

Верхушка корня зуба 1.3 резецирована на 3 мм, проведено ретроградное пломбирование корня зуба МТА (Рисунок 67). Костная полость герметична, стенки дефекта плотные и неподвижные, что позволяет провести аугментацию дефекта кости. Полость дефекта в проекции корней зуба 1.3 «Нуклеостим-VEGF» (Рисунок 68). Проведена аугментация дефекта кости. Материал изолирован коллагеновой мембраной «Jason» с фиксацией пинами (Рисунок 68). Мобилизован слизисто-надкостничный лоскут, фиксирован без натяжения матрацными и узловыми швами материалом Monosyn 4/0 (Рисунок 69). Через 6 месяцев отмечается формирование плотного костного репарата в зоне оперативного вмешательства (Рисунки 70, 71).



Рисунок 67 – Резекция верхушки корня зуба 1.3 и ретроградное пломбирование, вид полости после цистэктомии.



Рисунок 68 – Аугментация дефекта кости после цистэктомии в проекции вершины корня зуба 1.3 материалом «Нуклеостим-VEGF».



Рисунок 69 – Фиксирование полнослойного лоскута узловыми и матрацными швами Monosyn 4/0.

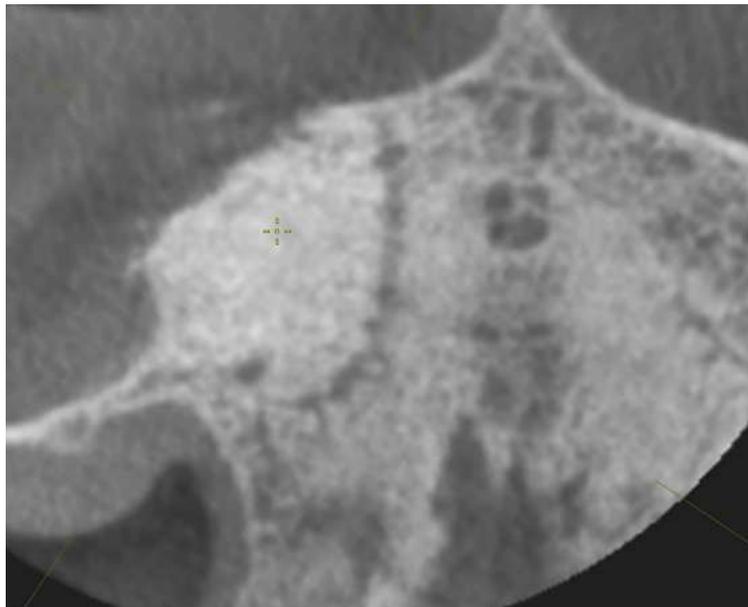


Рисунок 70 – формирование костного репарата через 6 месяцев



Рисунок 71 – формирование костного репарата через 6 месяцев

ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Необходимость проведения хирургических вмешательств, связанных с увеличением объема костной ткани или заполнением костных дефектов, постоянно растет в клинической практике врачей стоматологов-хирургов и челюстно-лицевых хирургов. Несмотря на то, что аутогенная кость считается «золотым стандартом» в сфере челюстно-лицевой хирургии, зачастую рана, нанесенная в результате такой операции несоизмерима принесенной пользе. Согласно литературным данным, ключевую роль в образовании новой кости играют нативные клетки организма, которые, взаимодействуя с интегрированным остеопластическим материалом, стимулируют процессы остеогенеза и васкуляризации [120].

Наибольшее распространение среди практикующих врачей-стоматологов – хирургов получили материалы ксеногенного происхождения, полученные из костей животных, обычно быков или свиней, в виде деминерализованного матрикса. Важнейшей частью в производстве данных материалов является удаление чужеродных клеток и белков путем термической, химической обработки или с помощью ферментов. Отсутствие качественной обработки материалов на этапе производства может привести к инфицированию реципиента и к неблагоприятному исходу лечения.

Синтетические костные заменители, представленные в виде фосфатов кальция, гидроксиапатитов, в сравнении с ксеногенными материалами не содержат патогенов, но обладают низкой скоростью биодеградации. В связи с активным поиском материала, отвечающего требованиям: биосовместимость, химическая стабильность, биомеханическая и физическая совместимость – отечественным производителем ведутся разработки нового материала, отвечающего перечисленным параметрам.

На сегодняшний день синтетические остеопластические материалы считаются наиболее перспективной группой, так как они разрабатываются с учетом процессов, необходимых для увеличения объема и полноценной регенерации костной ткани. В этом контексте также ведутся исследования

отечественных остеопластических материалов с выраженным остеоиндуктивным эффектом. Одной из особенностей таких отечественных материалов является наличие плазмидной ДНК с геном сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), интегрированной в гранулы октакальций фосфата. Эффективность материала обусловлена наличием как остеокондуктивных, так и остеоиндуктивных свойств, которые связаны с быстрым высвобождением нуклеиновых кислот в область имплантации. «Нуклеостим-VEGF», в свою очередь, является синтетическим материалом, основным компонентом которого является октакальциевый фосфат. Отличительная особенность «Нуклеостим-VEGF» – плазида с геном VEGF, нанесенная на поверхность вещества, которая, как предполагается, должна придавать ему остеоиндуктивные свойства [10, 11, 39, 40, 41, 42].

На сегодняшний день проведен ряд исследований, направленный на изучение свойств ген-активированного материала. Авторами Бозо И.А., Деев Р.В., Дробышев А.Ю. и др. проведено исследование *in vivo*, в котором изучались индукционные свойства материалов. На теменных костях 15 кроликов породы Шиншилла формировали два дефекта по 10 мм, которые заполнялись ген-активированным материалом и материал без плазмидной ДНК. По результатам исследования выявлено, что на ранних сроках исследования отмечается выраженная остеоиндукция у ген-активированного материала в сравнении с ОКФ. Также отмечалось заполнение костных пространств между трабекулами.

По результатам собственного сравнительного исследования *in vivo* при применении материалов «Нуклеостим-VEGF», «Bio-Oss», «Cerabone» наблюдалось восстановление костной пластины черепа. Сравнить скорость роста грануляционной ткани оказалось затруднительно, вероятно в связи со сложной геометрией регенерирующего дефекта. Важно отметить, что плотная фиброзная прослойка визуалью очень слабо отличалась от костной пластины на вырезке.

Тем не менее, можно сделать следующие выводы о материалах. «Нуклеостим-VEGF» обеспечивал значительную васкуляризацию зоны дефекта, которая на всех сроках была выше, чем в других группах. Сами фрагменты

материала не становятся центрами роста костной ткани, вокруг них не образуются костно-хрящевые островки. Вероятно, их остеокондуктивный эффект достигается за счет увеличения трофики ткани. «Bio-Oss» был единственным материалом, который обеспечивал остеокондуктивный эффект за счет активации остеобластов при расположении вплотную к регенерирующему краю костной ткани. Вероятно, можно сделать вывод, что «Bio-Oss» умеренно потенцировал рост костной ткани в близости от себя, наибольшие признаки регенерации отмечались в участках плотного расположения материала к наросту новообразованной костной ткани. «Cerabone» обеспечил ускоренный рост новообразованной костной пластины, создавая условия для образования островков костной регенерации в толще дефекта.

Проведённое исследование позволило комплексно оценить свойства ген-активированного материала «Нуклеостим-VEGF» в сравнении с ксеногенными аналогами («Bio-Oss», «Cerabone») как *in vitro*, так и *in vivo*. Полученные результаты демонстрируют, что ключевым преимуществом «Нуклеостим-VEGF» является его способность модулировать иммунный ответ за счёт снижения секреции провоспалительного цитокина TNF- α макрофагами M1. Этот эффект, вероятно, обусловлен наличием плазмиды VEGF, которая способствует поляризации макрофагов в противовоспалительный фенотип M2, что согласуется с данными литературы о роли VEGF в ангиогенезе и регуляции иммунных процессов [78, 119]. Однако, несмотря на выраженную васкуляризацию тканей в эксперименте *in vivo*, «Нуклеостим-VEGF» уступал «Cerabone» по способности стимулировать репаративный остеогенез.

Следует отметить, что эксперименты *in vivo* на крысах не полностью воспроизводят условия человеческого организма, особенно в контексте иммунного ответа. Тем не менее, выявленная способность «Нуклеостим-VEGF» – снижать воспалительную активность – открывает перспективы его применения.

Интересным наблюдением стало отсутствие значимой цитотоксичности у всех исследуемых материалов, что подтверждает их биосовместимость. При этом «Cerabone» продемонстрировал наибольшую стабильность в зоне дефекта,

формируя островки костной регенерации даже в центральных участках. Это согласуется с клиническими данными, где применение «Cerabone» после цистэктомии обеспечивало полное закрытие дефектов, значительно сокращая сроки реабилитации пациентов. Напротив, заполнение дефектов кровяным сгустком сопровождалось формированием фиброзной ткани, что требовало дополнительных хирургических вмешательств.

Основным критерием эффективности исследуемых остеопластических материалов являлась динамика уменьшения объема костного дефекта по данным конусно-лучевой компьютерной томографии (КЛКТ) через 6 и 12 месяцев после вмешательства.

Наилучшие результаты были достигнуты в группах, где применялись остеопластические материалы. В подгруппе 2А («Нуклеостим-VEGF») средний процент закрытия дефекта через 6 месяцев составил 97,764%, а к 12 месяцам достиг 98,82%. В подгруппе 1А («Cerabone») показатели составили 98,04% на 6 месяц и 99,0% на 12 месяц. Оба материала продемонстрировали высокую предсказуемость результатов, несмотря на незначительную разницу в значениях. Это позволяет рассматривать их как эффективные средства для направленной костной регенерации (НКР) после цистэктомии.

Аналогичная тенденция прослеживалась и в подгруппах, где проводилась резекция верхушки корня. Применение «Нуклеостим-VEGF» (2Б) и «Cerabone» (1Б) обеспечило закрытие дефектов на 96,60-98,11% уже через 6 месяцев и на 98,0-99,0% к 12 месяцам, что позволяет утверждать об универсальности исследуемых материалов независимо от типа хирургического лечения пациентов.

Значительно более низкие результаты зафиксированы в группах, где полость заполнялась кровяным сгустком. Через 12 месяцев закрытие дефекта составило лишь 67,6-71,0%. Высокое стандартное отклонение (до 24,9% в 3Б группе) свидетельствует о непредсказуемости исхода и высоком риске формирования соединительнотканного репарата вместо костного.

Данные анализа плотности костного репарата подтверждают морфологическую полноценность новообразованной ткани. В подгруппах 1А и 1Б

с материалом «Cerabone» зафиксированы стабильно высокие показатели плотности на всех временных точках на протяжении всего периода наблюдения, что характерно для зрелой костной ткани.

Особого внимания заслуживает динамика в подгруппах 3А и 3Б. Несмотря на низкие стартовые показатели плотности через 6 месяцев (254 ед. и 230 ед.), к 12 месяцу наблюдался значительный прирост (до 734 ед. и 630 ед.). Это указывает на продолжающиеся процессы ремоделирования и минерализации, однако итоговые значения остались ниже, чем в группах с применением остеопластических материалов, что свидетельствует о замедленном и неполном восстановлении костной структуры при ведении дефекта под сгустком. Такие низкие показатели указывают на необходимость дополнительных хирургических операций перед планированием внутрикостной дентальной имплантации в случае необходимости восстановления целостности зубного ряда, что существенно увеличивает сроки реабилитации пациентов.

В группах с материалом «Нуклеостим-VEGF» отмечается увеличение плотности костного регенарата к 12 месяцу, что также позволяет говорить об эффективности применения данного материала.

Напротив, в результате клинического исследования материал «Нуклеостим-VEGF» показал худшие результаты по уровню болевого синдрома и эпителизации тканей. К 7 суткам постоперационного периода наименьшие значения зафиксированы в подгруппах 2А и 2Б (3,2 балла), отмечалась значительная гиперемия слизистой оболочки, пациенты жаловались на выраженный болевой синдром (5,3 и 5,1 балла соответственно), что указывает на замедление процесса заживления в этих подгруппах по сравнению с другими. К 14 суткам в подгруппах с «Нуклеостим-VEGF» наблюдалась эпителизация краев раны, но сохранялась незначительная гиперемия тканей, в то время как в остальных подгруппах ткани зоны оперативного вмешательства приобретали физиологический окрас и отмечалась полная эпителизация.

Вероятно, выраженная стойкая гиперемия тканей и болевой синдром на 7-е сутки являются неизбежными вследствие активной стимуляции ангиогенеза и

клеточной пролиферации. В связи с этим требуется дополнительное изучение влияния дозировки и формы выпуска "Нуклеостим-VEGF" на его биодоступность и локальную концентрацию в зоне дефекта. Оптимизация этих параметров может позволить снизить негативную симптоматику первой недели, сохранив при этом высокий регенераторный потенциал материала, продемонстрированный к 12 месяцу наблюдения

Ксеногенный материал "Cerabone" обеспечивает стабильно высокие показатели раннего заживления и конечной плотности кости, то "Нуклеостим-VEGF", несмотря на более длительный и болезненный ранний послеоперационный период, к 12 месяцу показывает сопоставимую с лидером эффективность в отношении качества формируемого репарата. Это позволяет рассматривать ген-активированный материал как обоснованную альтернативу для клинических ситуаций, где критически важна стимуляция васкуляризации и остеогенеза на отдаленных этапах, несмотря на более сложное течение первой недели заживления.

ВЫВОДЫ

1. В результате эксперимента *in vitro* определяется умеренная активация нейтрофилов различными материалами. Цитотоксичность в отношении макрофагов, поляризованных в M1 состояние не выражена, количество выживших клеток составило около 80% для всех материалов. Материал «Нуклеостим-VEGF» проявляет иммуномодулирующие свойства, снижая секрецию TNF- α макрофагами M1 на 70% по сравнению с контролем, что связано с наличием плазмиды VEGF. При этом все материалы демонстрируют высокую биосовместимость с ММСК.

2. Ксеногенный материал «Cerabone» обеспечил наибольшую площадь новообразованной кости через 3 месяца по сравнению с «Bio-Oss» и «Нуклеостим-VEGF», что делает его материалом выбора для использования в клинической практике.

3. Материал «Cerabone» показал наибольшую эффективность в восстановлении костных дефектов, обеспечивая формирование плотного репарата уже к 60 суткам. «Нуклеостим-VEGF» способствовал активной васкуляризации уже к 30 суткам, но показал низкую степень остеокондукции.

4. В результате оценки клинической картины постоперационного периода у пациентов всех исследуемых групп с помощью индекса заживления ран и визуальной аналоговой шкалы боли рекомендовано применять для направленной костной регенерации в дефекте кости остеопластический материал «Cerabone», так как в сравнении с материалом «Нуклеостим-VEGF» выраженность постоперационных проявлений (болевой синдром, гиперемия слизистой оболочки) протекал значительно лучше для пациентов.

5. Оптимальным материалом для проведения направленной костной регенерации в дефекте кости после радикулярных кист с точки зрения объема остаточного дефекта является тот, где дефекты заполняются материалом «Cerabone», так как объем дефекта через 6 месяцев достигал значений 0.027 ± 0.016 см³, а к 12 месяцу отмечались минимальных значений – 0.003 ± 0.006 см³, что указывало на полное восстановление кости в области дефекта радикулярной

кисты. Материал «Нуклеостим-VEGF» также показывал хороший результат на всех временных точках, но по оценке средней интенсивности плотности и остаточному дефекту значения были ниже и имели статистическую значимость. Метод с использованием сгустка крови в группах 3А и 3Б демонстрирует самый высокий остаточный дефект (22,41–25,87%) и максимальное стандартное отклонение (до 24,88%), что указывает на его низкую предсказуемость.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Наиболее благоприятное течение отмечается у пациентов с использованием материала «Cerabone». В случае применения ген-активированного материала «Нуклеостим-VEGF» необходимо снижать выраженность клинических воспалительных проявлений на протяжении всего периода первичного заживления раны (до 14 суток включительно).

2. Подгруппы с материалом «Cerabone» показали наилучший результат заживления к седьмым суткам (4,5 балла), несмотря на умеренные показатели боли, что позволяет рекомендовать данный протокол для пациентов, у которых требуется ускоренное восстановление тканей, например, при наличии факторов риска замедленной регенерации, таких как курение, пожилой возраст или сопутствующие заболевания. В случае применения материала «Нуклеостим-VEGF» для восстановления дефекта кости целесообразно усиливать противовоспалительную и десенсибилизирующую терапию.

3. Допустимо использование аутогенной крови, но с информированием пациента о риске неполной регенерации кости и инвагинации эпителия в полость дефекта, так как в группах 3А и 3Б наблюдались остаточные дефекты до 9 мм.

4. При объеме дефекта более 1,5 см³ допустимо использование «Cerabone» или «Нуклеостим-VEGF» с ожидаемым закрытием дефекта $\geq 95\%$. Заполнение дефекта аутокровью не рекомендуется использовать при радикулярных кистах размером более 2 см³, из-за высокого риска неполной регенерации.

5. Ген-активированный материал «Нуклеостим-VEGF» содержит фактор роста эндотелия сосудов, что ускоряет васкуляризацию и остеогенез, но требует более длительного периода ремоделирования. Ксеногенный материал «Cerabone» наоборот является остеокондуктивным материалом с доказанной эффективностью и приводит к более быстрому и полному восстановлению дефекта кости, что позволяет проводить дентальную имплантацию уже через 6 месяцев.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

НКР – направленная костная регенерация

ГАП – гидроксиапатит

ММСК – мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки

ОПМ – остеопластический материал

КЛКТ – конусно-лучевая компьютерная томография

AFM – атомная силовая микроскопия

ВМР – костный морфогенетический белок

ВМРР – рецептор костного морфогенетического белка

CD – кластер дифференциации

CDMP – хрящевые морфогенетические белки

CR – рецептор комплемента

DAMP – Молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждениями

FGF – фактор роста фибробластов

GDF – фактор дифференцировки роста

GM-CSF – гранулоцит-макрофагальный колониестимулирующий фактор

IGF – инсулиноподобный фактор роста

IL – интерлейкин

LRR – полилейциновые участки

MBL – маннозосвязывающий лектин

M-CSF – макрофагальный колониестимулирующий фактор

MHC – главный комплекс гистосовместимости

MIP – макрофагальный воспалительный белок

MPO – миелопероксидаза

NET – нейтрофильные внеклеточные ловушки

NOX – NADPH оксидаза

PAMP – Молекулярные паттерны, ассоциированные с патогенами

PIGF – плацентарный фактор роста

ROS – активные формы кислорода

SDF – фактор стромальных клеток

TGF – трансформирующий фактор роста

TLR – толл-подобные рецепторы

TNF – фактор некроза опухоли

VEGF-A – сосудистый эндотелиальный фактор роста

VEGFR – рецептор сосудистого эндотелиального фактора роста

XO – ксантиноксидаза

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 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.
2. Аснина С.А. Одонтогенные кисты челюстей: учебное пособие / С.А. Аснина. – М.: Практическая медицина, 2012. – 72 с.
3. Амхадова М.А., Атабиев Р.М., Амхадов И.С., Цукаев К.А. Клинико-экспериментальное обоснование применения отечественных резорбируемых мембран при направленной регенерации костной ткани. — Медицинский алфавит. — 2018; 34 (371): 41—45
4. Аснина С.А. Использование компьютерной томографии при хирургическом лечении околокорневых кист больших размеров / С.А. Аснина, Н. Шишкова // Институт стоматологии. – 2006. – № 1(30). – С. 60-62.
5. Бабиченко И.И. Экспрессия Ki-67 и матриксной металлопротеиназы-9 в фолликулярной кисте, кератокистозной одонтогенной опухоли и амелобластоме / И.И. Бабиченко, В.А. Семкин, Е.С. Усачев Е.С. // Архив патологии. – 2013. – № 1. – С. 10-16.
6. Балин В.Н. Остеостимулирующее действие ксеногенного костного материала на репаративный остеогенез (экспериментально-морфологическое исследование) / В.Н. Балин, Д.В. Балин, Е.В. Шнгелия, А.К. Иорданишвили // Стоматология. – 2015. – № 2. – С. 5-9.
7. Безруков В.М. Амбулаторная хирургическая стоматология: Руководство для врачей / В.М. Безруков, Л.А. Григорьянц, Н.А. Рабухина, В.А. Бадалян. – М.: Медицинское информационное агентство, 2002. – 75 с.
8. Бернадский Ю.И. Основы челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии / Ю.И. Бернадский. 2003. – 416 с.
9. Быков В.Л. Цитология и общая гистология (функциональная морфология клеток и тканей человека) / В.Л. Быков. – СПб.: СОТИС, 1998 – 520 с.
10. Ведяева А.П. Сравнение регенераторного потенциала ксеногенных

материалов с ген-активированным материалом «Нуклеостим-VEGF» / А.П. Ведяева, А.И. Потапова, А.А. Кулова // «Междисциплинарный подход к диагностике, лечению и профилактике заболеваний тканей пародонта у пациентов с сахарным диабетом»: тезисы VI Международной научно-практической конференции / Под ред. проф. А.К. Иорданишвили. – СПб: Человек, 2024. – С. 7.

11. Ведяева А.П. Оптимизация направленной тканевой регенерации у пациентов с дефектами кости в области зубов и имплантатов с применением ген активированного остеопластического материала / А.П. Ведяева, А.И. Потапова, А.В. Кузин // «Междисциплинарный подход к диагностике, лечению и профилактике заболеваний тканей пародонта у пациентов с сахарным диабетом»: тезисы VI Международной научно-практической конференции / Под ред. проф. А.К. Иорданишвили. – СПб: Человек, 2023. – 108 с.

12. Волков Ю.О. Экспериментально-морфологическое обоснование применения окситоцина для оптимизации репаративных гистогенезов при костной аутопластике дефектов нижней челюсти (экспериментально-гистологическое исследование): автореф. дис. канд. мед. наук. – Оренбург, 2014. – 23 с.

13. Воронов И.А. Методы консервации лунки: обзор литературы / И.А. Воронов, М.Н. Меликова, С.А. Фокина // Эндодонтия Today. – 2023. – № 3. – С. 212-221.

14. Гололобов В.Г. Скелетные ткани и органы. / В.Г. Гололобов, Н.В. Дедух, Р.В. Деев. // Руководство по гистологии 2-е изд. – 2011. – Т. 1 – С. 238-322.

15. Гребнев Г.А., Чернегов В.В., Бородулина И.И., Макеев Б.Л. и др. Способ лечения кист челюстей / Патент РФ №2578161 от 20.03.2016. – Бюл. № 27.

16. Григорьян А.С. Динамика интеграции блоков пористого гранулята гидроксиапатита при надкостничной его имплантации в область тела челюсти (экспериментально-морфологическое исследование) / А.С. Григорьян // Материалы конференции, посвященной памяти проф. В.В. Паникаровского: сб. науч. труд. – М.: 2002. – № 3. – С. 48-53.

17. Губайдуллина Е.Я. Опыт лечения больных с обширными кистами челюстей

/ Е.Я. Губайдуллина, Л.Н. Цегельник, В.В. Лузина // Стоматология. – 2007. – № 3. – С. 51-53.

18. Гурин А.Н. Сравнительное исследование замещения дефектов костной ткани остеопластическими материалами на основе на основе α - и β -трикальцийфосфата / А.Н. Гурин, В.С. Комлев, И.В. Фадеева, Н.В. Петракова // Стоматология. – 2012. – № 6. – С.16-21.

19. Деев Р.В. Обычные и активированные остеопластические материалы / Р.В. Деев, А.Ю. Дробышев, И.Я. Бозо // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2015. – № 1. – С. 51-69.

20. Дробышев А.Ю. Особенности регенерации костной ткани альвеолярного гребня челюстей при применении материала на основе гидроксиапатита / А.Ю. Дробышев, Н.А. Редько, Е.Г. Свиридов, Р.В. Деев // Травматология и ортопедия России. – 2021. – Т. 27. – №1. – С. 9-18.

21. Дубова Н.Б. Патент РФ №2002115614/14, 11.06.2002. Способ лечения радикулярной кисты челюсти / Н.Б. Дубова, Е.А. Дурново, Н.А. Беспалова // Патент России № 2326648.2008. – Бюл № 17.

22. Ешиев А.М. Эффективность остеоцистэктомии с применением остеопластических материалов / А.М. Ешиев, М.А. Сагынбаев, С.К. Алимжанов // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 1-3. С. 500-503.

23. Иорданишвили А.К. Хирургическое лечение периодонтитов и кист челюстей / А.К. Иорданишвили. – СПб.: Нордмед-Издат, 2000. – 217 с.

24. Капишников А.В. Оценка влияния остеопластических материалов на регенерацию костной ткани после операции цистэктомии с одномоментной резекцией верхушки корня зуба с помощью компьютерной томографии / А.В. Капишников, А.Ю. Рознебаум, В.П. Тлустенко, Л. Волова // Эндодонтия Today. – 2015. – № 4. – С. 29-33.

25. Коэн Э. Атлас косметической и реконструктивной пародонтологической хирургии / Э.Коэн. – М.: ООО «Дентал-азбука», 2003. – 416 с.

26. Кропотов М.А., Соболевский В.А., Диков Ю.Ю., Яковлева Л.П., Ходос А.В., Гаврищук П.А. Реконструкция подбородочного отдела нижней челюсти при

опухолях челюстно-лицевой области и слизистой полости рта. *Malignant tumours*. 2019; 9(2): 35-44.

27. Курманалина М.А. Роль микроорганизмов в развитии эндодонтической патологии / М.А. Курманалина, К.Ж. Ерентаева // «Астана медициналық журналы». – 2021. – № 1. – С. 49-55.

28. Кулаков А.А. Диагностические возможности компьютерной томографии в изучении одонтогенных кист, проросших в полость верхнечелюстных пазух / А.А. Кулаков, Н.А. Рабухина, О.В. Адонина // *Стоматология*. – 2005. – № 1. – С. 36-40.

29. Кури Ф. Регенеративные методы в имплантологии / Ф. Кури. – М.: Азбука, 2013. – 514 с.

30. Лепилин А.В. Стоматология (хирургическая стоматология): учебное пособие / Под ред. В.В. Трофимова, Н.А. Молоканова, М.Н. Пузина. – М.: Медицина, 2003. – 560 с.

31. Мак-Дональд Р.Е. Стоматология детей и подростков. Одонтогенные кисты / Р.Е. Мак-Дональд, Д.Е. Эйвери. – М.: МИА, 2003. – 448 с.

32. Моисеева Н.С. Обоснование применения остеопластических материалов при костно-деструктивных изменениях альвеолярного отростка в хирургической стоматологии / Н.С. Моисеева // *Тенденция развития науки и образования*. – 2022. – №1. – С. 38-41.

33. Музыкин М.И. Декомпрессионное дренирование (марсупиализация) при лечении обширных кист челюстей / М.И. Музыкина, А.А. Головкин, М.В. Мельников // *Российский стоматологический журнал*. – 2021. – Т. 25. – №1. – С. 65-72.

34. Мураев А.А. Изучение биологических свойств нового остеопластического материала на основе недеминерализованного коллагена, содержащего фактор роста эндотелия сосудов при замещении костных дефектов / А.А. Мураев, С.Ю. Иванов, А.А. Артифксова // *Современные технологии в медицине*. – 2012. – С. 21-26.

35. Олесова В.Н., Хафизов Р.Г., Шматов К.В., Иванов А.С., Мартынов Д.В. Динамика остеоинтеграции конструкционных материалов дентальных

имплантатов, по данным электронномикроскопической оценки и элементного анализа состава костной ткани. — Российский стоматологический журнал. — 2018; 4: 172—175

36. Панин А.М. Швы в хирургической стоматологии. Учебное пособие / А.М. Панин, А.М. Цициашвили, А.И. Потапова. – ГЭОТАР-Медиа, 2022. – 32 с.
37. Пименова А.М. Сравнительная характеристика методов хирургического лечения челюстных кист (цистэктомия и цистотомия): дис. ... канд. мед. наук / А.М. Пименова. – М., 1954. – 120 с.
38. Пиотрович А.В. Современный взгляд на теории патогенеза радикулярных кист (обзор литературы) / А.В. Пиотрович, Л.С. Латюшина // Проблемы стоматологии. – 2023. – № 3. – С. 13-18.
39. Потапова А.И. Ген-активированный материал «Нуклеостим-VEGF» в сравнении с ксеногенными материалами / А.И. Потапова // «Научные достижения современной стоматологии и челюстно-лицевой хирургии»: тезисы XV научно-практической конференции молодых ученых. Москва, 2024.
40. Потапова А.И. Исследование *in vitro* цитотоксичности и биосовместимости ген-активированного остеопластического материала / А.И. Потапова, А.П. Ведяева, Т.В. Брайловская, Н.В. Кошелева // Клиническая стоматология. – 2025. – № 1. – С. 144-151.
41. Потапова А.И. Структурные особенности и свойства современных остеопластических материалов / А.И. Потапова, А.П. Ведяева, В.Г. Джериева, А.М. Цициашвили // Российский вестник дентальной имплантологии. – 2024. – № 3(65). – С. 61-68.
42. Потапова А.И. Методика восполнения костных дефектов челюстей после цистэктомии / А.И. Потапова, А.П. Ведяева, А.В. Кузин, Г.В. Ремизов // Российский вестник дентальной имплантологии. – 2024. – № 4(66). – С. 29-35.
43. Робустова Т.Г. Хирургическая стоматология: Учебник. – 4-е издание / Т.Г. Робустова. – М.: ОАО Медицина, 2010. – 688 с.
44. Сирак С.В. Патент РФ №2007100996/14, 09.01.2007. Способ лечения одонтогенных кист и кистогранулем / С.В. Сирак, А.В. Федурченко, А.Г. Сирак,

Т.Г. Мажаренко // Патент России №2223695.2004.

45. Соловьев М.М. Оперативное лечение одонтогенных кист / М.М. Соловьев, Г.М. Семенов, Д.В. Галецкий. – Изд-во СПб: Спецлит, 2004. – 128 с.
46. Солнцев А.М. Кисты челюстно-лицевой области / А.М. Солнцев, В.С. Колесов. – Киев: Здоровье, 1982. – 144 с.
47. Хашукоев А.З., Маркин В.А., Каракизов А.Ж., Степанов А.Г., Люндуп А.В. Способ замещения костных дефектов челюстей / Патент РФ №2692452 от 24.06.2019. – Бюл. № 18.
48. Хаят Б. Микрохирургическая эндододонтия / Б. Хаят, Г. Жуани. – М.: Квинтэссенция, 2020. – 254 с.
49. Хоминец В.В. Применение ген-активированного остеопластического материала при лечении несращения бедренной кости: клинический случай / В.В. Хоминец, Р.В. Деев, А.Л. Кудяшев, С.В. Михайлов // Травматология и ортопедия России. – 2021. – № 1. – С. 66-74.
50. Хоссейнпур С. Регенеративная стоматология. Научно обоснованный подход. Пер. с англ.; под ред. А.М. Панина, А.М. Цициашвили / С. Хоссейнпур, Л.Дж. Уолша, К. Мохарамзаде. – М.; ГЭОТАР-Медиа, 2023. – 320 с.
51. Agbaje J.O. Neuropathy of trigeminal nerve branches after oral and maxillofacial threatment / J.O. Agbaje, E. Van de Castele, M. Hiel, C. Verbaanderd // J Maxillofac Oral Surg. – 2016. – Vol. 15. – P. 321-327.
52. Al Sheddi M.A. Odontogenic cysts. A clinicopathological study / M.A. Al Sheddi // Saudi Med J. – 2012. – Vol. 33, № 3. – P. 304-308.
53. Alghamdi F. The influence of enterococcus faecalis as a dental root canal pathogen on endodontic treatment: A systematic review / F. Alghamdi, M. Shakir // Cureus. – 2020. – Vol. 12, №3. – P. 7257.
54. Allon D.M. Decompression as a treatment of odontogenic cystic lesions in children / D.M. Allon, I. Allon, Y. Anavi, I. Kaplan // J Oral Maxillofac Surg. – 2015. – Vol. 73, №4. – P. 649-654.
55. American association of oral and maxillofacial surgeons. medication-related osteonecrosis of the Jaw-2014 Update / L.R. Salvatore, R. Goodday, T. Aghaloo et al.//

J Oral Maxillofac Surg.- 2014. – Vol. 72, №10. – P. 1938–56.

- 56.** Anselme K. Osteoblast adhesion on biomaterials. *Biomaterials* – 2000. - Vol. 21, № 7. – P. 667–681.
- 57.** Asim M.M. The role of growth factors on acceleration of bone regeneration during distraction osteogenesis / M.M. Asim, C.H. Reggie // *Tissue Eng Part B Rev.* – 2013. – Vol. 19, № 5. – P. 442-453.
- 58.** Asl Aminabadi N. A randomized trial of direct pulp capping in primary molars using mta compared to 3 mixtatin: A novel pulp capping biomaterial / N. Asl Aminabadi, S. Satrab, E. Najafpour, M. Samiei // *Int. J. Paediatr. Dent.* – 2016. – Vol. 26. – P. 281-290.
- 59.** Asutay F. Three-Dimensional volumetric assessment of the effect of decompression on large mandibular odontogenic cystic lesions / F. Asutay, Y. Atalay, O. Turamanlar, E. Horata // *J Oral Maxillofac Surg.* – 2016. – Vol. 74, № 6. – P. 1159-1166.
- 60.** Barradas A.M. Osteoinductive biomaterials: current knowledge of properties, experimental models and biological mechanisms / A.M. Barradas, H. Yuan, C.A. van Blitterswijk // *Eur. Cell Mater.* – 2011. – Vol. 21. – P. 407-429.
- 61.** Bhatt R.A. Bone graft substitutes / R.A. Bhatt, T.D. Rozental // *Hand Clin.* – 2012. – Vol. 28, № 4. – P. 457-468.
- 62.** Bergin SM, Crutcher CL, Keeler C, Rocos B, Haglund MM, Michael Guo H, Gottfried ON, Richardson WJ, Than KD. Osteoimmunology: Interactions with the Immune System in Spinal Fusion. *Int J Spine Surg.* 2023 Dec 27; 17(S3): S9-S17.
- 63.** Bongio M. Development of bone substitute materials: from ‘biocompatible’ to ‘instructive’ / M. Bongio, J. Van den Beucken, S. Leewenburgh, J. Jansen // *Journal of materials chemistry.* – 2010. – Vol. 20, №40. – 20:8747-8759.
- 64.** Bornstein M.M. Cone beam computed tomography in implant dentistry: a systematic review focusing on guidelines, indications, and radiation dose risks / M.M. Bornstein, C.S. William, M.V. Vida // *Int J Oral Maxillofac Implant.* – 2014. – Vol.29. – P. 55-77.
- 65.** Bozo I.Y. World's first clinical case of gene-activated bone substitute application

/ I.Y. Bozo, R.V. Deev, A.Y. Drobyshev, A.A. Isaev // Case Rep Dent. – 2016:8648949.

66. Buser D. Optimizing esthetics for implant restorations in the anterior maxilla: anatomic and surgical considerations / D. Buser, W. Martin, U. C. Belser // International Journal of Oral & Maxillofacial Implants. – 2017. – Vol. 19. – P. 43-61.

67. Chang B, Liu X. Osteon: structure, turnover, and regeneration. Tissue Eng. Part B Rev. – 2022. – Vol. 28. – P. 261–278.

68. Chiapasco M. Bone augmentation procedures in implant dentistry / M. Chiapasco, P. Casentini, M. Zaniboni // International Journal of Oral & Maxillofacial Implants. – 2016. – Vol. 24. – P. 237-259.

69. Colleran P.N. Alterations in skeletal perfusion with simulated microgravity: a possible mechanism for bone remodeling / P.N. Colleran // J. Appl. Physiol. (1985). – 2000. – Vol. 89. – P. 1046-1054.

70. Corbella S. Guided tissue regeneration using a barrier membrane in endodontic surgery / S. Corbella, S. Taschieri, A. Elkabbany, M. Del Fabbro // Swiss Dent J. – 2016. – Vol. 126. – P. 13-25.

71. Couto A.M.D. Chronic inflammatory periapical diseases: a Brazilian multicenter study of 10,381 cases and literature review / A.M.D. Couto, D.P. Meirelles, A.T. Valeriano // Braz Oral Res. –2021. – Vol. 35.

72. Damm D.D. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: a potential alternative to drug holidays / D.D. Damm, D.M. Jones // Gen Dent. – 2013. – Vol. 61. – P. 33.

73. Deev R.V. Ordinary and activated bone grafts: Applied classification and the main features / R.V. Deev, A.Y. Drobyshev, I.Y. Bozo // Biomed Res Int. – 2015.

74. Dinato T.R. Maxilla reconstruction with 100% BioOss: A clinical and tomographic follow-up study / T.R. Dinato, J.C. Dinato, F.C. Sczapanik, M.L. Grossi // J Clin Exp Dent. – 2024. – Vol. 16, № 9. – P. 1110-1119.

75. Duarte N.D. Biomaterials for guided tissue regeneration and guided bone regeneration: a review / N.D. Duarte, P.B. Frigério, G.E.A. Chica, R. Okamoto // Dent J (Basel). – 2025. – Vol. 13, № 4. – P. 179.

- 76.** Ertas Ü. Interesting eruption of 4 teeth associated with a large dentigerous cyst in mandible by only marsupialization / Ü. Ertas, M.S. Yavuz // *J. Oral Maxillofac. Surg.* – 2003. – Vol. 61. – P. 728-730.
- 77.** Figueiredo A. Comparison of a xenogeneic and an alloplastic material used in dental implants in terms of physico-chemical characteristics and in vivo inflammatory response / A. Figueiredo, P. Coimbra, A. Cabrita // *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.* – 2013. – Vol. 33, № 6. – P. 3506-3513.
- 78.** Ferraz M.P. Bone grafts in dental medicine: an overview of autografts, allografts and synthetic materials / M.P. Ferraz // *Materials (Basel)*. – 2023. – Vol. 16, № 11. – P. 4117.
- 79.** Forsprecher J. Transglutaminase-mediated oligomerization promotes osteoblast adhesive properties of osteopontin and bone sialoprotein / J. Forsprecher, W. Zhemeng, A.G. Harvey // *Cell AdhMigr.* – 2011. – № 1. – P. 65-72.
- 80.** Freiburger J.J. What is the role of hyperbaric oxygen in the management of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: A randomized controlled trial of hyperbaric oxygen as an adjunct to surgery and antibiotics / J.J. Freiburger, R. Padilla-Burgos, T. McGraw // *J Oral Maxillofac Surg.* – 2012. – Vol. 70. – P. 1573.
- 81.** Galler K.M. Inflammatory response mechanisms of the dentine–pulp complex and the periapical tissues / K.M. Galler, M. Weber, Y. Korkmaz // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2021. – Vol. 22, № 3. – P. 1480.
- 82.** García A.J. Bio-adhesive surfaces to promote osteoblast differentiation and bone formation / A.J. García, C. D. Reyes // *J Dent Res.* – 2005. – Vol. 84, № 5. – P. 407-413.
- 83.** Golden S.H. Perioperative glycemic control and the risk of infectious complications in a cohort of adults with diabetes / S.H. Golden, C. Peart-Vigilance, W.H. Kao, F.L. Brancati // *Diabetes Care.* – 1999. – Vol. 22, № 9. – P. 1408-1414.
- 84.** Guggenheimer J. Dental management of the (solid) organ transplant patient / J. Guggenheimer, B. Eghtesad, D.J. Stock // *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* – 2003. – Vol. 95. – P. 383-389.
- 85.** Güler N. Ki-67 and MCM-2 in dental follicle and odontogenic cysts: the effects

of inflammation on proliferative markers / N. Güler, N. Comunoğlu, F. Cabbar // *ScientificWorld Journal*. – 2012.

86. Gurung A. Prosthetic management of post-surgical defect in the mandible following marsupialization: a case report / A. Gurung, S.R.B. Mathema, B. Maskey, K. Shrestha // *J. Nepal. Prosthodont. Soc.* – 2020. – № 3. – P. 137-141.

87. Haddada H. Influence of bacteria and dental root canal ph on maxillary radicular cyst's formation: about a case / H. Haddada, M. Guehria // *RHAZES: Green and Applied Chemistry*. – 2020. – Vol. 10. – P. 82-87.

88. Hanazawa S. Functional role of interleukin 1 in periodontal disease: induction of interleukin 1 production by *Bacteroides gingivalis* lipopolysaccharide in peritoneal macrophages from C3H/HeN and C3H/HeJ mice / S. Hanazawa, K. Nakada, Y. Ohmori, T. Miyoshi // *Infect Immun*. – 1985. – Vol. 50, №1. – P. 262-70.

89. Hao Y.1. Assessments of jawbone density at implant sites using 3D cone-beam computed tomography / Y.1. Hao, W. Zhao, Y. Wang, J. Yu // *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. – 2014. – № 18 (9). – P. 1398-1403.

90. Hashimoto M. Degradation patterns of different adhesives and bonding procedures / M. Hashimoto, H. Ohno, H. Sano, M. Kaga // *J Biomed Mater Res*. – 2003. – Vol. 66. – P. 324-330.

91. Herzberg R. Clinical and micro-ct analyses of vertical guided bone regeneration of mandible using a d-ptfe membrane, autogenous bone, and high-temperature processed xenograft- a case series study / R. Herzberg, G. Slutzkey, P. Raz // *Int J Oral Maxillofac Implants*. – 2025. – Vol. 40, № 3. – P. 299-306.

92. Heydecke, G. The restoration of endodontically treated, single-rooted teeth with cast or direct posts and cores: a systematic review / G. Heydecke, M.C. Peters // *J Prosthet Dent*. – 2002. – Vol. 87. – P. 380-386.

93. Hu K. Osteoblast-derived VEGF regulates osteoblast differentiation and bone formation during bone repair / K. Hu, B.R. Olsen // *J Clin Invest*. – 2016. – Vol. 126, № 2. – P. 509-526.

94. Ionna F. Transoral robotic surgery in head and neck district: a retrospective study on 67 patients treated in a single center / F. Ionna, A. Guida, L. Califano, G. Motta //

Infect Agent Cancer. –2020. – Vol. 15.

- 95.** Jafarov R.M. The use of prosthetic obturators for dental rehabilitation of patients with oral cancer / R.M. Jafarov // Endod. Today. – 2022. – Vol. 20. – P. 317-322.
- 96.** Jensen S.S. Current knowledge on allogenic bone substitutes for use in oral surgery / S.S. Jensen, H. Terheyden, D.D. Bosshardt // Clinical Oral Implants Research. – 2018. – Vol. 20. – P. 118-124.
- 97.** Jerbić Radetić A.T. CSBD healing in rats after application of bovine xenogeneic biomaterial enriched with magnesium alloy / A.T. Jerbić Radetić, S. Zoričić Cvek, M. Tomas // Int. J. Ml. Sci. – 2021. – Vol. 22. – P. 9089.
- 98.** Jones A.V. Range and demographics of odontogenic cysts diagnosed in a UK population over a 30-year period / A.V. Jones, G.T. Craig, C.D. Franklin // J Oral Pathol Med. – 2006. – № 8. – P. 500-507.
- 99.** Jung-Eun K. Osteoclastogenesis and osteogenesis / K. Jung-Eun // Int J Mol Sci. – 2022. – Vol. 23, № 12. – P. 6659.
- 100.** Kasper E.K. Management of potential cardiac recipients awaiting transplantation. In: W.A. Baumgartner, B. Reitz, E. Kasper, J. Theodore, editors. Heart and lung transplantation / E.K. Kasper. – Philadelphia: W.B. Saunders Co; 2002. – P. 90-98.
- 101.** Khan A.A. International consensus on diagnosis and management of osteonecrosis of the jaw / A.A. Khan, A. Morrison, D.A. Hanley // J Bone Miner Res. – 2013. – Vol. 22, P. 3-23.
- 102.** Kim J.E. Efficacy of octacalcium phosphate in the treatment of periodontal defects / J.E. Kim // Clinical Oral Implants Research. – 2020. – P.25
- 103.** Kim Y.J. Bone Formation in Grafts with Bio-Oss and Autogenous Bone at Different Proportions in Rabbit Calvaria / Y.J. Kim, K. Silva, P.H. Braz-Silva // Int J Dent. –2020. – Vol. 19.
- 104.** Knight M.N. Mesenchymal stem cells in bone regeneration / M.N. Knight, K.D. Hankenson // Adv. Wound Care (New Rochelle). – 2013. – Vol. 2, № 6. – P. 306-316.
- 105.** Kondell P.A. Reconstruction of the resorbed edentulous maxilla using autogenous rib grafts and osseointegrated implants / P.A. Kondell, A. Nordenram, L.E. Moberg // Clin Oral Implants Res. – 1996. - № 7. – P. 286-290.

- 106.** Krebsbach P.H. Bone formation in vivo: comparison of osteogenesis by transplanted mouse and human marrow stromal fibroblasts / P.H. Krebsbach, S.A. Kuznetsov, K. Satomura // *Transplantation*. – 1997. – Vol. 63. – P. 1059-1069.
- 107.** Kuźniarski A. Development and treatment of radicular cyst in pediatric patient-case report / A. Kuźniarski, J. Kiryk, S. Kiryk, E. Kijak // *J Clin Med*. – 2025. – Vol. 14, № 2. – P. 452.
- 108.** Kuznetsov S.A. Circulating skeletal stem cells / S.A. Kuznetsov, M.H. Mankani, S. Gronthos // *J Cell Bioi*. – 2001. – Vol. 153. – P. 1133-1139.
- 109.** La Rosa G.R.M. Assessment of bone regeneration after maxillary radicular cyst enucleation with or without bone grafting materials: a retrospective cohort study / G.R.M. La Rosa, C.Y. Priolo, R.S. Abiad // *Clin Oral Investig*. – 2024. – Vol. 28, № 4. – P. 213.
- 110.** Landry RG, Turnbull RS, Howley T. Effectiveness of benzydamyne HCl in the treatment of periodontal post-surgical patients. *Res Clin Forum*. 1988; 10:105.
- 111.** Lee S.T. Octacalcium phosphate as a biomaterial for bone regeneration in dental applications / S.T. Lee // *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. - 2019. – P. 3822.
- 112.** Lin L.M. Radicular Cysts Review / L.M. Lin., D. Ricucci, B. Kahler // *JSM Dental Surgery*. – 2017. - №2. – P. 1017.
- 113.** Malik N. Cysts of the oro-maxillofacial region. In: K. Bonanthaya, E. Panneerselvam, S. Manuel, V.V. Kumar(eds) *Oral and Maxillofacial Surgery for the Clinician* / N. Malik. // Singapore: Springer, 2021. – P. 549-575.
- 114.** Manor E. Cystic lesions of the jaws – a clinicopathological study of 322 cases and review of the literature / E. Manor, L. Kachko, M.B. Puterman, L. Bodner // *Int J Med Sci*. – 2012. – Vol. 9, № 1. – P. 20-26.
- 115.** Mario Dioguardi M. Inspection of the microbiota in endodontic lesions / M. Mario Dioguardi, G. Di Gioia, G. Illuzzi // *Dentistry Journal*. – 2019. – Vol.7, № 2. – P. 47.
- 116.** Marx R. *Oral and maxillofacial pathology: a rationale for diagnosis and treatment* / R. Marx, D. Stern. – Chicago: Quintessence, 2003. – 908 p.

- 117.** Miron R.J. Optimized bone grafting / R.J. Miron // *Periodontol* 2000. – 2024. – Vol. 94, № 1. – P. 143-160.
- 118.** Meghji S. Bone remodeling / S. Meghji // *Br Dent J.* – 1992. – Vol. 172. – P. 235–242.
- 119.** Miyauchi T. The enhanced characteristics of osteoblast adhesion to photofunctionalized nanoscale TiO₂ layers on biomaterials surfaces / T. Miyauchi, M. Yamada, A. Yamamoto // *Biomaterials.* – 2010. – Vol.14. – P. 3827-3839.
- 120.** Nair P.N.R. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures / P.N.R. Nair // *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine.* – 2004. – Vol. 15, № 6. – P. 348-381.
- 121.** Neville B.W. Oral and maxillofacial pathology: 4th ed. / B.W. Neville, D.D. Damm, C.M. Allen, A.C.Chi. – St. Louis: Elsevier, 2016. – 928 p.
- 122.** Neville B.W. Periodontal diseases. In: Oral and maxillofacial pathology: 2nd ed. / B.W. Neville, D.D. Damm, C. Allen. – Philadelphia: W.B. Saunders Co, 2002. – P. 145-148.
- 123.** Nicolae C.-L. An up-to-date review of materials science advances in bone grafting for oral and maxillofacial pathology / C.-L. Nicolae, D.-C. Pîrvulescu, A.-G. Niculescu, D. Epistatu // *Materials.* – 2024. – Vol. 17. – P. 4782.
- 124.** Niu G. A 3-year follow-up clinical study on the preservation for vitality of involved tooth in jaw cysts through an innovative method / G. Niu, G. Zhang // *Sci Rep.* – 2024. – Vol. 14. – P. 128.
- 125.** Noriaki A. Multidisciplinary approach for treatment of a dentigerous cyst – marsupialization, orthodontic treatment, and implant placement: a case report / A. Noriaki // *Journal of Medical Case Reports.* – 2018. – Vol. 12. – P. 305-307.
- 126.** Ottl P. Fracture characteristics of carbon fibre, ceramic and non-palladium endodontic post systems at monotonously increasing loads / P. Ottl, L. Hahn, H.C. Lauer // *J Oral Rehabil.* – 2002. – Vol, 29. – P. 175-183.
- 127.** Parfitt A.M. The mechanism of coupling: a role for the vasculature / A.M. Parfitt // *Bone.* – 2000. – Vol. 26. – P. 319-323.
- 128.** Pei J. Management of radicular cyst associated with primary teeth using

decompression: a retrospective study / J. Pei, S. Zhao, H. Chen // *BMC Oral Health*. – 2022. – Vol. 22, № 1. – P. 560.

129. Pereira R.S. Histomorphometric and micro-ct evaluation of cerabone and bio-oss in maxillary sinus lifting: a randomized clinical trial / R.S. Pereira, E. Hochuli-Vieira, C. Statkiewicz, D.L. Pereira Santos // *Medicina*. – 2024. – Vol. 60. – P. 1834.

130. Philipsen H.P. The development of odontogenic cysts: an overview/ H.P. Philipsen // *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. – 1991. – Vol. 72, №1. – P. 56-61.

131. Popoola B.O. Endodontic treatment in children: A five-year retrospective study of cases seen at the university college hospital, Ibadan, Nigeria / B.O. Popoola, O.E. Ayebameru, O.M. Olanloye // *Ann. Ib. Postgrad. Med*. – 2018. – Vol. 16. – P. 136-141.

132. Prada I. Influence of microbiology on endodontic failure. Literature review / I. Prada, P. Micó-Muñoz // *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. – 2019. – Vol. 24, № 3. – P. 364-372.

133. Pylkkö J. Appearance and recurrence of odontogenic keratocysts / J. Pylkkö, J. Willberg, A. Suominen, H.K. Laine // *Clin. Exp. Dent. Res*. – 2023. – Vol. 9, № 5. – P. 894-898.

134. Regezi J.A. Oral pathology: clinical pathologic correlations: 7th ed. / J.A. Regezi, J.J. Sciubba, R.C. Jordan. – St. Louis: Elsevier, 2017. – 496 p.

135. Ruslin M. Epidemiology, treatment, and recurrence of odontogenic and non-odontogenic cysts in South Sulawesi, Indonesia: A 6-year retrospective study / M. Ruslin, K.N. van Trikt, A.S. Yusuf // *J Clin Exp Dent*. – 2022. – Vol. 14, № 3. – P. 247-253.

136. Sah N. ridge preservation using xenograft following tooth extraction: a systematic review and meta-analysis / N. Sah, P.P. Sarode, A. Warang, T. Tarase // *Cureus*. – 2025. – Vol. 17, № 4. – P. 247-253.

137. Sakou I. Bone morphogenetic proteins: from basic studies to clinical approaches / I. Sakou // *Bone*. – 1998. – Vol. 22. – P. 591-603.

138. Schwartz R.S. Post placement and restoration of endodontically treated teeth: a literature review / R.S. Schwartz, J.W. Robbins // *J Endod*. – 2004. – Vol. 30. – P. 289.

- 139.** Shastry T. Single piece flexible obturator for the management of complex maxillary defects: a clinical report / T. Shastry, M. Dhiman, S. Bhandari, G. Pruthi // *J. Prosthet. Dent.* – 2020. – Vol. 124. – P. 810-814.
- 140.** Shear M. Cysts of the oral and maxillofacial regions. 4th ed. / M. Shear, P. Speight. – Oxford: Blackwell Munksgaard, 2007. – 228 p.
- 141.** Siew K. Treatment outcome of repaired root perforation: a systematic review and meta-analysis / K. Siew, A.H. Lee, G.S. Cheung // *J Endod* 2015. – Vol. 41, № 11. – P. 1795-1804.
- 142.** Silva V.T. Which devices can be used to decompress odontogenic cystic lesions in the oral cavity? A systematic review / V.T. Silva, W.G. de Campos, C. Leone // *Br J Oral Maxillofac Surg.* – 2024. – Vol. 62, № 3. – P. 252-258.
- 143.** Sinaee N. Evaluation of the effect of diode laser for debonding ceramic brackets on nanomechanical properties of enamel / N. Sinaee, S. Salahi, M. Sheikhi // *Dent. Res. J. (Isfahan).* – 2018. – Vol. 15. – P. 354-360.
- 144.** Siqueira J.F. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures / J.F. Siqueira, I.N. Rôças // *Journal of Endodontics.* – 2008. – Vol. 34, № 11. – P. 1291-1301.
- 145.** Smieszek-Wilczewska J. Comparison of postoperation bone defects healing of alveolar processes of maxilla and mandible with the use of BioGen and Bio-Oss / J. Smieszek-Wilczewska, R. Koszowski, J. Pajak // *Journal of Clinical and Experimental Dentistry.* – 2010. – P. 1246-1255
- 146.** Song G.J. Window decompression surgery for a large radicular cyst in a 7-year-old patient: A case report / G.J. Song, L. Wang, L.R. Gao // *SAGE Open Med Case Rep.* – 2025. – P. 213-217
- 147.** Spili P. The Impact of instrument fracture on outcome of endodontic treatment / P. Spili, P. Parashos, H.H. Messer // *J Endod.* – 2005. – Vol. 31. – P. 845-850.
- 148.** Stabley J.N. Exercise training augments regional bone and marrow blood flow during exercise / J.N. Stabley, N.C. Moninga, B.J. Behnke, M.D. Delp // *Med. Sci. Sports Exerc.* – 2014. – Vol. 46. – P. 2107-2112.

- 149.** Tzanetakakis GN, Kontakiotis EG, Maurikou DV, Marzelou MP. Prevalence and management of instrument fracture in the postgraduate endodontic program at the Dental School of Athens: a five-year retrospective clinical study. *J Endod.* 2008 Jun;34(6):675-8
- 150.** Tan B. Biomaterial-based strategies for maxillofacial tumour therapy and bone defect regeneration / B. Tan, Q. Tang, Y. Zhong // *Int J Oral Sci.* – 2021. – Vol. 13, № 1. – P. 9.
- 151.** Tekkesin M.S. Odontogenic and nonodontogenic cysts in Istanbul: analysis of 5088 cases / M.S. Tekkesin, V. Olgac, N. Aksakalli // *Head Neck.* – 2012. – Vol. 34, № 6. – P. 852-855.
- 152.** Ten Cate's oral histology: development, structure, and function: 8th ed. / A. Nanci. – St. Louis: Elsevier, 2013. – 379 p.
- 153.** Thomas von Arx T. Evaluation of new cone-beam computed tomographic criteria for radiographic healing evaluation after apical surgery: assessment of repeatability and reproducibility / T. Thomas von Arx, S.F. Janner, S. Hanni // *J Endod.* – 2016. – 42. – P. 236-242.
- 154.** Vescovi P. Bisphosphonates-related osteonecrosis of the jaws: A concise review of the literature and a report of a single-centre experience with 151 patients / P. Vescovi, E. Merigo, M. Meleti // *J Oral Pathol Med.* – 2012. – Vol. 41. – P. 214.
- 155.** Volozhin G. Bioceramics and biocomposites: from research to clinical practice 1st edition: of editor(s): Iulian Antoniac / G. Volozhin, I. Bozo, V.L. Zorin. – USA: The American Ceramic Society, 2019. – P.323-339.
- 156.** Vlasova I.I. Redox-activation of neutrophils induced by pericardium scaffolds / I.I. Vlasova, S.K. Suleimanov, E.V. Mikhailchik // *Int. J. Mol.* – 2022. – Vol. 23, № 24. – P. 24.
- 157.** Wang J. Clinical and radiographic evaluation of Bio-Oss granules and Bio-Oss Collagen in the treatment of periodontal intrabony defects: a retrospective cohort study / J. Wang, W. Cui, Y. Zhao // *J Appl Oral Sci.* – 2024. – Vol. 32. – P. e20230268.
- 158.** Wheeler K.C. VEGF may contribute to macrophage recruitment and M2

polarization in the decidua / K.C. Wheeler, M.K. Jena, B.S. Pradhan // PLoS One. – 2018. – T. 13, № 1. – P. 13, №1.

159. Yang N.Y. Increased interleukin 1 α and interleukin 1 β expression is involved in the progression of periapical lesions in primary teeth / N.Y. Yang, Y. Zhou, H.Y. Zhao // BMC Oral Health. – 2018. – Vol. 18, № 1. – P.124.

160. Yakimov B.P. Detection of HOCl-driven degradation of the pericardium scaffolds by label-free multiphoton fluorescence lifetime imaging / B.P. Yakimov, I.I. Vlasova, Y.M. Efremov, E.G. Maksimov // Sci. Rep. – 2022. – Vol. 12, № 10329.

161. Xue L. Research progress in the treatment of odontogenic jaw cysts / L. Xue, T. Maimaitituxun //International journal of frontiers in medicine. – 2022. – Vol. 4, № 10. – P. 62-67.