

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Российский университет дружбы народов имени
Патриса Лумумбы»

На правах рукописи

Начарьян Эдуард Георгиевич

ЛАБОРАТОРНО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ
ПРИМЕНЕНИЯ КОСТНОГО МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОГО БЕЛКА 2 ПРИ
ДЕНТАЛЬНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ.

3.1.7. Стоматология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Копылов Максим Валерьевич,

кандидат медицинских наук

Москва – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
1.1 Дентальная имплантация у пациентов «группы риска» с низким остеогенным потенциалом.....	19
1.2 Методы и технологии модификации поверхности дентальных имплантатов для повышения их остеоинтеграции.....	27
1.3 Влияние покрытия костным морфогенетическим белком 2 поверхности дентального имплантата на его остеогенерацию	33
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	41
2.1. Теоретическое обоснование выбора рекомбинантного костного морфогенетического белка-2 для модификации поверхности дентальных имплантатов	42
2.2. Материал и методы лабораторно-экспериментальных исследований.	46
2.2.1 Материал и методы токсикологических исследований.	49
2.2.2 Материал и методы микробиологических исследований.....	53
2.3 Материал и методы экспериментальных исследований.	55
2.3.1 Протокол проведения имплантации в эксперименте	57
2.3.2 Материал и методы рентгенологического исследования	61
2.3.3 Методы морфогистологического исследования экспериментального материала.....	61
2.3.4 Методика иммуногистохимического исследования	65
2.4 Методы статистического анализа	67
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ЛАБОРАТОРНО- ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	69
3.1 Результаты токсикологических исследований.....	69
3.2 Результаты микробиологических исследований	79

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	84
4.1 Результаты исследования оптической плотности костной ткани в зоне имплантации методом конусно-лучевой компьютерной томографии	85
4.2 Результаты гистологической и морфометрической оценки процессов остеоинтеграции	108
4.3 Результаты иммуногистохимического исследования	133
4.4 Статистический анализ результатов морфометрического исследования ...	146
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	164
ВЫВОДЫ:	170
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ:	171
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	172
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	174

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Дентальная имплантация в настоящее время является одним из наиболее эффективных и клинически обоснованных методов восстановления утраченных зубов и реабилитации пациентов с вторичной адентией. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, оптимальный уровень качества жизни обеспечивается при сохранении не менее 20 функционально полноценных зубов на протяжении всей жизни, тогда как их утрата приводит к выраженным функциональным, эстетическим и психоэмоциональным нарушениям (Chalub L.L., Martins C.C., Ferreira R.C., 2017; Go H.J., Kim S.J., Lee D.W., 2024). Эпидемиологические исследования указывают на устойчивую тенденцию к омоложению вторичной адентии и росту потребности в имплантационном лечении, что обуславливает высокую социальную и медицинскую значимость совершенствования технологий дентальной имплантации (Park J.H., Kim Y.S., Lee J.H., 2019; Lee J.H., Park J.H., Kim Y.S., 2019; Schonberger T., Schindler H.J., Kirschneck C., 2023; Alibrahim M., Alzahrani A., Alharbi F., 2024).

Несмотря на высокие показатели клинической эффективности дентальной имплантации, одним из ключевых факторов, определяющих ее ближайшие и отдаленные результаты, остается качество остеоинтеграции — формирование прочной структурно-функциональной связи между поверхностью имплантата и костной тканью (Albrektsson T., Brånemark P.I., Hansson H.A., Lindström J., 1981; Albertini M., Fernandez-Yague M., Lázaro P., Herrero-Climent M., 2015; Antal M., Novák P., 2025). Нарушение процессов костного ремоделирования, снижение минеральной плотности и остеогенного потенциала костной ткани существенно повышают риск ранней и поздней потери имплантатов, особенно у пациентов «группы риска» с системными метаболическими нарушениями, остеопорозом, дефицитом витамина D и возрастными изменениями костного

обмена (Дьячкова А.А., 2024; Fan Y., Chen J., Li W., 2024; Chaudhary N.K., Singh R., Kaur P., 2024; Naso C.M., Smith J.D., Brown A., 2025).

В связи с этим одной из приоритетных задач современной стоматологии является поиск и научное обоснование методов целенаправленного повышения остеогенного потенциала дентальных имплантатов. Современные подходы включают физическую, химическую и биологическую модификацию поверхности имплантатов, направленную на улучшение их биосовместимости, стимуляцию адгезии и дифференцировки остеогенных клеток, а также ускорение процессов остеоинтеграции (Григорьян А.С., Топоркова Л.А., 2007; Кулаков А.А., Григорьян А.С., Рабухина Н.А., 2019; Kunrath M.F., Dos Santos J., Hubler R., 2024; Maher S., Barry F., Kelly D.J., 2024).

Особый научный интерес в последние годы вызывает биологическая функционализация поверхности дентальных имплантатов с использованием факторов роста и морфогенетических белков костной ткани. Среди них костный морфогенетический белок 2 (BMP-2) рассматривается как один из ключевых регуляторов остеогенеза, способный индуцировать дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток в остеобласты и стимулировать формирование новой костной ткани (Семёнов П.С., 2013; Бартов М.С., 2015; de Queiroz Fernandes J., de Lima E.D., Ribeiro E.D., 2018; Kuznetsova V.S., Petrovskaya L.E., Ivanov A.V., 2024).

Экспериментальные исследования показали, что локальное применение рекомбинантного BMP-2 способствует увеличению показателей костно-имплантатного контакта, повышению механической стабильности имплантатов и ускорению репаративного остеогенеза (Yoo D., Tovar N., Jimbo R., 2014; Cardoso M.V., Vandamme K., Chaudhari A., 2017; Pang K., Wang Y., Zhao Z., 2021; Cho Y.C., Kim J.H., Lee J.Y., 2024). При этом отмечается, что эффективность BMP-2 в значительной степени определяется способом его доставки и фиксации на поверхности имплантата, а также дозировкой, что требует разработки оптимальных технологий нанесения и контролируемого

высвобождения белка (Huh J.B., Park C.Y., Kim S.E., 2015; Park J.W., Kim Y.J., Jang J.H., 2016; Raza F.B., Khatri M., Zafar M.S., 2022).

Наряду с выраженным остеоиндуктивным потенциалом, в литературе обсуждаются вопросы биологической безопасности применения BMP-2, включая возможные цитотоксические эффекты, риск воспалительных реакций и влияние на микробную адгезию поверхности имплантата (Boyne P.J., Marx R.E., Nevins M., 2005; Carragee E.J., Hurwitz E.L., Weiner B.K., 2011; James A.W., LaChaud G., Shen J., 2016; On S.W., Kim H.S., Park Y.B., 2023). В этой связи особую актуальность приобретает лабораторно-экспериментальная оценка цитостатических свойств имплантатов, покрытых рекомбинантным BMP-2, а также изучение первичной адгезии кариесогенных и пародонтопатогенных микроорганизмов, поскольку микробная колонизация поверхности имплантата является одним из ключевых факторов развития периимплантита (Zhao G., Raines A.L., Wieland M., 2009; Jeong R., Marin C., Chaudhary N., 2019; Shayeb M.A., Alqahtani A.S., Alotaibi M.F., 2024).

Таким образом, несмотря на наличие значительного массива экспериментальных данных, сохраняется необходимость комплексного лабораторно-экспериментального исследования, направленного на разработку методики нанесения рекомбинантного BMP-2 в качестве покрытия дентальных имплантатов, оценку его цитобиологической безопасности, микробиологической устойчивости и остеоиндуктивного потенциала в условиях *in vitro* и *in vivo*. Проведение такого исследования позволит научно обосновать применение BMP-2-содержащих покрытий и сформировать предпосылки для создания дентальных имплантатов нового поколения, предназначенных для использования у пациентов с низким остеогенным потенциалом.

Цель исследования – повышение остеогенного потенциала дентальных имплантатов путем лабораторно-экспериментального обоснования применения их покрытия рекомбинантным BMP-2.

Задачи исследования

1. По результатам анализа научных информационных источников выявить оптимальный рекомбинантный BMP-2 и оценить его возможность применения в составе покрытия дентальных имплантатов для повышения их остеоинтеграции.

2. Оценить цитостатические свойства дентальных имплантатов, покрытых рекомбинантным BMP-2 в МТТ-тесте.

3. Определить первичную адгезию кариесогенных и пародонтопатогенных микроорганизмов к дентальным имплантатам, покрытых рекомбинантным BMP-2.

4. Оценить морфологические и морфометрические особенности процессов остеоинтеграции дентальных имплантатов с экспериментальным покрытием в сравнении с контрольными образцами на различных сроках наблюдения (3 и 5 месяцев) в эксперименте *in vivo*.

5. Изучить особенности экспрессии остеогенных маркеров остеоонектина и остеоопонтина в тканях, окружающих дентальные имплантаты с экспериментальным покрытием и без него, на различных этапах остеоинтеграции.

Научная новизна исследования.

Впервые в эксперименте *in vivo* показано, что применение дентальных имплантатов с экспериментальным биоактивным покрытием приводит к достоверному увеличению доли пластинчатой костной ткани в периимплантатной зоне по сравнению с контрольными образцами: через 3

месяца — до 9–14% против 3–7% в контроле ($p < 0,05$), через 5 месяцев — до 11–24% против 3–8% ($p < 0,05$).

Впервые установлено, что в опытной группе на сроке 5 месяцев наблюдается статистически значимое снижение доли грубоволокнистой костной ткани по сравнению с контрольной группой (61–85% против 77–91%, $p < 0,05$), что свидетельствует о более высокой степени зрелости костного регенерата.

Впервые доказано, что имплантаты с экспериментальным покрытием обеспечивают более выраженную минерализацию костной ткани, что подтверждено увеличением показателей оптической плотности по данным КЛКТ: в кристалльной зоне — до 2500–2700 HU в опытной группе против 1800–2200 HU в контроле ($p < 0,05$), а также более равномерным распределением плотности по длине имплантата.

Впервые установлено, что использование биоактивного покрытия сопровождается достоверно более высокой экспрессией остеогенных маркеров SPARC (остеонектин) и остеопонтина: уже через 3 месяца выявлялась умеренно-выраженная экспрессия SPARC и остеопонтина в остеобластах и остеоцитах опытной группы, тогда как в контрольной группе экспрессия носила слабый или умеренный характер; различия сохранялись и усиливались к 5 месяцам наблюдения ($p < 0,05$).

Впервые показано, что остеоинтеграция имплантатов с экспериментальным покрытием характеризуется более равномерным формированием костно-имплантатного контакта, снижением выраженности зон рентгенологического просветления ($\leq 0,6$ мм) и увеличением площади сосудистого русла в периимплантатной зоне (до 3035 мкм² против 295–1690 мкм² в контроле, $p < 0,05$), что указывает на усиление ангиогенеза.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты диссертационного исследования существенно расширяют современные представления о механизмах остеоинтеграции дентальных имплантатов и роли биоактивных покрытий в регуляции репаративного остеогенеза. Установленные морфологические, морфометрические и иммуногистохимические закономерности дополняют теоретические положения о фазности формирования костного матрикса и процессах его ремоделирования в периимплантатной зоне.

Полученные данные имеют практическое значение для клинической имплантологии, поскольку обосновывают целесообразность применения дентальных имплантатов с биоактивным покрытием для повышения качества и предсказуемости остеоинтеграции, особенно в условиях сниженного остеогенного потенциала костной ткани. Разработанные критерии оценки остеоинтеграции могут быть использованы в экспериментальных исследованиях, при доклинической апробации имплантационных систем, а также в образовательном процессе при подготовке врачей-стоматологов и научных кадров.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Применение дентальных имплантатов с экспериментальным биоактивным покрытием обеспечивает статистически значимое улучшение морфологических и морфометрических показателей остеоинтеграции по сравнению с контрольными имплантатами, что выражается в увеличении доли пластинчатой костной ткани, более равномерном формировании костно-имплантатного контакта и повышении степени зрелости костного матрикса на сроках 3 и 5 месяцев ($p < 0,05-0,01$).

2. Использование экспериментального покрытия дентальных имплантатов способствует активации остеогенных процессов, что подтверждается более ранней и выраженной экспрессией маркеров костеобразования SPARC

(остеонектин) и остеопонтина в периимплантатных тканях по сравнению с контрольными образцами, свидетельствуя об усилении процессов формирования, ремоделирования и минерализации костного матрикса.

Методология и достоверность исследования

Методологической основой диссертационного исследования послужил системный и междисциплинарный подход, включающий анализ данных современной научной литературы, экспериментальное *in vivo* моделирование, морфологические, морфометрические, рентгенологические и иммуногистохимические методы исследования, а также методы математической статистики.

Исследование выполнено поэтапно и включало аналитический, экспериментальный и обобщающий этапы. На аналитическом этапе проведён систематический анализ отечественных и зарубежных научных источников, посвящённых вопросам остеоинтеграции дентальных имплантатов и применению биоактивных покрытий, что позволило обосновать актуальность работы, сформулировать цель и задачи исследования, а также выбрать оптимальные методические подходы.

Экспериментальная часть исследования выполнена в условиях *in vivo* с использованием модели дентальной имплантации у животных. Все экспериментальные вмешательства проводились с соблюдением принципов гуманного обращения с лабораторными животными, в соответствии с действующими нормативными документами и требованиями биоэтики. Формирование опытных и контрольных групп осуществлялось с учётом сопоставимости условий эксперимента, сроков наблюдения (3 и 5 месяцев) и используемых имплантационных систем.

Для оценки процессов остеоинтеграции применялись взаимодополняющие методы исследования. Конусно-лучевая компьютерная томография использовалась для количественной оценки оптической плотности костной

ткани (НУ) в различных зонах периимплантатного пространства. Морфологический анализ выполнялся на серийных гистологических срезах с применением стандартных методов окраски, что позволило качественно охарактеризовать структуру новообразованной костной ткани. Морфометрическое исследование проводилось с использованием цифровой микроскопии и программных средств количественного анализа, обеспечивших объективную оценку площади различных типов тканей, клеточного состава и показателей ангиогенеза. Иммуногистохимическое исследование включало определение экспрессии остеогенных маркеров SPARC (остеонектин) и остеопонтина, отражающих активность процессов остеогенеза, ремоделирования и минерализации костного матрикса.

Достоверность полученных результатов обеспечивалась достаточным объёмом экспериментального материала, применением стандартизированных методик, использованием контрольных групп, а также повторяемостью измерений. Все количественные данные подвергались статистической обработке с использованием методов вариационной статистики. Проверка нормальности распределения осуществлялась с применением стандартных критериев, после чего для оценки межгрупповых различий использовались параметрические и непараметрические методы анализа. Различия считались статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

Сопоставимость результатов, полученных различными методами исследования (КЛКТ, морфология, морфометрия и иммуногистохимия), а также их взаимное подтверждение обеспечивают высокую степень внутренней согласованности выводов и позволяют считать полученные данные научно обоснованными, воспроизводимыми и достоверными.

Внедрение результатов исследования.

Материалы и результаты проведённого исследования были внедрены в образовательный процесс Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский

университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», используются при подготовке обучающихся по программам высшего и дополнительного профессионального образования. Кроме того, результаты работы нашли практическое применение в лечебно-диагностической деятельности клинических подразделений и стоматологических клиник Института цифровой стоматологии РУДН, Центра цифровой стоматологии «МАРТИ», а также пародонтологического центра «МаксТрит».

Личное участие автора

Автор лично выполнил анализ и систематизацию отечественных и зарубежных научных источников по проблеме остеоинтеграции дентальных имплантатов и применения биоактивных покрытий, на основании которого обоснована актуальность исследования и сформулированы его основные положения.

Автор принимал непосредственное участие в планировании и проведении экспериментального этапа исследования *in vivo*, включая формирование контрольных и опытных групп, установку дентальных имплантатов, определение сроков наблюдения, а также в сборе экспериментального материала. Автором выполнен анализ данных конусно-лучевой компьютерной томографии, включая измерение и интерпретацию показателей оптической плотности костной ткани в периимплантатной зоне.

Автором проведён морфологический анализ гистологических препаратов, морфометрическая обработка цифровых изображений с количественной оценкой площади костной и соединительной ткани, клеточного состава и показателей ангиогенеза. Автор принимал участие в выполнении иммуногистохимических исследований, интерпретации экспрессии остеогенных маркеров SPARC (остеонектин) и остеопонтина, а также в сопоставлении полученных данных с результатами морфологических и рентгенологических исследований.

Автором самостоятельно выполнена статистическая обработка результатов исследования, проведён анализ полученных данных, интерпретация статистической значимости выявленных различий и формирование обобщающих выводов.

Автору принадлежит ведущая роль в обобщении и научной интерпретации результатов исследования, формулировании выводов, положений, выносимых на защиту, практических рекомендаций, а также в подготовке текста диссертационной работы и публикаций по теме исследования.

Список публикаций по теме диссертации

По материалам исследования опубликовано 4 печатные работы, из них 1 включены в международные базы цитирования WoS и Scopus, 3 в журналах, рекомендованных Перечнями РUDN/BAK.

Публикации в изданиях, включенных в международные базы цитирования WoS и Scopus

1. Степанов А.Г., Апресян С.В., Начарьян Э.Г., Копылов М.В., Казарян Г.Г., Джуманиязова Э.Д., Карягина В.Е. Оценка цитотоксичности ВМР-2 в составе покрытия дентальных имплантатов в эксперименте *in vitro* // Российский стоматологический журнал. - 2025. - Т. 29. - №3. - С. 210-218. doi: [10.17816/dent654080](https://doi.org/10.17816/dent654080)

Публикации в изданиях, рекомендованных Перечнями РUDN/BAK

2. Степанов А. Г., Апресян С. В., Начарьян Э. Г., Копылов М. В., Маркин В. А. Влияние покрытия костным морфогенетическим белком 2 поверхности дентального имплантата на его остеогенерацию . Проблемы стоматологии. 2025; 1: 142-147. DOI: 10.18481/2077-7566-2025-21-1-142-147.

3. Степанов А.Г., Апресян С.В., Гизингер О.А., Начарьян Э.Г., Копылов М.В. Оценка микробной адгезии тест-культур на поверхности образцов конструкционного материала для производства дентальных имплантатов с

нанесенным покрытием костного морфогенетического белка-2. Проблемы стоматологии. 2025; 2: 113-117. DOI: 10.18481/2077-7566-2025-21-2-113-117.

4. Степанов А.Г., Апресян С.В., Начарьян Э.Г., Копылов М.В., Левина В.С. Оценка остеогенного потенциала поверхности дентальных имплантатов, покрытых рекомбинантным BMP-2, в эксперименте *in vivo*. — Клиническая стоматология. — 2026; 29 (1): 153—159. DOI: 10.37988/1811-153X_2026_1_15

Апробация работы.

Основные положения и результаты диссертационного исследования были представлены, доложены и обсуждены на научно-практической конференции стоматологов ФМБА России «Актуальные вопросы профилактики и лечения заболеваний полости рта», приуроченной к 30-летию ФГБУЗ «Клинический центр стоматологии ФМБА России» (26–27 сентября 2025 года, г. Москва).

Кроме того, материалы диссертационной работы были рассмотрены на совместном заседании кафедры ортопедической стоматологии и Института цифровой стоматологии Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (протокол № 0300-65-БУП-15 от 10 июня 2026 года).

По результатам обсуждения работа была апробирована, получила положительную оценку, одобрена и рекомендована к защите по соответствующей научной специальности.

Объем и структура диссертации.

Диссертационная работа изложена на 204 страницах машинописного текста и имеет традиционную логически выстроенную структуру, включающую разделы «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», две главы, посвящённые результатам собственных экспериментальных и лабораторных исследований, а также разделы «Заключение», «Выводы», «Практические рекомендации» и «Список использованной литературы».

Работа иллюстрирована 72 рисунками и фотоматериалами и содержит 10 таблиц, что обеспечивает наглядность представления экспериментальных данных, облегчает их интерпретацию и способствует объективной оценке полученных результатов.

В разделе «Обзор литературы» выполнен аналитический обзор 262 источников научной информации, из которых 66 представлены отечественными и 196 — зарубежными публикациями. Широкий охват современных и фундаментальных исследований подтверждает достаточную степень изученности рассматриваемой проблемы, а также обосновывает актуальность выбранного направления и корректность постановки целей и задач настоящего диссертационного исследования.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), оптимальный уровень качества жизни обеспечивается при сохранении 20 и более функциональных зубов на протяжении всей жизни без необходимости их замены (восстановления) [Chalub, et al. 2017; Go et al., 2024]. Результаты отдельных национальных исследований указывают, что средний возраст людей, подпадающих под данную эпидемиологическую характеристику, составляет 42,1 года, однако наблюдается тенденция постепенного снижения данной возрастной границы, а, следовательно, омоложения вторичной адентии (частичного отсутствия зубов, потери одного или нескольких зубов вследствие несчастного случая, удаления и проч.) как рекуррентной дентальной аномалии [Park et al., 2019; Lee et al., 2019; Schonberger et al., 2023; Alibrahim et al., 2024]. Ежегодная частота потери одного или нескольких постоянных зубов составляет от 1,3% до 13,7% на 100 тыс. человек глобального населения; их среднее количество уменьшается с возрастом в следующей градации: с 27 единиц в возрасте от 20-34 лет до 23,3 в возрасте 50-64 лет, с 21,7 в возрасте 65-74 лет до 19,8 в возрасте 75 лет и старше [Haugejorden et al., 2003; Kassebaum et al., 2017; Oral Health Surveillance Report, 2024].

В качестве основной причины потери естественных зубов называются патологии зубочелюстной системы (ЗЧС), доминирующее положение среди которых (53,8-64,8%) занимает кариес постоянных зубов и его осложнения [Abdalla et al., 2024]; совокупный прирост случаев кариеса постоянных зубов с начала 90-х гг. XX в. составляет 34,04-35,9% [Shoae et al., 2024; Huang et al., 2024; Sun et al. 2024]. Среди иных эпидемиологически значимых заболеваний, отмечаются пульпит, гингивит и пародонтит [Links between oral health and general health, 2011; Oral Health Surveillance Report 2019, 2024]. Аналитики CDC указывают, что 47,2% людей старше 30 лет страдают от того или иного заболевания тканей пародонта, что свидетельствует о снижении социального

акцента на культуре индивидуального, в том числе стоматологического, здоровья [Oral Health Surveillance Report, 2024].

Появление новых клинико- и экономически эффективных диагностических и лечебных технологий на рынке медицинских (стоматологических) услуг, обуславливают все более возрастающий спрос на дентальную имплантацию, как релевантный способ восстановления утраченных постоянных зубов и, таким образом, улучшения качества жизни пациентов за счет достижения морфологического, функционального и эстетического равновесия в ЗЧС [Коваленко, 2011; Налбандян и др., 2018; Токаревич и др., 2023]. Показанием к дентальной имплантации также является установка временных или постоянных ортопедических конструкций для обеспечения ее оптимальной механической фиксации (например, при полной адентии, отсутствии последних зубов в ряду и проч.) [Tun Naing et al., 2022; Awawdeh, 2024].

Вместе с тем, данный метод стоматологической реабилитации имеет широкий спектр медицинских ограничений. Выделяются абсолютные, общие и локальные относительные противопоказания; к первым относят: болезни крови и системы кровообращения (лейкоз, анемия, коагулопатия и проч.), онкологические заболевания (при наличии злокачественных опухолей), заболевания центральной нервной (ЦНС), сердечно-сосудистой, нервной и иммунной системы, системные заболевания соединительной ткани (красная волчанка, склеродермия и проч.), также отдельные хронические заболевания (туберкулез, сахарный диабет I типа, алкоголизм, наркомания и проч.), аллергия на обезболивающие препараты или их плохая переносимость, конструкционные материалы, из которых изготовлена реставрация, повышенный рвотный рефлекс и проч. К общим относительным противопоказаниям относят: дестабилизацию эндокринной системы, респираторные заболевания, авитаминозы, болезни височно-нижнечелюстного сустава (ВНЧС), воспалительные, инфекционные и

отдельные венерические заболевания (сифилис и проч.), беременность и проч.; к местным относительным – заболевания тканей пародонта, наличие кариеса и других патологий полости рта, неправильный прикус, плохая гигиена полости рта, недостаточный объем костной ткани, протяженные (объемные) костные дефекты проч. [Хоббек и др., 2007; Иванов, 2013; Хафизов и др., 2021; Ваулина, 2024].

Одной из актуальных задач современной стоматологии (ортопедии) является решение проблемы оптимальной остеоинтеграции дентального имплантата – прочной структурно-функциональной связи между поверхностью имплантата и костной тканью, что является решающим фактором для обеспечения позитивных отдаленных результатов ортопедического лечения [Albrektsson et al., 1981; Albertini et al., 2015; Antal, Novák, 2025]. Известно, что имплантационное протезирование сопряжено с достаточно широким спектром рисков, включая вероятность отторжения имплантатов [Mouhibi et al., 2022; Teshaboev et al., 2023; Park et al., 2024]. Так, согласно результатам лонгитюдного исследования (1999-2021), проведенного Ч.М. Ким и соавт., из 10 666 зубных имплантатов, установленных 4063 пациентам, не прижились 259 у 170 пациентов (4,18%) [Kim et al., 2025]. По усредненным данным, риск отторжения конструкции составляет не более 20% [Kurka et al., 2024]. Вместе с тем, установлено, что нарушения процессов костного ремоделирования при системных метаболических заболеваниях скелета (остеопороз, остеомалация, гипо- и гиперпаратиреоз и проч.) существенно повышают риск ранней потери имплантата вследствие недостаточной остеогенерации. Так, по данным эпидемиологических исследований последних лет, распространенность остеопороза среди лиц старше 50 лет составляет до 42,4%, что, среди прочего, обуславливает высокую актуальность совершенствования протоколов дентальной имплантации у пациентов с «остеогенной недостаточностью» [Дьячкова, 2024; Fan et al., 2024; Chaudhary et al., 2024; Naso et al., 2025].

Современным клиническим сообществом предложен достаточно широкий спектр подходов к профилактике и лечению нарушений остеогенерации, как предиктивной меры для достижения оптимальных, в том числе, отдаленных результатов дентальной имплантации: реализация антирезортивной и остеонаболической терапии, локальное использование в качестве модифицирующих компонентов факторов роста и мофогенетических белков костной ткани [Сучков, 2019; Shin et al., 2022; Tuikampree et al., 2024]. Однако, в литературе отмечается высокая дифференциация результирующих клинических эффектов данных и иных подходов, что, с одной стороны, обусловлено спецификой этиологии (например, вследствие нарушения костного или минерального обмена) и вариабельностью дефектов зубных рядов, и недостатком исследований на достаточно больших выборках, с другой [Рощин, 2024]. Таким образом, поиск новых решений для повышения остеогенного потенциала при дентальной имплантации в настоящее время остается актуальной задачей.

1.1 Дентальная имплантация у пациентов «группы риска» с низким остеогенным потенциалом

Одной из актуальных проблем современной клинической стоматологии является снижение количества осложнений и сокращение сроков стоматологической реабилитации пациентов. Длительное лечение и связанные с этим функциональные и эстетические недостатки является одной из причин отказа от последующего ортопедического лечения [Кулаков и др., 2019; Аккужин и др., 2020]. Согласно современной концепции остеоинтеграции дентальных имплантатов, нормальная приживаемость конструкции (реставрации) обеспечивается последовательностью трех основных стадий (фаз), отражающих постепенную регенерацию кости [Алейникова, Шабанович, 2006; Поройский и др., 2015; Ивашенко, Альисса, 2018].

На первой стадии (остеокондукции) происходит привлечение и миграция остеобластов на поверхность имплантата через остаток формируемого вокруг него кровяного сгустка. В его состав входят фибрин, тромбоциты, сосудистые, эпидермальный, инсулиноподобный, трансформирующий и иные факторы роста, инициирующие заживление костной ткани и способствующие образованию коллагеновой матрицы, определяя фиксацию имплантата в костной ткани [Meyer et al., 2007; Фирсова и др., 2015; Li et al., 2020; Cooper, Shirazi, 2022]. Фибрин проникает в очаг заживления и фиксируется на поверхности имплантата; к волокнам фибрина, под действием факторов роста, синтезируемых тромбоцитами, прикрепляются остеогенные клетки. Факторы роста, привлекают фибробласты и другие недифференцированные клетки в зону трехмерной биологической матрицы, и стимулируют их дифференциацию.

Специфика течения данного этапа (стадии, фазы) остеоинтеграции является определяющей. Способность имплантационного материала служить проводником фронта регенерации (остеокондукция), при необходимости, в том числе при низком остеогенном статусе у пациентов «группы риска» (с соматическими заболеваниями, лиц пожилого и старческого возраста), стимулируется с использованием специальных биосовместимых (остеопластических) материалов различного химического состава и происхождения. В их состав могут быть включены биоактивные молекулы для стимуляции ангиогенеза (васкулярный фактор роста, тромбоциты), факторы стимуляции остеогенеза (костные морфологические белки – 2, 7 и проч.) [Cardaropoli, 2009; Amini et al., 2012; Szwed-Georgiou et al., 2023; Leon, Romanos, 2025]. В современной ортопедической, а также травматологической практике широко применяются такие стимуляторы остеогенеза, как мезенхимеальные мультипотентные стволовые клетки (ММСК), факторы роста (например, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), фактор роста тромбоцитов (PDGF) и инсулиноподобный фактор роста (IGF)), PRP

технология (введение в патологическую зону аутологичной, обогащенной тромбоцитами плазмы крови, с содержащимися в α -гранулах тромбоцитов факторами роста – PDGF, VEGF, TGF – трансформирующий фактор роста, IGF-I, IGF-II, FGF, ECGF и проч.) и другие [Конев и др., 2021].

Плотное прикрепление кровяного сгустка к поверхности имплантата и образования фибриновых «связей» между ними и жизнеспособной костью создают условия для полиферации остеогенных клеток вдоль нитей фибрина по направлению к имплантату и образования кости *de novo* на поверхности самой реставрации – контактного остеогенеза, которым в последующем определяется наступление остеоинтегрированного контакта [Параскевич, 2011; Хафизов и др., 2021]. Данный процесс происходит на второй фазе (остеоиндукция) остеоинтеграции. В свою очередь, в процессе дистантного остеогенеза осуществляется образование костной ткани на поверхности, окружающей имплантат кости. Остеогенные клетки ложа реставрации запускают процесс костного матрикса образования. Остеобласты, прикрепляемые к поверхности реставрации, синтезируют ряд белков-маркеров остеогенеза (например, сиалопротеин, остеопонтин, остеокальцин и проч.), которые способствуют адгезии остеогенных клеток на поверхности имплантата, а также закреплению минеральных соединений во вновь образованном органическом матриксе кости. Далее, на поверхности реставрации, происходит построение коллагеновой матрицы и отложение остеоподобного вещества, в последующем трансформируемое в костное [Palmquist, 2018; Zhu et al., 2021; Tupe et al., 2024]. Стимуляция регенерации за счет индукции репаративного остеогенеза (остеоиндукции) основана на повышении пролиферативной активности остеогенного пула, обеспечении накопленной в результате пролиферации клеточной массы потенциями к остеогенной дифференцировке [Nevins et al., 2009; Павлова и др., 2010; Hutchings et al., 2020; Ahmadi et al., 2022; Mouzoura et al., 2025].

Третья фаза (ремоделирование кости) представляет собой длительный процесс перестройки, складывающийся из чередующихся самоподдерживающихся циклов резорбции и образования костной ткани. Резорбция незрелой кости происходит преимущественно в результате воздействия секретируемых остеобластами матриксных металлопротеиназ. Построение новой кости в направлении поверхности имплантата осуществляется вследствие высокой функциональной активности клеток остеобластического ряда и сопровождающейся экспрессии щелочной фосфатазы. В норме стабилизация процесса перестройки достигается в среднем через 18 месяцев; его результатом является соединение новообразованной кости с окружающим губчатым веществом [West, Oates, 2007; Котенко, 2010; Rizzo, 2019; Huang et al., 2023].

Стимулирование приживления имплантата на указанных стадиях остеоинтеграции также может быть осуществлено путем воздействия не на саму реставрацию, а на организм пациента в целом, на его реактивность, способность тканей, окружающих имплантат, реагировать на реставрацию как на родственный элемент, то есть стимулировать процессы приживления имплантата. Для решения данной задачи в комплекс стоматологического лечения пациентов «группы риска» с низким остеогенным статусом, вводятся терапевтические решения, медикаментозные (антирезортивные, остеонаболические, остеотропные препараты, витамины и проч.) и немедикаментозные (клеточная терапия, рефлексотерапия, импульсное электромагнитное поле, низкочастотный ультразвук, лазер низкой интенсивности), в том числе альтернативные (биофлавоноиды, мелатонин, симвастатин, экстракт клеток остеосаркомы и проч.), направленные на повышение остеогенного статуса и оказывающие положительное влияние на минеральный обмен и метаболизм тканей челюстных костей [Казиева, 2014; Асфаров, 2024; Ущиповская и др., 2024].

Беспрепятственное прохождение указанных стадий остеоинтеграции свидетельствует об успешно проведенной дентальной имплантации. К ключевым факторам, обеспечивающим положительные ближайшие и отдаленные результаты операции, относятся: биосовместимость конструкционного материала, дизайн имплантата (макротопография), качество поверхности имплантата (микротопография, шероховатость, поверхностная энергия и проч.), ортопедическая нагрузка, достаточный объем и качество челюстной костной ткани, и здоровое костное ложе (наличие кровяного сгустка и остеогенных клеток) [Ивашенко, Альисса, 2018; Монаков, 2018]. В настоящее время в клинической практике приоритет отдается имплантатам, изготовленным из циркония, титана и их сплавов; стоматологические конструкции из них считаются нетоксичными, гипоаллергенными, не вызывают воспалений, препятствуют бактериальной адгезии. Отмечаются уникальные биологические свойства титановых сплавов, содержащих медь и серебро [Bormann et al., 2018; Hanawa, 2019; Ma et al., 2022; Padhye et al., 2023; Morena et al., 2024].

В процессе остеоинтеграции титанового дентального имплантата решающее значение, таким образом, имеет общая (первичная и вторичная) стабильность; первичная стабильность обеспечивается достаточностью и качеством кости, в которую устанавливается имплантат, конструктивными особенностями его системы, такими как шаг резьбы, форма внутрикостной части (цилиндрическая, коническая), степень соответствия реставрации размеру высверленного в костной ткани канала и наличие на нем крупных вырезок (макротопография) [Сергеев, 2023]. Проблема дефицита костной ткани решается посредством современных медицинских технологий, основанных на трансплантации собственной кости, полученной из внеротовых и внутриротовых источников. В качестве альтернативы применяется синуслифтинг, тканеинженерные конструкции, клеточные продукты, остеопластические материалы на основе аллогенного и ксеногенного

коллагенового матрикса, как в чистом виде, так и в активированном, путем добавления генных конструкций, факторов роста и клеточной дифференцировки и проч. [Волков, 2018; Усатов, 2018; Садиллина, 2019; Сучков, 2019; Аккужин и др., 2020; Драгунова, 2024].

В широком смысле, под качеством кости понимается совокупность всех ее характеристик, влияющих на прочность костной ткани; оно определяется свойствами костного матрикса, в том числе микроархитектурой, обменом веществ в костной ткани, накоплением микроповреждений, степенью кальцификации и содержанием коллагена [Fyhrrie, 2005; Yasuda et al., 2020]. Одной из важнейших составляющих прочности кости является функция костного ремоделирования. Процесс ремоделирования костной ткани обеспечивает ее прочность при механических нагрузках, регулирует минеральный гомеостаз за счет запасов кальция, депонированных в костной ткани. При высокой скорости костного метаболизма резорбтивная фаза ремоделирующего цикла может критически ослабить прочность кости и делает ее уязвимой для повреждения при стандартных нагрузках [Дорофейчик-Дрыгина, Дрыгина, 2018].

Прочность кости также находится в прямой зависимости от минеральной плотности костной ткани [Рожинская, 2003; Felsenberg, Boonen, 2005; Yasuda et al., 2020]. Минерализация кости связана с накоплением ионов кальция и фосфора во вновь образованном костном матриксе, при участии, соответственно, кальций-связывающих белков, а также фосфолипидов и хондроитинсульфата основного вещества [Иванов и др., 2018; Hong et al., 2022]. Нарушения минерального обмена, как правило, наблюдаются у пациентов с соматическими патологиями и лиц пожилого и старческого возраста [Гусева и др., 2013; Болтаев, Мадарипова, 2020; Wu et al., 2022; Dave et al., 2023]. Помимо остеопороза, также называются аутоиммунные заболевания, такие как остео- и ревматоидный артрит; у пациентов с данным заболеванием имеется ряд системных сопутствующих заболеваний, помимо

хрупкости кости (связанной с эрозией кости), также хронический пародонтит [Wegner et al., 2010; Sheehy et al., 2013; Martel-Pelletier et al., 2016; Шаймарданов, 2018; Renvert et al., 2020].

Дентальная имплантация у пациентов с нарушениями минерального обмена в костной ткани в отсутствие предиктивных терапевтических мер может оказаться неудачной. Ранее данные нарушения связывали преимущественно с повышением паратиреоидного гормона щитовидной железы, преимущественно, у женщин в постменопаузальном периоде. В настоящее время, клиническое сообщество также придерживается позиции о корреляции дефицита витамина D и концентрации паратгормона и, как следствие, состояния минерального обмена. Отмечается, что данная взаимосвязь характерна в большей степени для «группы риска» развития остеопороза – белых женщин старше 50 лет с установленным менопаузой, вместе с тем, прослеживается и в отношении пациентов молодого и среднего возраста, что обусловлено системными нарушениями культуры питания, режима труда и отдыха, ограниченностью нахождения в зонах инсоляции и проч. [Дьячкова, 2025].

Витамин D играет существенную роль в регенерации кости после дентальной имплантации, поскольку выполняет роль регулятора калий-фосфатного гомеостаза и ремоделирования костной ткани. Данный процесс реализуется за счет повышения кишечной абсорбции кальция, его реабсорбции в почечных канальцах, подавления синтеза и секреции паратиреоидного матрикса остеобластами и экспрессии генов остеокальцина, остеопонтина, кальиндина и 24-гидроксилазы [Javed et al., 2016; Garg et al., 2020; Дьячкова и др., 2021; Tallon et al., 2024]. Таким образом, витамин D играет существенную роль в регенерации кости после дентальной имплантации. Согласно данным С. Минесола и соавт., его дефицит в пожилом и старческом возрасте способствует развитию остеомалации – состояния характеризующегося нарушением минерализации костного матрикса

(коллагена), что приводит к снижению костной массы; данное заболевание, среди прочих, является причиной «остеогенной недостаточности» и, как следствие, источником риска отторжения имплантата [Minisola et al., 2020]. Также обнаруживается его корреляции с такими соматическими патологиями, в том числе в старшей возрастной группе, как: сердечно-сосудистые (атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, гипертония, застойная сердечная недостаточность), кровообращения (тромбоэмболия легочной артерии, тромбоз глубоких вен), респираторные (ХОБЛ), эндокринные (заболевания щитовидной железы, гипо- и гипертериоз, сахарный диабет) [Yazdanyar, Newman, 2009; Hobbins et al., 2017; Sendyk et al., 2017; Yamamoto et al., 2019; WHO, 2022; SDCEP, 2022; Torrejon-Moya et al., 2022].

К иным факторам, влияние которых может быть связано с неудачами дентальной имплантации, также относят: отсутствие конгруэнтности имплантатов по отношению к сохранившимся зубам или иным реставрациям, различия пространственных смещений, которые совершают зуб и имплантат при жевании, разная эластичность материала имплантата, высокая коррозионность имплантата из титана; окклюзионные перегрузки, атрофия альвеолярного гребня, отсутствие зубодесневого соединения, наличие очагов хронической инфекции полости рта, остеогенная недостаточность, наличие ограничений или противопоказаний к проведению операции (помимо указанных заболеваний, так же, например, гемофилия, онкологические заболевания крови, прочие системные нарушения) [Misch et al., 2008; Chaturvedi, Upadhyay, 2010; Василевский, 2011; Dutta yet al., 2020; Kochar et al., 2022; Wu et al., 2023; Рыбалко, 2023]. В ряде исследований также указывается, что на процессы остеоинтеграции также могут оказывать негативное влияние отдельные лекарственные препараты, например антидепрессанты [Wu et al., 2014; D'Ambrosio et al., 2023].

1.2 Методы и технологии модификации поверхности дентальных имплантатов для повышения их остеоинтеграции

Вторичная стабильность связана с процессом биологического заживления, который происходит после установки имплантата; она не контролируется врачом и развивается с течением времени по мере интеграции кости с имплантом, на что оказывают влияние различные факторы, наиболее важным среди которых является скорость остеогенерации, повышению которой способствует конструктивный состав реставрации, а также характер ее поверхности. В зависимости от метода (технологии) ее обработки, определяется качество приживления имплантата [Григорьян, Топоркова, 2007; Рыбалко, 2023]. Многие современные исследования, направленные на поиск новых решений для повышения биосовместимости и обеспечения оптимальной остеоинтеграции, дентальных имплантатов, как правило, связаны с изучением методов и технологий модификации (обработки) их поверхности [Maher et al., 2024; Kunrath et al., 2024; Муминов, 2024; Мурзабеков и др., 2024]. Данный процесс обуславливает изменение ее структуры и качества, а также морфологии, химического состава реставрации [Esposito et al., 2015; Щербовских, 2017; Pimenta et al., 2022]. Для достижения данной цели используются следующие методы (технологии) модификации поверхности: текстурирование, гидрофилиация, нанесение покрытий и функционализация молекулами или наночастицами, и проч. С их помощью обеспечивается лучший контакт имплантата с костью (BIC), ускоряется процесс остеоинтеграции (за счет свойств шероховатости, смачиваемости, кристалличности, морфологии поверхности и проч.), что позволяет поддерживать клиническую протетическую нагрузку на более ранних стадиях заживления [Zöllner et al., 2008; Kunrath et al., 2024].

Преобладает мнение о том, что на начальных этапах остеоинтеграции важнейшую роль в обеспечении первичной стабильности конструкции играет

микротопография поверхности имплантат, характеризуемая наличием микродефектов на поверхности имплантата, количество и качество которых способствует увеличению площади контакта и позволяет остеогенным клеткам прикрепляться к поверхности реставрации с помощью структурных белков и гликопротеинов, стимулируя тем самым остеогенез [Кулаков и др., 2019; Zhang et al., 2022]. Для оптимизации микротопографии поверхности имплантата используются различные **физические методы модификации**, объединяемые термином «текстурирование». В процессе текстурирования изменяется топография поверхности имплантата за счет создания микропор и микроканалов, повышается гидрофильность, способствующая адгезии полимеров и жизнедеятельности остеобластов [Bohara, Suthakorn, 2022].

Данный эффект достигается при использовании методов пескоструйной обработки, в том числе с кислотным травлением текстурирования электронным лучом, текстурирования электрической дугой, фотолитографией и лазерного текстурирования (микрообработки) [Lee et al., 2011; Patcas et al., 2015; Kurup et al., 2021; Bohara, Suthakorn, 2022; Muhammed et al., 2023]. Данные методы модификации поверхности имплантата направлены на изменение топографии, а также ее шероховатости, оказывая влияние на поведение клеток и улучшение механического взаимодействия между реставрацией и костью [Gulati et al., 2016; Chopra et al., 2021].

Химические методы модификации направлены на изменение, соответственно, химического состава поверхности для повышения биосовместимости и стимулирования и прикрепления, и дифференцировки остеогенных клеток [Silva, 2005; Jimbo et al., 2012]. К данным методам относятся: анодное оксидирование, кислотное травление, двойное травление (двухэтапное кислотное травление смесью $\text{HCl} + \text{H}_2\text{SO}_4$ или $\text{HF} + \text{HNO}_3$), щелочное травление, сочетание анодного оксидирования и травления, обработка перекисью водорода и золь-гель-методов, химическое осаждение и гидрофилизация [Старикова, 2013; Mishra et al., 2017; Mühl et al., 2022; Tuikampee

et al., 2024]. Гидрофиляция производится также, как и кислотное травление (с использованием соляной, серной, азотистой и плавиковой кислот) с последующей сушкой имплантата в атмосфере азота и посещением в физиологический солевой раствор для защиты от адсорбции углеводов. Данный процесс сохраняет высокую поверхностную энергию и химическую чистоту реставрации, что приводит к появлению сверхгидрофильных свойств. Гидрофильная природа материала обеспечивает быструю адгезию клеток и белков, что ускоряет процесс остеоинтеграции и сокращает время заживления до 3-4 недель [Le Guéhennec et al., 2007; Wennerberg et al., 2011; Romero-Ruiz et al., 2019; Kurup et al., 2021]. Повышение гидрофильности поверхности имплантата также достигается посредством ультрафиолетового излучения, плазменной обработки, термообработки [Rupp et al., 2006; Hirakawa et al., 2013; Kunrath et al., 2020; Toffoli et al., 2020; Kaneko et al., 2020; Мураев и др., 2023; Мурзабеков и др., 2024].

Биологические (биохимические) методы, предполагают покрытие имплантата биоактивными компонентами, влияющими на остеогенез в области костно-имплантатного интерфейса, таких как биомолекулы пептида Arg-Gly-Asp (RGD), коллагена, оксида графена, факторов роста, морфогенетических белков, лекарственных препаратов и проч. [Майбородин и др., 2018; Shayeb et al., 2024]; они напрямую взаимодействуют с остеогенными клетками и окружающими имплант тканями, способствуя пролиферации, минерализации и дифференцировке клеток. Концепция биоактивности при модификации поверхности имплантата предполагает ее способность вызывать специфическую реакцию, способствующую повышению остеогенного потенциала и биосовместимости [Jimbo et al., 2012; Meng et al., 2016; Омаров и др., 2018].

Фактически, биоактивные поверхности имитируют естественный внеклеточный матрикс, обеспечивая сигналы, способствующие клеточной адгезии и, как было отмечено, пролиферации и дифференцировке. Данный

эффект достигается посредством нанесения гидроксиапатита, коллагена, магния, кальция, фосфата, хитозана, биоактивного стекла, биоактивной керамики и других остеоиндуктивных и остеокондуктивных материалов [Coelho et al. 2014; López-Valverde et al., 2020; Chopra et al., 2021; Tuikampee et al., 2024; Łosiewicz et al., 2025]. Следует отметить, что в настоящее время, как правило, используются комбинации данных материалов; например, С. Чеккони и соавт. изучали влияние покрытия в комбинации коллагена I типа и апатита имплантата бедренной кости кроликов для оценки его способности улучшать формирование костной ткани и прикрепление к поверхности имплантата [Cecconi et al., 2014]. Е.Б. Вае и соавт. оценивали длительность воздействия покрытия имплантата с комбинацией коллагена и глутаральдегида на его стабильность и интеграцию большеберцовых костей крыс [Вае et al., 2018]. К. Панг и соавт. оценивали влияние комбинации ВМР-2 и гидроксиапатита на остеогенез большеберцовой кости кроликов для определения синергетического воздействия компонентов на остеоинтеграцию и заживление костей [Pang et al., 2021]. И.А. Кирилова и соавт. изучали влияние титановых имплантатов с кальцийфосфатным покрытием, содержащим ионы цинка или серебра, на окружающие костные ткани в эксперименте. Было установлено, что имплантаты с модифицированной указанным способом поверхностью продемонстрировали склонность к остеоинтеграции, даже при повреждении покрытия с формированием инородных фрагментов, мигрирующих в окружающие ткани [2025].

М.В. Кардозо и соавт. оценивали эффективность покрытия, модифицированного ВМР и фосфорилированным пуллуланом (PPL10) с позиции стимулирования регенерации костной ткани и стабильности имплантатов теменных костей свиней в зависимости от времени [Cardoso et al., 2017]. В. Чо и соавт. сравнивали эффективность регенерации костной ткани вокруг челюстных имплантатов у собак, покрытых гамма-облученным коллагеном I типа в комбинации с глутаральдегидом [Cho et al., 2021]. А.

Аланези и соавт. указали, что локальная доставка фосфата кальция, биофосфонатов и ВМР на поверхность дентальных имплантантов, установленных в моделях *in vivo*, улучшает процесс остеогенерации без побочных эффектов, в том числе цитотоксичности [Alenezi et al., 2018]. Отметим, что ВМР-2 также показывает высокие результаты в качестве самостоятельного компонента покрытия дентальных имплантов. Так, было установлено, что сочетание поверхности из кальций-фосфатного сплава, нанесённого методом плазменного напыления, и покрытия из rhВМР-2 значительно улучшает остеоинтеграцию [Yoo et al., 2014]. Отмечается, что ВМР играет существенную роль в регуляции и продвижении остеогенных и костных мезенхимальных стволовых клеток, что говорит о возможности их широкого применения в клинической практике [Dong et al., 2020].

Перечисленные материалы также способствуют снижению уровня бактериальной адгезии [Zhao et al., 2009; Simchi et al., 2011; Jeong et al., 2019; Nguyen et al., 2024]. Так, например, основной функцией хитозана является противомикробная, поскольку он является поликатионным веществом и обладает бактерицидными свойствами, вместе с тем, доказательно способствуя остеоинтеграции и ускоряя заживление ран. Хитозан нетоксичен, биосовместим и обладает биологической адгезией к нестабильным биомолекулами, что делает хитозан ценным компонентом в составе лекарственных препаратов [Bumgardner et al., 2003; Yilmaz Atay, 2020; Ke et al., 2021; Yan et al., 2021]. В исследовании Ц. Пэн и соавт. указано, что титановый имплант, покрытый хитозаном, в лабораторных условиях демонстрирует предотвращение образования биопленки *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 [Peng et al., 2015].

Вместе с тем, согласно данным последних исследований (как *in vitro*, так и *in vivo*), большей бактериостатической и (или) бактерицидной активностью обладают ковалентное покрытие, в том числе, в сочетании с противомикробными пептидами, гидрогелевое покрытие с содержанием

антибиотиков, покрытие с содержанием наночастиц серебра [Geritz et al., 2016; Malizos et al., 2017; Topsakal et al., 2020; Aguilera-Correa et al., 2020; De Meo et al., 2020]. Так, Б. Хосе и соавт. экспериментально установили, что ковалентно связанные покрытия из ванкомицина на поверхности титановых имплантов способны сдерживать рост *S. aureus* и *S. epidermidis in vitro* и *in vivo* [Jose et al., 2005]. В последующем была подтверждена способность данного покрытия подавлять образование биопленки *S. epidermidis* [Zhang et al., 2014]. Положительные результаты также показывают покрытия с гентамицином, амоксициллином, цефалотином, тобрамицином, карбенцицином [Radin et al., 1997; Stigter et al., 2004; Alt et al., 2006; Kazek-Kesiket al., 2019]. Ц. Чжай и соавт. предложили быстро рассасывающееся гидрогелевое покрытие с антибиотиками на поверхности имплантата для предотвращения послеоперационной инфекции и остеогенеза. Действующее вещество включает в себя ковалентно связанные гиалоурановую кислоту и поли-D, L-лактид [Zhai et al., 2014].

В качестве перспективных в настоящее время рассматриваются органические покрытия, включающие как синтетические, так и натуральные материалы, такие как полимолочная-ко-гликолевая кислота (PLGA), полиэтиленгликоль (PEG), белки внеклеточного матрикса, аутологичные концентраты тромбоцитов и проч. [Gunatillake, Adhikari, 2003; Civantos et al. 2017; Sindi et al., 2024; Grzelak et al., 2024]. С.Ю. Ю провели исследование с целью оценки начальных и промежуточных эффектов покрытия имплантата большой берцовой кости кроликов в комбинации PLGA и рекомбинантного BMP-2 на интеграцию костной ткани и стабильность имплантата [Yoo et al., 2015].

Также интерес представляют исследования, направленные на оценку влияния покрытий имплантов наноматериалами семейства графена, например, оксида графена и восстановленного графена на эффективность остеоинтеграции [Singh et al., 2011; Ge et al., 2018; Rayannavar et al., 2024;

Barbieri et al., 2024]. Так, Е.Ч. Шин и соавт. разработали и успешно апробировали комбинированной стратегию модификации поверхности титанового импланта: нанесения восстановленного оксида графена на предварительно обработанную поверхность реставрации (пескоструйная обработка крупнозернистым абразивом с кислотным травлением). Исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что наиболее высокие результаты в прикреплении и пролиферации клеток, активности щелочной фосфатазы, минерализации матрикса, экспрессии генов и белков, связанных с остеогенезом, и остеоинтеграции показали образцы, поверхность которого была обработана методом кислотного травления и покрытая восстановленным оксидом графена, в сравнении с образцами, покрытыми рекомбинантным BMP-2, в том числе иммобилизованным [Shin et al., 2022].

1.3 Влияние покрытия костным морфогенетическим белком 2 поверхности дентального имплантата на его остеогенерацию

Костный морфогенетический белок 2 (КМБ/BMP-2) является гликопротеином, который последовательно производит индукцию развития костей; она оказывает плеiotропную функцию, которая варьирует от внескелетного органогенеза к скелетному росту и регенерации [Семенов, 2013; Бардонова и др., 2018; Кузнецова и др., 2019; Kim et al., 2021; Han et al., 2022]. Отмечается, что мутация в генах, кодирующих BMP-2 или ключевые внутриклеточные белки (например, Runx2, Msx2, Dlx5, 6) обеспечивают трансдукцию его сигналов, сопровождающиеся выпадением их функций, приводят к развитию тяжелых расстройств. Так, генетически обусловленная недостаточность BMP-2 приводит к повышенной хрупкости костей, нарушениям энхондрального остеогенеза и минерализации костного матрикса. Работой других белков функция BMP-2 не может быть

компенсирована, однако в ряде исследований указывается на то, что BMP-2 и BMP-7 являются взаимозаменяемыми.

BMP-2, таким образом, выступает одним из ключевых факторов роста костной ткани (входит в суперсемейство TGF- β), поддержание достаточной концентрации которого в течение продолжительного времени способствует ускоренному восстановлению костной ткани в зоне регенерации. Отмечается, что общая успешность регенерации костной ткани с помощью рекомбинантного BMP-2 составляет 81,4%, а успешность установки имплантом – 87,4% [de Queiroz Fernandes et al., 2018]. BMP-2 играет важнейшую роль в регулировании роста, дифференцировки и апоптоза различных типов клеток, включая остеобласты, хондробласты, нервные и эпителиальные клетки [Чеканов и проч., 2012; Бартов, 2015; Тарба, 2023; Мухаметов и др., 2023]. Активация BMP-2 костных трансплантатов или добавление рекомбинантного BMP-2 в состав материала, независимо от его лекарственной формы и функции (например, в качестве композита), обуславливает наличие остеоиндуктивных свойств, оказывающих положительное влияние на остеоинтеграцию и неоостеогенез [Gkiliopoulos et al., 2022; Kuznetsova et al., 2024].

Исследование BMP-2-копреципитированные гранулы фосфата кальция на моделях животных показало, что это потенциальное остеоиндуктивное, усиливающий терапевтический эффект трансплантационных исследований [Liu et al., 2017]. Следовательно, для целей эффективного использования остеоиндуктивных материалов следует выбирать оптимальный носитель. Как правило, им выступает коллагеновая губка (ACS), смачиваемая раствором BMP-2 [Boyne et al., 1997; Осидак, 2014; Matsumoto et al., 2015; On et al., 2023].

Так, в исследовании Ю.Ч. Чо на модели свиньи изучалась эффективность формирования костной ткани *in vivo* с помощью инновационного титанового зубного импланта в сочетании с коллагеновой губкой, содержащей рекомбинантный BMP-2 (20 и 40 мкг/мл). Было установлено, что после одной

недели заживления импланты с BMP-2 к меньшей концентрации, экспериментальные образцы демонстрировали самые высокие показатели BIC (от 58% до 76%). Кроме того, они обладали самыми высокими значениями момента удаления ($50,1 \pm 1,3$ Н-см) в течение 8-недельного периода заживления. Импланты с покрытием BMP-2 продемонстрировали оптимальный уровень биосовместимости *in vivo* и продемонстрировали высокие остеоиндуктивные характеристики [Cho et al., 2024]. Отмечается, что дополнительное введение гиалоурановой кислоты может значительно повысить остеогенную и ангиогенную активность BMP-2/ACS, тем самым потенциально минимизируя его потенциальные побочные эффекты [Huang et al., 2017; Tong et al., 2023].

Вместе с тем, оценка эффективности применения рекомбинантного BMP-2 на коллагеновой губке, а также других носителях (материала Bio-Oss, смеси β -трикальций фосфата и гидроксиапатита) при замещении костных дефектов показали, что использование белка приводило к формированию большего объема кости по сравнению с применением матриц без белка [Nuh et al., 2015; Park et al., 2016; Vasilyev et al., 2020; Edelmayer et al., 2020]. Более того, в отдельных исследованиях указывается, что применение материала с BMP-2 не обладало существенными преимуществами в сравнении с аутогенными костными трансплантатами и характеризовалось дополнительным риском побочных эффектов и увеличением реабилитационного периода, что обусловлено высокой концентрацией белка [Bozo et al., 2016; Ramly et al., 2019]. Отмечается, что BMP в более низких концентрациях на ABS, а также с применением других носителей, таких как гидроксиапатит / трикальцийфосфат (HA/TCP), в том числе усиленный желатином., с биокерамическим наполнителем может ускорить рост кости на начальных стадиях заживления [Raza et al., 2022].

Аналогичного мнения придерживаются М.С. Попова и соавт.; ими были предложены новые носители для локальной доставки BMP-2, разработан

rhBMP-2 прокариотического происхождения, показавший высокую удельную биологическую активность на культуре клеток C2C12 в тесте индукции щелочной фосфатазы. rhBMP-2 показал высокую эффективность *in vivo* на модели краниальных дефектов критического размера на мышах при совместном применении с природным ксеногенным носителем – деминерализованным костным матриксом из костей крупного рогатого скота. Полученный вариант rhBMP-2 способен к самопроизвольному связыванию с гидроксилапатитом (ГАП) – основным минеральным компонентом костной ткани [2020].

В ряде исследований описываются случаи использования BMP-2 в сочетании с ауто- и аллотрансплантатами, введение инъекционным методом в зону дефекта или осуществление контролируемой доставки на различных материалах. Так, Н.М. Гайфуллин и соавт. установили, что предварительное внесение материала, содержащего рекомбинантный BMP-2 (в составе костно-пластического материала «Gamalant™-паста-ФОРТЕ Плюс»), в костный канал перед постановкой титановых имплантов с биоактивной поверхностью сопровождается дополнительным остеоиндуктивным эффектом. Наблюдались более интенсивное и опережающее по срокам новообразование костной ткани в зоне остеоинтеграции, ремоделирование и уплотнение прилежащей губчатой кости [2016]. Аналогичные результаты получены и другими исследователями [Семенов, 2013]. В исследовании М. Ван и соавт. предложен вариант комбинации BMP-2 и кальций-фосфатного цемента (BMP-2@CPC) [Wang et al., 2024]. В эксперименте *in vivo* материал показал значительно более высокую плотность объема костной ткани и плотность объема остеобластов, чем в контрольной группе (CPC) после имплантации в дорсальную область крыс. Средняя плотность объема фиброзной ткани была значительно ниже в экспериментальной группе. Ретроспективное клиническое исследование показало, что из 110 пациентов только у 4 обнаруживались незначительные

побочные эффекты; корреляция с возрастом и дозой материала отсутствует (0,5-1 мг).

Отметим, что BMP-2, как единственный (самостоятельный) компонент покрытия имплантата практически не исследовался; преимущественно представлены исследования комбинаций [Cardoso et al., 2017; Pang et al., 2021]. Помимо упомянутого в предыдущем разделе исследования Д. Ю [2014], также интерес представляет работа отечественных авторов М.З. Федотовой и соавт., в рамках которой была проведена оценка влияния композиционного материала на основе белково-минеральных компонентов, содержащего пролонгированную форму рекомбинантного костного морфогенетического белка-2 человека (rhBMP-2), и способа обработки поверхности титанового имплантата на репаративный остеогенез и адгезионную прочность контакта костной ткани с поверхностью имплантата. Было установлено, что композиционное покрытие с rhBMP-2 способствовало увеличению адгезионных связей новообразованной костной ткани с поверхностью образцов в сравнении контролем [2011].

О.Ю. Майка и соавт. авторы экспериментально доказали эффективность остеоинтеграции титановых имплантатов с текстурированным капиллярно пористым покрытием и нанесенным на них фактором роста BMP-2. В экспериментальной группе отмечалось, в том числе формирование молодой грануляционной ткани с участками гиалинового хряща, в окружающей костной ткани выявлены незначительные зоны перестройки. В контрольной группе (биологическое покрытие – гидроксиапатит) отмечалось преимущественное формирование гиалинового хряща и соединительной ткани, в окружающей костной ткани определялись участки активной перестройки [2012].

Перспективным считается использованием рекомбинантного BMP-2 человека, полученного методом генной инженерии. Отмечается, что в качестве основной задачи генной терапии называется обеспечение

эндогенного синтеза необходимых белков к зоне дефекта костной ткани. Для ее решения требуется выбор остеогенного трансгена (трансгенов), вирусных или невирусных векторов, а также стратегии доставки генов *ex vivo* и *in vivo* [Бозо, Рожков и др. 2017]. Одним из звеньев генной терапии является доставка активных компонентов костных матриксов в зону повреждения [Бозо, Юрьева и др., 2016; Бозо, Рожков и др. 2017]. Данная технология является контролируемой [Kessler et al., 1996]. Кроме того, в участки регенерации возможна доставка нескольких генов, например, кодирующих фактор роста фибробластов-2 (FGF-2) и BMP-2, трансфицированных в мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани человека [Atluri et al., 2015]. Синергетический эффект генов, кодирующих FGF-2 и BMP-2 был установлен по экспрессии остеогенных белков транскрипции Runx-2 и остеокальцина, нежели трансфекция рекомбинантной ДНК (рДНК) данных генов по отдельности [Воложин, 2023].

BMP-2, таким образом, имеет экспериментально доказательную клиническую эффективность. Кроме того, отмечается возможность усиления остеогенной активности, помимо описанных выше методов физической, химической и биологической обработки, – посредством использования синтезированных молекул гетеродимера BMP-2/7, микроРНК, регулирующих остеогенную дифференцировку клеток, ген-активированных конструкций, влияющих на экспрессию генов BMP-2 и проч. [Zheng et al., 2010; Buijs et al., 2012; Morimoto et al., 2015; Кузнецова и др., 2019; Liu et al., 2022] Вместе с тем, следует отметить и наличие побочных эффектов, связанные с риском для жизни и здоровья пациента [Tannoury, An, 2014; James et al., 2016; Kuznetsova et al., 2024]. Наиболее существенным среди них является рекуррентное (в зависимости от дозы) возникновение выраженного, длительно (до 4 месяцев при концентрации 0,75-1,5 мг/мл в 38% и 84% случаев соотв.) сохраняющегося послеоперационного отека, вызываемого стимуляцией BMP-2 высвобождению цитотоксинов (IL6, IL-10, TNF- α) и формированием

воспалительного экссудата. Однако, данный эффект может быть нивелирован послеоперационным введением противовоспалительных препаратов [Boyne et al., 2005; Xiong et al., 2013; Marco et al., 2014; James et al., 2016; On et al., 2023].

Также нередко упоминается о риске канцерогенеза, однако имеющиеся доказательства во многом носят спорный характер. Так, в ряде исследований указывается, что BMP-2 экспрессирует такие распространенные онкологические заболевания, как рак молочных желез, легких и предстательной железы [Siegel et al., 2017; Злокачественные новообразования в России, 2018; Ehata, Miyazono, 2023]. Вместе с тем, например, в случае рака легких, высокая экспрессия белка отмечается, как правило (в 98% случаев), при наличии карцином, тогда как при доброкачественных образованиях экспрессия отсутствует [Langenfeld et al., 2005; Langenfeld, 2017; Wu et al., 2022].

Также обнаруживаются исследования, указывающие, с одной стороны, на способность BMP-2 усугублять течение уже существующих опухолей [Skovrlj et al., 2015], с другой – на способность белка ингибировать пролиферацию опухолевых клеток (например, при раке желудка, легкого, яичников, почечно-клеточной карциноме, остеосаркоме) путем снижения экспрессии генов опухолевых факторов и индукции дифференцировки стволовых клеток [Wang et al., 2012; Ehata et al., 2023; Cesana et al., 2025]. Подтвердить или опровергнуть данные утверждения на данный момент времени не представляется возможным в связи с отсутствием отчетов о случаях или клинических исследований о возникновения рака, связанных с применением рекомбинантного BMP-2 (в челюстно-лицевой хирургии) [Skovrlj et al., 2015; On et al., 2023].

Среди иных побочных эффектах, описываемых (обсуждаемых) в локальных публикациях, посвященной изучению безопасности применения BMP-2, отмечаются: боли и эритема полости рта, появление антител к белку в крови после операции, формирование эктопических костных очагов с

просачиванием BMP-2 из места имплантации, остеокластическая костная резорбция (вследствие быстрого высвобождения белка из носителя и спровоцированного этим усиления дифференцировки остеокластов [Fiorellini et al., 2005; Boyne et al., 2005; Carragee et al., 2011; Wang et al., 2024]. Отметим, что в последние годы был проведен ряд экспериментальных исследований, оценивающих безопасность применения BMP-2 в комбинации «rhBMP-2 + ACS» [Cochran et al., 2000; Fiorellini et al., 2005; Triplett et al., 2009; Marx et al., 2013; Ramly et al., 2019; Choi et al., 2024]. Оценка проводилась с помощью клинических и рентгенологических наблюдений признаков и симптомов локальных и системных изменений (побочных эффектов), гематологических и иммунологических тестов для выявления антител к любому из компонентов. Как правило, указывается о локальности и кратковременности побочных реакций, однако ни в одной исследовании не было установлено наличие антител к рекомбинантному BMP-2 (у некоторых пациентов были обнаружены антитела к бычьему коллагену, однако данная реакция была кратковременной).

Заключение

Проведенное исследование позволяет заключить об актуальности применения BMP-2 в стоматологии с целью увеличения остеогенного потенциала дентальной имплантации у пациентов с нарушениями минерального обмена в челюстных костях. Вместе с тем, необходимы дальнейшие углубленные исследования для уточнения факторов риска, выявления безопасной дозы белка, а также разработки систем доставки BMP-2, которые могут позволить длительно контролировать и точно высвобождать с течением времени белок.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для реализации поставленной цели диссертационного исследования был применён комплексный научно-методологический подход, включающий аналитические, лабораторные и экспериментальные этапы, взаимодополняющие друг друга и направленные на всестороннюю оценку разработанного решения. Исследование было построено с учётом современных представлений о биологических механизмах остеогенеза и остеоинтеграции дентальных имплантатов, а также актуальных тенденций развития биоактивных покрытий в имплантологической практике.

На первом этапе выполнялось теоретико-аналитическое исследование, направленное на систематизацию и критический анализ данных отечественной и зарубежной научной литературы, посвящённой биологическим свойствам костного морфогенетического белка 2, особенностям его рекомбинантных форм и возможностям их использования в составе покрытий дентальных имплантатов. В рамках данного этапа оценивались молекулярно-биологические механизмы действия BMP-2, его роль в регуляции остеогенной дифференцировки клеток, а также перспективы локальной доставки белка с поверхности имплантатов для повышения качества и скорости остеоинтеграции.

Следующий этап исследования был посвящён экспериментально-лабораторной оценке биологической безопасности рекомбинантного BMP-2 при его использовании в составе покрытия дентальных имплантатов. В рамках данного направления проводились токсикологические и микробиологические исследования, направленные на выявление возможных цитостатических и цитотоксических эффектов, а также на анализ особенностей взаимодействия модифицированной поверхности имплантатов с микроорганизмами полости рта. Полученные данные позволили объективно оценить безопасность

разработанного покрытия и его потенциальное влияние на микробную колонизацию поверхности имплантата.

Заключительный этап исследования включал проведение экспериментальных работ *in vivo* с использованием модели дентальной имплантации у лабораторных животных. Целью данного этапа являлась оценка остеогенного и остеоиндуктивного потенциала имплантатов с покрытием, содержащим рекомбинантный BMP-2. В ходе эксперимента изучались особенности формирования костной ткани в зоне контакта «кость—имплантат», характер остеоинтеграции, а также динамика процессов костного ремоделирования в сравнении с контрольными образцами. Совокупность полученных результатов позволила дать комплексную оценку эффективности предложенного биологически активного покрытия и обосновать целесообразность его дальнейшего применения в дентальной имплантологии.

2.1. Теоретическое обоснование выбора рекомбинантного костного морфогенетического белка-2 для модификации поверхности дентальных имплантатов

С целью выявления оптимального варианта рекомбинантного костного морфогенетического белка, пригодного для использования в составе покрытия дентальных имплантатов, был проведён систематический анализ отечественных и зарубежных научных источников, посвящённых вопросам остеоиндукции, регенерации костной ткани и повышению остеоинтеграции имплантационных конструкций. Поиск и отбор публикаций осуществлялся в русскоязычных и англоязычных электронных базах данных eLIBRARY, PubMed, Scopus, Web of Science, а также в фондах Российской государственной библиотеки диссертаций и профильных печатных изданиях за период с 1995 по 2024 год. Дополнительно анализировались материалы патентных баз и результаты экспериментальных и клинических исследований,

посвящённых применению факторов роста и морфогенетических белков в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии.

Критериями включения литературных источников в анализ являлись оригинальные экспериментальные исследования *in vitro* и *in vivo*, рандомизированные контролируемые клинические исследования, систематические обзоры и метаанализы, в которых оценивалась роль костных морфогенетических белков в процессах остеогенеза, остеоиндукции и остеоинтеграции имплантатов. В результате первичного отбора было проанализировано 164 литературных источников, из которых для углублённого анализа отобрано 42 публикации, наиболее полно отражающие современные представления о биологических свойствах различных изоформ BMP и возможностях их клинического применения.

Анализ данных литературы показал, что среди известных костных морфогенетических белков (BMP-2, BMP-4, BMP-7 и др.) именно BMP-2 обладает наиболее выраженной и воспроизводимой остеоиндуктивной активностью. Данный белок относится к суперсемейству трансформирующего фактора роста β (TGF- β) и играет ключевую роль в регуляции дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток в остеобластический ряд, активации экспрессии остеоспецифических генов (Runx2, Osterix, остеокальцин) и формировании костного матрикса. Экспериментально установлено, что BMP-2 инициирует как контактный, так и дистантный остеогенез, что имеет принципиальное значение для процессов остеоинтеграции дентальных имплантатов.

В работах ряда авторов показано, что применение рекомбинантного BMP-2 способствует ускоренному формированию костной ткани в зоне контакта «кость–имплантат», увеличению показателя прямого костно-имплантатного контакта (BIC), повышению механической стабильности имплантата и сокращению сроков его функциональной нагрузки. Важным преимуществом BMP-2 является возможность локальной доставки белка непосредственно в

зону имплантации, что позволяет достичь выраженного остеоиндуктивного эффекта при минимальном системном воздействии.

Особое внимание в проанализированных исследованиях уделяется форме рекомбинантного BMP-2, полученного методами генной инженерии, как наиболее стабильной и воспроизводимой по биологической активности. Отмечается, что рекомбинантный BMP-2 человеческого происхождения (rhBMP-2), полученный с использованием прокариотических или эукариотических экспрессионных систем, сохраняет высокую остеогенную активность и обладает удовлетворительным профилем биологической безопасности при локальном применении. При этом показано, что эффективность rhBMP-2 в значительной степени определяется способом его иммобилизации и характером носителя.

Анализ литературных данных свидетельствует, что использование рекомбинантного BMP-2 в составе покрытий дентальных имплантатов является одним из наиболее перспективных направлений повышения их остеointеграционного потенциала. Нанесение белка на поверхность имплантата позволяет создать биоактивный интерфейс, способствующий ранней адгезии остеогенных клеток, активации ангиогенеза и формированию зрелой костной ткани. При этом подчеркивается, что оптимальные результаты достигаются при использовании микрошероховатых титановых поверхностей, в частности поверхностей типа SLA, обеспечивающих физико-химические условия для удержания и постепенного высвобождения белка.

В то же время в литературе указывается на необходимость строгого контроля дозировки и способа фиксации rhBMP-2 на поверхности имплантата, поскольку чрезмерная локальная концентрация белка может сопровождаться развитием нежелательных эффектов, включая выраженную воспалительную реакцию и эктопический остеогенез. В связи с этим приоритетным направлением исследований является разработка технологий низкодозированной, контролируемой доставки BMP-2, обеспечивающей

продолжительное биологическое действие при сохранении высокого уровня безопасности.

Таким образом, проведенный анализ научных информационных источников позволил обосновать выбор рекомбинантного костного морфогенетического белка-2 в качестве оптимального биологически активного компонента для модификации поверхности дентальных имплантатов. Совокупность экспериментальных и клинических данных свидетельствует о высокой остеоиндуктивной эффективности rhBMP-2 и целесообразности его использования в составе имплантационных покрытий с целью повышения остеоинтеграции, особенно у пациентов с низким остеогенным потенциалом.

По результатам проведенного анализа научных информационных источников в качестве оптимального биологически активного фактора для модификации поверхности дентальных имплантатов был выбран рекомбинантный костный морфогенетический белок 2, получаемый методом генной инженерии. При этом особое внимание уделялось не только биологическим свойствам BMP-2, но и технологической воспроизводимости, стабильности получаемого препарата и возможности его дальнейшего применения в экспериментальных исследованиях.

В качестве базового технологического решения для получения рекомбинантного BMP-2 и его последующего использования был выбран способ, описанный в патенте RU 2781921 C1, предусматривающий получение рекомбинантного человеческого BMP-2 с использованием бактериальной экспрессионной системы и многостадийной очистки с последующим контролируемым рефолдингом белка. Данный способ обеспечивает получение биологически активной формы BMP-2 с воспроизводимыми характеристиками, высокой степенью очистки и сохранением остеоиндуктивных свойств, что подтверждено экспериментальными данными, приведенными в патентной документации.

Выбор именно данного белка и способа его получения обусловлен возможностью его дальнейшей иммобилизации на поверхности дентальных имплантатов, стабильностью препарата при лабораторной обработке и потенциальной применимостью в экспериментальных моделях *in vitro* и *in vivo*. Таким образом, рекомбинантный BMP-2, полученный по технологии, описанной в патенте RU 2781921 C1, был принят в качестве объекта дальнейших лабораторно-экспериментальных исследований в рамках настоящей диссертационной работы.

2.2. Материал и методы лабораторно-экспериментальных исследований.

В лабораторно-экспериментальном исследовании использовали дентальные имплантаты Snucos (Южная Корея) AF+II диаметром 3,5 мм и длиной в 10 мм, изготовленные из коммерчески чистого титана Ti Grade 4, соответствующего спецификации ASTM F67, с поверхностью типа SLA (Sandblasted, Large grit, Acid-etched). Выбор данного материала и типа поверхностной обработки обусловлен их широкой клинической применимостью, высокой биосовместимостью и доказанной способностью обеспечивать надежную остеоинтеграцию за счёт выраженного микрорельефа, увеличенной удельной поверхности и благоприятных условий для адгезии и дифференцировки остеогенных клеток. SLA-поверхность рассматривается в современной имплантологии как «золотой стандарт», что делает её оптимальной моделью для оценки эффективности биоактивных покрытий в условиях, максимально приближенных к клинической практике.

Рекомбинантный человеческий костный морфогенетический белок 2 (BMP-2) получали методом бактериальной экспрессии с использованием генетически модифицированного штамма *Escherichia coli* в соответствии с технологическим решением, описанным в патенте RU 2781921 C1. Для экспрессии применяли плазмидную конструкцию серии pET, содержащую ген

ВМР-2, слитый с доменом s-tag, обеспечивающим повышение растворимости белка и облегчение его последующей очистки и рефолдинга. Трансформированные клетки культивировали в жидкой питательной среде с селективным антибиотиком при температуре 37 °С до достижения оптической плотности культуры ОП600 1,0–1,2, после чего экспрессию целевого белка индуцировали добавлением изопропил- β -D-тиогалактопиранозидом в конечной концентрации 0,5 мМ. Индукцию проводили в течение 4 часов, после чего биомассу осаждали центрифугированием и подвергали дальнейшей обработке.

Разрушение клеток осуществляли механическим способом с последующим выделением телец включения, содержащих рекомбинантный белок. Полученные тельца включения многократно отмывали буферными растворами для удаления клеточных примесей, после чего подвергали солюбилизации в присутствии 8 М мочевины. Очистку денатурированного белка выполняли методом металл-хелатной хроматографии на Ni-NTA-сорбенте в условиях, обеспечивающих селективное связывание гистидин-содержащих участков молекулы. Для восстановления нативной конформации ВМР-2 проводили контролируемый рефолдинг путём разведения очищенных фракций в восстановительно-окислительном буфере, содержащем восстановленный и окисленный глутатион, что обеспечивало формирование корректных дисульфидных связей, характерных для биологически активной формы белка. Дополнительную очистку и селекцию функционально активных форм ВМР-2 осуществляли с использованием гепарин-сефарозной хроматографии. Чистоту и молекулярную массу белка контролировали методом электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия, а концентрацию определяли спектрофотометрически. Очищенный белок диализовали против фосфатного буфера и подвергали стерильной фильтрации через мембранные фильтры с размером пор 0,20 мкм.

Перед нанесением рекомбинантного BMP-2 имплантаты с SLA-поверхностью подвергали стандартной лабораторной подготовке, включающей промывание стерильными растворами и высушивание в асептических условиях. Иммобилизацию белка на поверхности имплантатов осуществляли методом инкубационной адсорбции, адаптированным из патентного способа нанесения BMP-2 на биологические носители. Имплантаты помещали в стерильный раствор рекомбинантного BMP-2 в 10 мМ натрий-фосфатном буфере с pH 4,5–5,5 и инкубировали в течение 3 часов. Выбор данного диапазона pH был обусловлен необходимостью сохранения структурной стабильности белка и создания условий для его эффективного физико-химического взаимодействия с микропористой титановой поверхностью. После завершения инкубации имплантаты подвергали трёхкратной отмывке тем же буферным раствором для удаления несвязанной фракции белка, после чего осуществляли лиофилизацию образцов с целью стабилизации сформированного биоактивного покрытия.

С учётом литературных данных по локальной доставке rhBMP-2 и практических возможностей адсорбционного нанесения на микропористые поверхности SLA, расчетная нагрузка белка на имплантат в настоящем исследовании предполагалась в диапазоне 0,5–2,0 мкг/см², что соответствует 2–10 мкг rhBMP-2 на один имплантат стандартных размеров. Указанный диапазон рассматривался как биологически значимый для индукции остеогенеза при минимизации риска дозозависимых нежелательных эффектов и был выбран для последующей экспериментальной верификации

Стерилизацию имплантатов с иммобилизованным BMP-2 проводили методом радиационного облучения с поглощённой дозой 15 ± 5 кГр, что соответствует параметрам, рекомендованным для материалов, содержащих биологически активные белки, и не оказывает значимого влияния на их функциональную активность. Подготовленные таким образом имплантаты

использовали в дальнейших экспериментальных исследованиях *in vitro* и *in vivo*.

Выбранный метод получения рекомбинантного BMP-2 и его нанесения на поверхность имплантатов с SLA-покрытием обеспечивает локальное и контролируемое воздействие остеоиндуктивного фактора в зоне «кость—имплантат», минимизируя системное влияние и создавая благоприятные условия для активации процессов остеогенеза и ремоделирования костной ткани. Применение клинически релевантных имплантатов из титана Ti Grade 4 позволяет объективно оценить влияние биоактивного покрытия на ключевые этапы остеоинтеграции и обосновать перспективность разработанного подхода для дальнейшего внедрения в стоматологическую имплантологию.

2.2.1 Материал и методы токсикологических исследований.

Экспериментальное обоснование биологически активных покрытий дентальных имплантатов предполагают обязательную предварительную оценку их биологической безопасности. Использование рекомбинантных факторов роста, в частности костного морфогенетического белка 2, несмотря на их доказанный остеоиндуктивный потенциал, требует комплексного токсикологического анализа, направленного на выявление возможного неблагоприятного воздействия на клетки иммунной системы, первыми контактирующие с имплантационным материалом после его установки в костную ткань.

В условиях дентальной имплантации особое значение приобретает реакция клеток моноцит-макрофагального ряда, поскольку именно они играют ключевую роль в формировании раннего воспалительного ответа, регуляции процессов репарации и последующего остеогенеза. Характер взаимодействия имплантата и его покрытия с данными клетками во многом определяет биосовместимость материала, направление иммунного ответа и прогноз

остеоинтеграции. В связи с этим использование клеточной линии ТНР-1, широко применяемой в экспериментальной иммунологии и токсикологии, позволяет получить воспроизводимые и клинически значимые данные о цитостатических, цитотоксических и активационных эффектах исследуемых образцов.

В рамках настоящего исследования токсикологические испытания были направлены на решение ряда взаимосвязанных задач, включающих оценку влияния имплантатов с покрытием и без покрытия на метаболическую активность клеток, индукцию апоптоза и изменение иммунного фенотипа клеток моноцит-макрофагальной линии. Для этого применяли совокупность валидированных лабораторных методов, позволяющих комплексно охарактеризовать жизнеспособность клеток, их функциональное состояние и степень активации в условиях инкубации с исследуемыми образцами имплантатов.

Оценка цитостатических свойств имплантатов проводилась с использованием МТТ-теста, позволяющего количественно определить уровень метаболической активности клеток и выявить возможное ингибирующее влияние материала на клеточную жизнеспособность. Для анализа апоптотических изменений применяли пропидиум-йодидный тест с последующей регистрацией результатов методом проточной цитометрии, что обеспечивало объективную оценку процента клеток с нарушением целостности мембран. Дополнительно исследовалась экспрессия поверхностного маркера CD45, отражающего степень активации и функционального состояния клеток моноцит-макрофагального ряда, что позволяло оценить иммунологическую реактивность клеток в ответ на контакт с имплантатами.

В качестве экспериментальной клеточной модели в настоящем исследовании использовали клетки линии ТНР-1, представляющие собой суспензионную культуру клеток моноцитарной лейкемии человека, широко

применяемую для оценки цитотоксичности и иммунологических эффектов различных биоматериалов. Культивирование клеток осуществляли в стандартной питательной среде RPMI-1640, содержащей L-глутамин (ПанЭко, Российская Федерация), с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Capricorn Scientific, Германия) и 1% антибиотиковой смеси пенициллин–стрептомицин (ПанЭко, Российская Федерация), что обеспечивало оптимальные условия для роста и поддержания жизнеспособности клеточной культуры.

Для проведения экспериментов клетки ТНР-1 высевали в 12-луночные культуральные планшеты в объёме 2 мл питательной среды на лунку при плотности посева $2,5 \times 10^5$ клеток/лунку. С целью индуцирования дифференцировки клеток моноцитарного ряда в макрофагоподобный фенотип в культуральную среду добавляли форбол-12-миристат-13-ацетат (РМА) до конечной концентрации 150 нМ. Инкубацию проводили при температуре 37 °С в атмосфере с содержанием 5% CO₂ в течение 4–6 часов, что обеспечивало адгезию дифференцированных клеток к поверхности культурального пластика. После достижения полной адгезии в каждую лунку вносили исследуемые имплантаты, размещая каждый образец в отдельной экспериментальной системе. Совместное культивирование клеток с имплантатами осуществляли в течение 48 часов при стандартных условиях инкубации.

Для анализа апоптотических и некротических изменений клеток после 48-часовой инкубации с имплантатами применяли метод проточной цитометрии с использованием флуоресцентного красителя пропидиум йодид (Lumiprobe, Россия). В каждом экспериментальном образце анализировали 1×10^5 клеток, которые ресуспендировали в 300 мкл фосфатно-солевого буфера (PBS). Окрашивание проводили путём инкубации клеток с пропидиум йодидом в течение 5 минут при комнатной температуре в защищённых от света условиях.

Иммунофенотипирование клеток выполняли с использованием моноклональных антител к поверхностному маркеру CD45 (клон 5B, Miltenyi Biotec; каталожный номер 130-113-681). Для анализа экспрессии CD45 клетки в количестве 1×10^5 на образец ресуспендировали в 100 мкл PBS, содержащего 1% бычьего сывороточного альбумина, после чего инкубировали с антителами в течение 15 минут при температуре +4 °C. Регистрацию и анализ флуоресцентных сигналов проводили на проточном цитофлуориметре NovoCyte Advanteon (Agilent, США), при этом в каждом измерении анализировали не менее 10 000 событий, что обеспечивало статистическую надёжность полученных данных.

Оценку жизнеспособности и метаболической активности клеток осуществляли методом МТТ-теста. Для этого клетки ТНР-1 высевали в 96-луночные планшеты в объёме 200 мкл среды на лунку при плотности 15 000 клеток/лунку с добавлением РМА до конечной концентрации 150 нМ для дифференцировки в макрофаги. После дифференцировки клетки инкубировали с исследуемыми имплантатами в течение 48 часов при температуре 37 °C и содержании 5% CO₂. По завершении инкубации культуральную среду удаляли и в каждую лунку добавляли раствор МТТ-реagenta («ПанЭко», Россия), приготовленный на основе среды RPMI-1640 до конечной концентрации 0,5 мг/мл. Инкубацию с МТТ проводили в течение 4 часов в стандартных условиях, после чего в лунки вносили 100 мкл диметилсульфоксида (ДМСО) («ПанЭко», Россия) для растворения образовавшихся кристаллов формазана. Растворение формазана осуществляли при комнатной температуре в течение 15 минут, после чего измеряли оптическую плотность образцов при длине волны 540 нм с использованием мультимодального микропланшетного ридера Multiskan GO (Thermo Scientific, США).

Статистическую обработку полученных экспериментальных данных проводили с использованием программного пакета GraphPad Prism 8

(GraphPad Software, США). Для оценки характера распределения применяли тест Шапиро–Уилка. В зависимости от типа распределения данных для сравнения показателей между несколькими группами использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA с последующим post-hoc тестом Тьюки либо непараметрический критерий Краскела–Уоллиса с post-hoc тестом Данна. Для попарных сравнений применяли t-критерий Стьюдента или критерий Манна–Уитни. Различия между группами считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

2.2.2 Материал и методы микробиологических исследований.

В качестве объекта исследования *in vitro* использовали образцы конструкционного материала, предназначенного для изготовления дентальных имплантатов, а именно медицинский титан Ti Grade 4, соответствующий требованиям спецификации ASTM F67. Поверхность образцов имела микрошероховатую структуру типа SLA, полученную методом пескоструйной обработки с последующим кислотным травлением, что соответствует современным представлениям о биологически оптимальной топографии имплантационных материалов [17, 18]. Образцы изготавливали в форме дисков диаметром 5 мм и толщиной 0,5 мм, при этом площадь поверхности каждого диска составляла 0,45 см². В зависимости от наличия биоактивного покрытия образцы распределяли на две группы: опытную — с нанесённым костным морфогенетическим белком 2 (BMP-2), и контрольную — без нанесения белка.

Для оценки адгезивных свойств микроорганизмов использовали стандартные тест-культуры, широко применяемые в микробиологических и стоматологических исследованиях: *Escherichia coli* ATCC 25982, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Candida albicans* NCTC 885-653, *Streptococcus mutans* 3003, *Streptococcus mitis* NCTC 10712, *Pseudomonas*

aeruginosa B-8243 (Biovitrum, Санкт-Петербург, Россия) [19]. Выбор данных микроорганизмов был обусловлен их различной адгезивной активностью, способностью к формированию биоплёнок и клинической значимостью при воспалительных осложнениях в области дентальной имплантации.

Перед проведением эксперимента бактериальные тест-культуры размораживали и в объёме 100 мкл переносили в 10 мл сердечно-мозгового бульона (HIMEDIA® M210, Индия). Культивирование осуществляли в термостате при температуре 37 °С в течение 24 часов, что обеспечивало выход микроорганизмов в фазу активного роста [20]. По завершении инкубации бульонные культуры подвергали центрифугированию в течение 25 минут при скорости 2400 об/мин (центрифуга ELMi SkyLine CM-6M). В дальнейшей работе использовали микробный осадок, из которого готовили стандартизированные бактериальные суспензии.

Стандартизацию концентрации микроорганизмов проводили с использованием стандарта мутности 0,5 по МакФарланду, соответствующего концентрации $1,5-3,0 \times 10^8$ КОЕ/мл [21]. Для разведения применяли стерильный 0,9% раствор хлорида натрия. Конечную концентрацию микроорганизмов доводили до 10^7 КОЕ/мл, добавляя 1 мл стандартизированной бактериальной взвеси к 9 мл сердечно-мозгового бульона. Для моделирования смешанной микробной нагрузки готовили смесь культур в соотношении 1:1, используя по 2,5 мл стандартизированных бульонных взвесей с концентрацией 10^7 КОЕ/мл.

Оценку остаточной адгезии микроорганизмов к поверхности образцов проводили по методике М. М. Давыдовой с соавторами (2013) с рядом модификаций, направленных на повышение точности и воспроизводимости результатов [17]. На первом этапе опытные и контрольные образцы помещали в чашки Петри, содержащие 10 мл микробной взвеси на основе физиологического раствора с концентрацией 10^7 КОЕ/мл, после чего

инкубировали при температуре 37 °С в течение 40 минут, что соответствовало стандартным условиям формирования первичной микробной адгезии.

Для удаления микробных клеток, не вступивших в процесс истинной адгезии и осевших на поверхности образцов механически, применяли обработку низкочастотным ультразвуком в лабораторной ультразвуковой ванне в течение не менее 5 минут при частоте 40 кГц и мощности 240 Вт [22]. После ультразвуковой обработки образцы последовательно прикладывали к поверхности плотной питательной среды HIMEDIA® M210 (Индия) методом многократных отпечатков — по пять касаний каждой поверхностью образца, что обеспечивало перенос адгезировавших микроорганизмов и формирование изолированных колоний.

Полученные отпечатки культивировали при температуре 37 °С в течение 24 часов, после чего проводили подсчёт выросших колоний. Расчёт остаточной адгезии микроорганизмов осуществляли с использованием индекса остаточной адгезии (I_{ad}), вычисляемого по формуле, предложенной М. М. Давыдовой и соавторами:

$$I_{ad} = \lg X / \lg Y \times 100\% \quad (1),$$

где $\lg X$ — десятичный логарифм числа адсорбированных микроорганизмов, $\lg Y$ — десятичный логарифм количества микроорганизмов в исходной бактериальной взвеси, выраженного в КОЕ/мл [17, 18].

2.3 Материал и методы экспериментальных исследований.

Экспериментальный этап исследования являлся ключевым звеном в комплексной оценке эффективности разработанного биоактивного покрытия дентальных имплантатов, содержащего рекомбинантный костный морфогенетический белок-2. Проведение исследований *in vivo* было направлено на объективную морфологическую, морфометрическую и иммуногистохимическую верификацию остеоиндуктивного потенциала

имплантатов с модифицированной поверхностью в условиях, максимально приближенных к клинической практике.

Актуальность экспериментального раздела обусловлена тем, что результаты лабораторных и токсикологических исследований, полученные в условиях *in vitro*, не позволяют в полной мере охарактеризовать динамику репаративного остеогенеза, особенности взаимодействия имплантата с костной тканью и формирование полноценного костно-имплантатного интерфейса в живом организме.

В рамках эксперимента проводили хирургическую установку дентальных имплантатов в костную ткань нижней челюсти лабораторных животных (овцы), что позволило изучить характер костной реакции и динамику формирования костно-имплантатного контакта в условиях, приближённых к клиническим.

В ходе экспериментальных исследований использовали 12 дентальных имплантатов системы Snucone (Южная Корея) AF+II диаметром 3,5 мм и длиной 10 мм. В зависимости от типа обработки поверхности имплантаты были распределены на две группы. Контрольную группу составили 4 имплантата с заводской поверхностной обработкой, выполненной производителем. В основную экспериментальную группу вошли 8 имплантатов, поверхность которых была модифицирована путём нанесения разработанного биоактивного покрытия.

При выборе дозировки биологически активного компонента учитывали геометрические характеристики имплантатов (диаметр 3,5 мм, длина 10 мм), увеличение эффективной площади за счёт микропористой структуры SLA-поверхности, а также данные отечественных и зарубежных источников литературы, посвящённых локальной доставке рекомбинантного костного морфогенетического белка 2. С учётом указанных факторов расчетная поверхностная нагрузка rhBMP-2 в рамках настоящего исследования была определена в диапазоне 0,5–2,0 мкг/см², что эквивалентно приблизительно 1–

5 мкг рекомбинантного ВМР-2 на один имплантат. Данный диапазон концентраций рассматривался как оптимальный с точки зрения обеспечения выраженного остеоиндуктивного эффекта при одновременном снижении вероятности развития дозозависимых нежелательных реакций.

2.3.1 Протокол проведения имплантации в эксперименте

Экспериментальные исследования *in vivo* были выполнены на базе вивария опытной станции Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства, являющегося филиалом Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр». Выбор данной экспериментальной площадки был обусловлен наличием необходимой материально-технической базы, условий для содержания животных и опыта проведения доклинических исследований с использованием моделей крупного рогатого скота.

В эксперименте использовали четырёх клинически здоровых овец Северо-Кавказской мясошерстной породы в возрасте от 1,5 до 2 лет, с полностью сформированной зубочелюстной системой. Масса тела животных варьировала в пределах 35–40 кг. Животные содержались в индивидуальных вольерах, получали стандартный рацион кормления и имели свободный доступ к питьевой воде. Все манипуляции выполнялись в условиях, соответствующих действующим ветеринарным и биомедицинским нормативам.

При проведении экспериментальных вмешательств строго соблюдались международные и национальные требования, регламентирующие использование лабораторных животных в научных исследованиях, включая «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» и положения «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и иных научных целях» (Директива Европейского сообщества 86/609/ЕС). Протокол исследования был

рассмотрен и одобрен локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО СтГМУ (протокол № 87 от 22.01.2020 г.).

За 24 часа до оперативного вмешательства животным отменяли кормление, при этом доступ к воде сохраняли. Премедикацию осуществляли с применением комбинированной схемы: внутримышечно вводили дроперидол 0,25% из расчёта 0,2 мл/кг, реланиум 0,5% — 0,2 мл/кг, а также трамал в дозе 1 мл. Дополнительно за 15 минут до начала операции внутримышечно вводили раствор трамадола 5% в дозе 2 мг/кг, внутривенно — атропина сульфат 0,1% (0,05 мг/кг), анальгин 50% (0,5 мл/10 кг массы тела), димедрол 1% (0,5 мл/10 кг), а также антибиотик цефтриаксон из расчёта 500 мг/10 кг массы тела. Общую анестезию осуществляли путём внутримышечного введения телазола в дозе 0,03 мг/кг, при этом развитие анестезиологического эффекта отмечалось через 5–7 минут, а его продолжительность составляла около 30 минут.

Схема хирургического вмешательства представлена на рисунке 1.

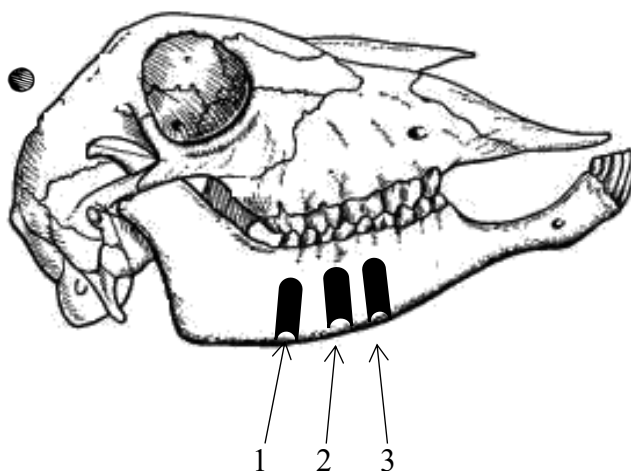


Рисунок 1 – Схема проведения эксперимента по установки имплантатов на нижней челюсти, 1 и 3 -экспериментальне имплантаты, 2-контроль

После наступления адекватного уровня анестезии животное фиксировали на операционном столе. В подчелюстных областях производили бритьё шерсти и антисептическую обработку операционного поля. Для обеспечения доступа к костной ткани выполняли кожные разрезы в подчелюстных областях с последующим рассечением мягких тканей и

обнажением нижнего края нижней челюсти в проекции её угла. Скелетирование кости проводили с правой стороны.

Формирование имплантационных лож осуществляли с использованием стандартного набора хирургических инструментов (боры, фрезы, имплантоводы) и физиодиспенсера с обязательным водяным охлаждением (рисунок 2).

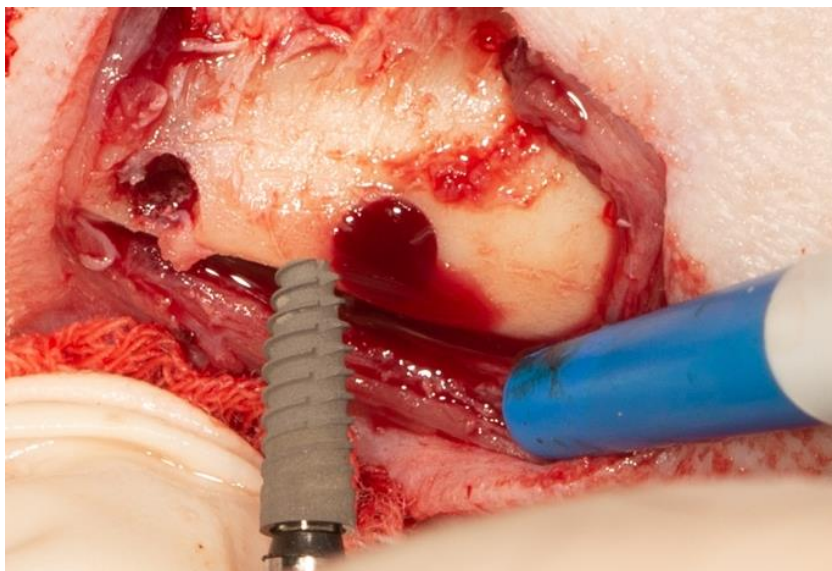


Рисунок 2 – Формирование имплантационного ложа в скелетированной нижней челюсти овцы

Каждому животному устанавливали три дентальных имплантата: один контрольный имплантат размещали на расстоянии около 3 см от угла нижней челюсти, два экспериментальных имплантата устанавливали медиальнее и дистальнее контрольного с интервалом 3–4 мм (рисунок 3).

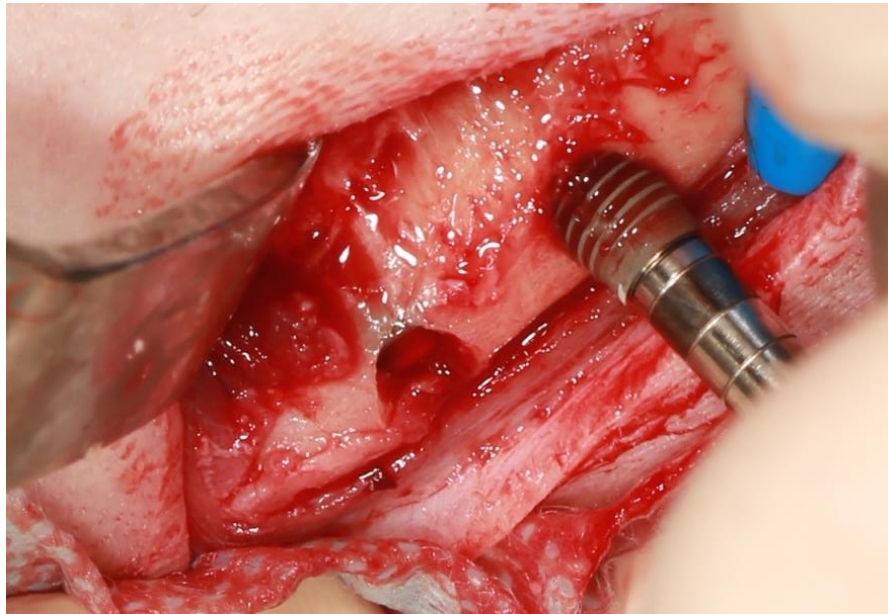


Рисунок 3 – Установка дентального имплантата экспериментальному животному

После завершения имплантации мягкие ткани ушивали резорбируемым шовным материалом, кожные покровы — узловыми швами из нерезорбируемого материала.

В рамках экспериментального исследования всего было прооперировано четыре лабораторных животных. Завершение участия животных в эксперименте осуществляли поэтапно: по две овцы выводили из исследования через 3 и 5 месяцев после хирургического вмешательства. Эвтаназию проводили гуманным методом, путём контролируемой передозировки препарата для общей анестезии «Золетил 100», что соответствовало требованиям биоэтики и действующим нормативным документам, регламентирующим окончание экспериментов с использованием животных.

После эвтаназии выполняли забор костного материала для последующего морфологического и морфометрического анализа. Извлечение образцов осуществляли с применением остеотомов и дисковых пил, что позволяло получить фрагменты костной ткани с сохранением зоны «кость–имплантат» без нарушения её пространственной структуры. В результате было получено четыре фрагмента нижней челюсти, включающие участки с установленными имплантатами, что обеспечивало возможность объективной

оценки процессов остеоинтеграции (рисунок 4).

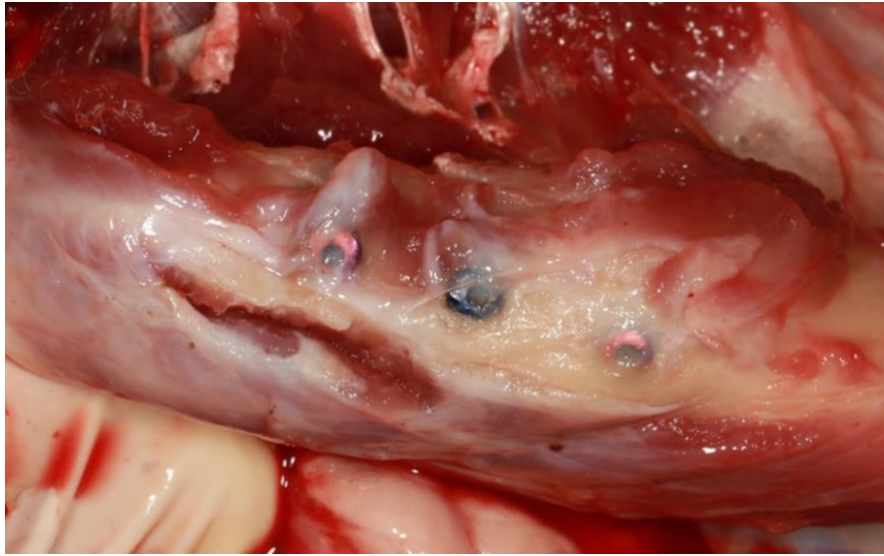


Рисунок 3 – Скелетированный фрагмент челюсти овцы с установленными имплантатами перед выведением животного из эксперимента.

Полученные костные фрагменты незамедлительно помещали в 10% раствор забуференного нейтрального формалина (БиоВитрум, Россия) для фиксации.

2.3.2 Материал и методы рентгенологического исследования

Проводили конусно-лучевую компьютерную томографию фрагментов на аппарате Raхi3D (FOV12*9, Vatech, Республика Корея). По результатам конусно-лучевой компьютерной томографии определяли оптическую плотность костной ткани в трех зонах, контактирующих с имплантатом – в области крестальной кости (корональной части имплантата), в области средней трети имплантата (зона дна шахты имплантата), в области апикальной части имплантата. Плотность кости определяли по периферии имплантата на ширине кости от 1.5 до 2 мм от поверхности имплантата.

2.3.3 Методы морфогистологического исследования экспериментального материала

Для удаления минерального компонента костной ткани применяли метод электролитической декальцинации с использованием

специализированного декальцинирующего раствора (БиоВитрум, Россия), представляющего собой сбалансированную смесь хлорида натрия, муравьиной и соляной кислот. Декальцинацию проводили при регулярной замене раствора с интервалом один раз в двое суток, что обеспечивало равномерное удаление минеральной фазы при сохранении структурной целостности органического матрикса. После завершения декальцинации металлические имплантаты аккуратно извлекали из костных блоков.

Подготовленные образцы костной ткани заключали в парафин с использованием автоматизированных систем заливки и проводки. Для гистологического исследования из каждого блока вырезали фрагменты объёмом около 1 см³, которые далее подвергали стандартной многоэтапной обработке. Фиксированный материал последовательно дегидратировали в растворах этилового спирта возрастающей концентрации (50°, 60°, 70°, 80°, 96°), затем просветляли в ксилоле и проводили в автоматическом вакуумном гистологическом процессоре Tissue-Tek® VIP™ 5 Jr. (Sakura, Япония). После завершения проводки образцы помещали в гистологическую среду «Гистомикс» (БиоВитрум, Россия) с использованием модульной системы заливки парафином Tissue-Tek® TEC™ 5 (Sakura, Япония).

Из подготовленных парафиновых блоков получали серийные гистологические срезы толщиной 3–5 мкм на ротационном микротоме Accu-Cut® SRM™ 200 (Sakura, Япония). Вспомогательные манипуляции выполняли на микротомном верстаке Microtome Bench (Bio-Optica, Италия). Полученные срезы окрашивали в автоматическом режиме на автостейнере Tissue-Tek® Prisma™ (Sakura, Япония). Для обзорного гистологического анализа использовали срезы толщиной 5–6 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином, а также пикрофуксином по Ван Гизону.

Гистоморфометрический анализ выполняли с применением светового медицинского микроскопа CX23 и программных комплексов ImageView и ImageTool v.2.00. Количественную оценку параметров созревания костной

ткани проводили с использованием специализированного программного обеспечения «Морфология 5.0 Видео-Тест» (Россия), где анализировали показатели ремоделирования и структурной организации костного матрикса в зоне имплантации (таблица 1).

Таблица 1 – Морфометрические показатели созревания костной ткани

Показатели тканевой дифференцировки	Показатели клеточного дифферона	Показатели ангиогенеза
S грубоволокнистой костной ткани (мкм ²)	Количество остеобластов (n)	S сосудов (мкм ²)
S пластинчатой костной ткани (мкм ²)	Количество остеоцитов (n)	Общий периметр стенок сосудов (мкм)
S соединительной ткани (мкм ²)	Количество остеокластов (n)	Средний диаметр сосудов (мкм)

Для иммуногистохимического исследования в качестве первичных антител применяли поликлональные кроличьи антинуклеолярные антитела к Anti-Nucleophosmin antibody [SP236], Anti-Nucleolin antibody и Anti-Fibrillarin [28F2] antibody (Abcam Limited, Великобритания), характеристика которых приведена в таблице 2. Депарафинизацию и регидратацию срезов осуществляли стандартным рутинным методом. Для восстановления антигенной детерминанты и минимизации влияния химической обработки на эпитопы применяли высокотемпературную демаскировку с использованием 5% буферного раствора Trilogy™ (CELL MARQUE, США) в течение 20 минут.

Таблица 2 – Характеристика первичных антинуклеолярных антител.

Антитела	Клон	Антиген	Структуры экспрессирующие антиген
NPM1	SP236	Нуклеофозмин	Ядра, ядрышки, цитоплазма
NCL	-	Нуклеолин	Ядрышки, цитоплазма
FBL	28F2	Фибрилларин	Ядрышки, цитоплазма

После демаскировки срезы промывали в 5% буферном растворе TBS IHC Wash Buffer с Tween 20 (CELL MARQUE, США) и Tris Buffered Saline & Tween 20 (Thermo Scientific, США), затем кратковременно ополаскивали в дистиллированной воде. Для подавления активности эндогенной пероксидазы препараты инкубировали в течение 20 минут в 3% растворе пероксида водорода с добавлением Peroxide Block (CELL MARQUE, США). Далее срезы вновь промывали и выдерживали в буферном растворе TBS с Tween 20.

Рабочее поле ограничивали гидрофобным барьером с использованием карандаша Ellite PAP pen (BioSystems, США). Для предотвращения неспецифического связывания антител препараты предварительно инкубировали с блокировочным раствором Background Block™ (CELL MARQUE, США) в течение 10 минут, после чего излишки раствора удаляли фильтровальной бумагой. Инкубацию с первичными антителами проводили во влажной камере при температуре 27 °C в течение 24 часов, после чего препараты промывали в буферном растворе TBS с Tween 20.

Визуализацию иммунных комплексов осуществляли с применением полимерной системы детекции HiDef Detection™ (CELL MARQUE, США). Сначала наносили усилитель (Amplifier, раствор №1) с инкубацией 60 минут при температуре 27 °C, затем после промывки применяли полимерный детектор HRP (раствор №2) с аналогичной инкубацией. Для хромогенной визуализации использовали субстрат 3,3'-диаминобензидин тетрагидрохлорид (DAB) с экспозицией 3–5 минут. Процесс окрашивания контролировали микроскопически до достижения оптимальной интенсивности коричневого окрашивания.

После завершения реакции срезы промывали в дистиллированной воде, затем проводили контрастное окрашивание ядер гематоксилином Майера в течение 3 минут. Для формирования чёткого голубого окрашивания препараты кратковременно помещали в щелочной раствор дистиллированной

воды с добавлением аммиака. Далее срезы дегидратировали в спиртах восходящей концентрации, просветляли в ксилоле и заключали в монтирующую среду (БиоВитрум, Россия).

На аналитическом этапе использовали метод негативного контроля, при котором первичные антитела заменяли раствором для разведения (Thermo Scientific, США). При появлении неспецифического коричневого окрашивания препараты исключали из анализа; при его отсутствии препараты допускали к дальнейшей оценке.

Микроскопическое исследование проводили с использованием микроскопа BX53 (Olympus, Япония) при увеличениях 4× (площадь поля зрения 1 500 319,483 мкм²) для анализа общей архитектоники тканей, 10× (240 970,078 мкм²) для оценки сосудистого компонента и 60× (6 542,894 мкм²) для детального изучения клеточных, ядерных и ядрышковых структур. Оцифровывание изображений выполняли с помощью цифровой камеры SC50 (Olympus, Япония) в программной среде CellSens Entry (Olympus, Япония).

2.3.4 Методика иммуногистохимического исследования

С целью селективной идентификации белковых маркеров, отражающих активность процессов остеогенеза, костного ремоделирования и формирования остеоинтеграционного контакта, в рамках экспериментального исследования было выполнено иммуногистохимическое исследование (ИГХ) костной ткани в зоне имплантации.

Для выявления ключевых остеоспецифических белков применяли первичные поликлональные кроличьи антитела, произведённые компанией Inffity (Китай), направленные против остеопонтина (Osteopontin, OPN) и SPARC (Secreted Protein Acidic and Cysteine Rich, остеоонектин), являющихся признанными молекулярными индикаторами дифференцировки остеобластов, минерализации внеклеточного матрикса и регуляции костного ремоделирования.

Для визуализации иммунной реакции использовали коммерческий набор реагентов для иммуногистохимии на основе стрептавидин-биотинового пероксидазного комплекса (SP-метод) производства Cloud-Clone Corp (Китай). В состав набора входили биотинилированные вторичные антитела, стрептавидин, конъюгированный с пероксидазой хрена (HRP), а также вспомогательные буферные растворы, предназначенные для блокирования активности эндогенной пероксидазы и снижения уровня неспецифического связывания антител.

Иммуногистохимическое окрашивание выполняли ручным методом по классическому протоколу SP-метода с соблюдением рекомендаций производителя реагентов, с внесением незначительных модификаций, адаптированных к особенностям исследуемого материала, и обязательным использованием внешнего положительного и отрицательного контроля. Между всеми этапами реакции проводили промывку срезов трижды по 5 минут в фосфатно-солевом буфере (PBS, pH 7,4), что обеспечивало стабильность условий реакции и снижение фонового окрашивания.

Инкубацию с первичными антителами против остеопонтина и SPARC осуществляли при оптимальных рабочих разведениях, предварительно определённых в ходе титрования: 1:100 для OPN и 1:200 для SPARC. Указанные концентрации обеспечивали максимальную специфичность окрашивания при минимальном уровне неспецифических реакций.

На следующем этапе последовательно наносили биотинилированные вторичные козы антитела против кроличьих иммуноглобулинов G, а затем стрептавидин-пероксидазный комплекс, конъюгированный с HRP, входящий в состав набора Cloud-Clone Corp. Каждый из реагентов инкубировали в течение 30 минут при контролируемых условиях, после чего выполняли промывку срезов фосфатным буфером.

Полученный иммунный комплекс визуализировали с использованием хромогенного субстрата в последующих этапах окрашивания, что позволяло

выявить локализацию и интенсивность экспрессии остеоспецифических белков в тканях, окружающих дентальные имплантаты, и провести качественную и полуколичественную оценку активности остеогенеза и процессов остеоинтеграции.

2.4 Методы статистического анализа

Статистическую обработку экспериментальных данных, полученных в ходе токсикологических и микробиологических исследований, осуществляли с применением современных программных средств математической статистики. Анализ токсикологических показателей выполняли с использованием программного пакета GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, США). Предварительно характер распределения количественных переменных оценивали с помощью критерия Шапиро–Уилка. В зависимости от результатов теста на нормальность для сравнения показателей между несколькими группами применяли параметрические или непараметрические методы статистического анализа. При нормальном распределении данных использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующим post-hoc тестом Тьюки, при отклонении от нормального распределения — критерий Краскела–Уоллиса с post-hoc тестом Данна. Для попарного сопоставления групп применяли t-критерий Стьюдента либо непараметрический критерий Манна–Уитни. Статистически значимыми различия считали при уровне значимости $p < 0,05$.

Обработка результатов микробиологического эксперимента проводилась в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 5479-2002 «Статистические методы». Каждый исследуемый параметр определяли в десяти повторностях. Проверку соответствия выборок нормальному распределению также осуществляли с использованием критерия Шапиро–Уилка. При значении статистики $W' \geq 1$ распределение считали близким к нормальному. Для представления данных применяли методы описательной статистики с

использованием медианы и 75-го перцентиля. Сравнение показателей между опытной и контрольной группами выполняли с помощью критерия Манна–Уитни, а при проведении множественных попарных сравнений использовали поправку Шидака. Уровень статистической значимости принимали равным $p \leq 0,05$.

Первичную систематизацию, структурирование и контроль корректности экспериментальных данных осуществляли с использованием табличного процессора Microsoft Excel, что позволяло обеспечить точность ввода и предварительный анализ массивов данных. Для углублённой статистической обработки, интерпретации результатов и построения графических материалов использовали программную среду RStudio, обладающую расширенными возможностями для анализа биомедицинских данных. В процессе работы применяли специализированные библиотеки языка R: пакет `dplyr` — для фильтрации, агрегации и трансформации данных; `ggplot2` — для визуализации и построения аналитических графиков; `readxl` — для импорта данных из электронных таблиц; `broom` — для стандартизации и представления результатов статистических моделей; `openxlsx` — для экспорта итоговых таблиц и аналитических отчётов в форматы, пригодные для дальнейшего оформления.

Использование комплексного подхода к статистическому анализу с применением как универсальных, так и специализированных программных средств обеспечило достоверную обработку экспериментальных данных, корректную интерпретацию полученных результатов и их наглядное представление в форме, соответствующей требованиям экспериментальной и доказательной медицины.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ЛАБОРАТОРНО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Лабораторно-экспериментальный этап был ориентирован на получение объективных, воспроизводимых данных, позволяющих всесторонне охарактеризовать влияние модифицированной поверхности имплантатов на ключевые биологические процессы, определяющие их клиническую перспективность.

3.1 Результаты токсикологических исследований

При оценки цитостатических свойств импланта не было получение значимых различий между группами с/без покрытия. Контрольная среда без импланта значимо отличалась от исследуемых группа, что говорит о том, что само по себе наличие импланта в лунке оказывает влияние на клетки (таблица 3, рисунок 4).

Таблица 3 – Оптическая плотность OD540 для образцов, после МТТ-теста.

Номер повторности	Контроль - среда без импланта	Без покрытия	С покрытием
1	2,005	0,991	1,245
2	1,881	0,869	1,011
3	1,072	1,043	1,5
4	2,225	1,269	0,832
5	2,452	1,808	0,603
Среднее $\pm$ SD	1,92 $\pm$ 0,52*	1,19 $\pm$ 0,37	1,0382 $\pm$ 0,34

* - $p < 0.05$ против групп «без покрытия» и «с покрытием».

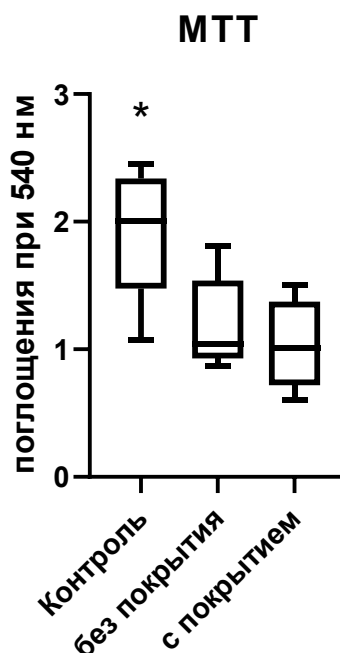


Рисунок 4 – Анализ жизнеспособности клеток ТНР-1 после инкубации клеток с образцами имплантов без/с покрытием и в контрольной среде. * - $p < 0.05$ против групп «без покрытия» и «с покрытием».

Было получено, что после инкубации с исследуемыми образцами имплантов процент апоптотических клеток ТНР-1, детектируемых методом проточной цитометрии после окрашивания пропидиум-йодидом (PI-тест), значительно не изменялся между группами, несмотря на некоторый рост данного показателя среди образцов с покрытием (таблица 4, рисунок 5).

Таблица 4 – Процент апоптотических, пропидиум йодид-положительных клеток, после инкубации клеток с образцами имплантов без/с покрытием.

Номер повторности	Без покрытия	С покрытием
1	3,56	3,11
2	2,84	3,44
3	2,81	4,89
4	1,96	3,75
5	2,82	6,92
Среднее $\pm$ SD	2,79 $\pm$ 0,56	4,42 $\pm$ 1,54

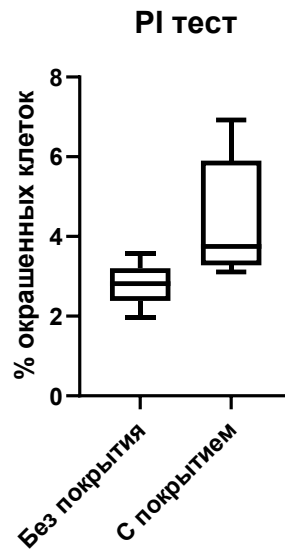
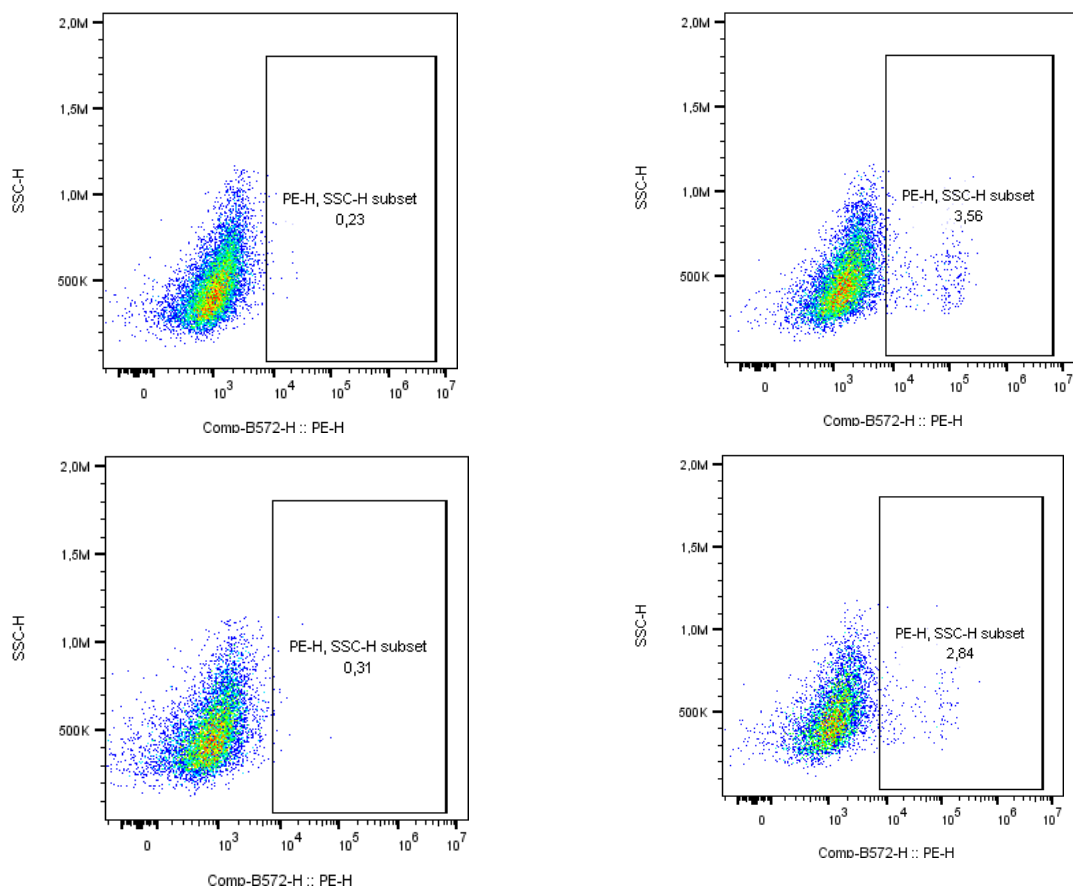


Рисунок 5 – Процент апоптотических, пропидиум йодид-положительных клеток, после инкубации клеток с образцами имплантов без/с покрытием.

Характерные дот-плот диаграммы, полученные в результате проточно-цитометрического анализа после окрашивания клеток, представлены на рисунках 6 и 7 и отражают распределение клеточных популяций в исследуемых группах.



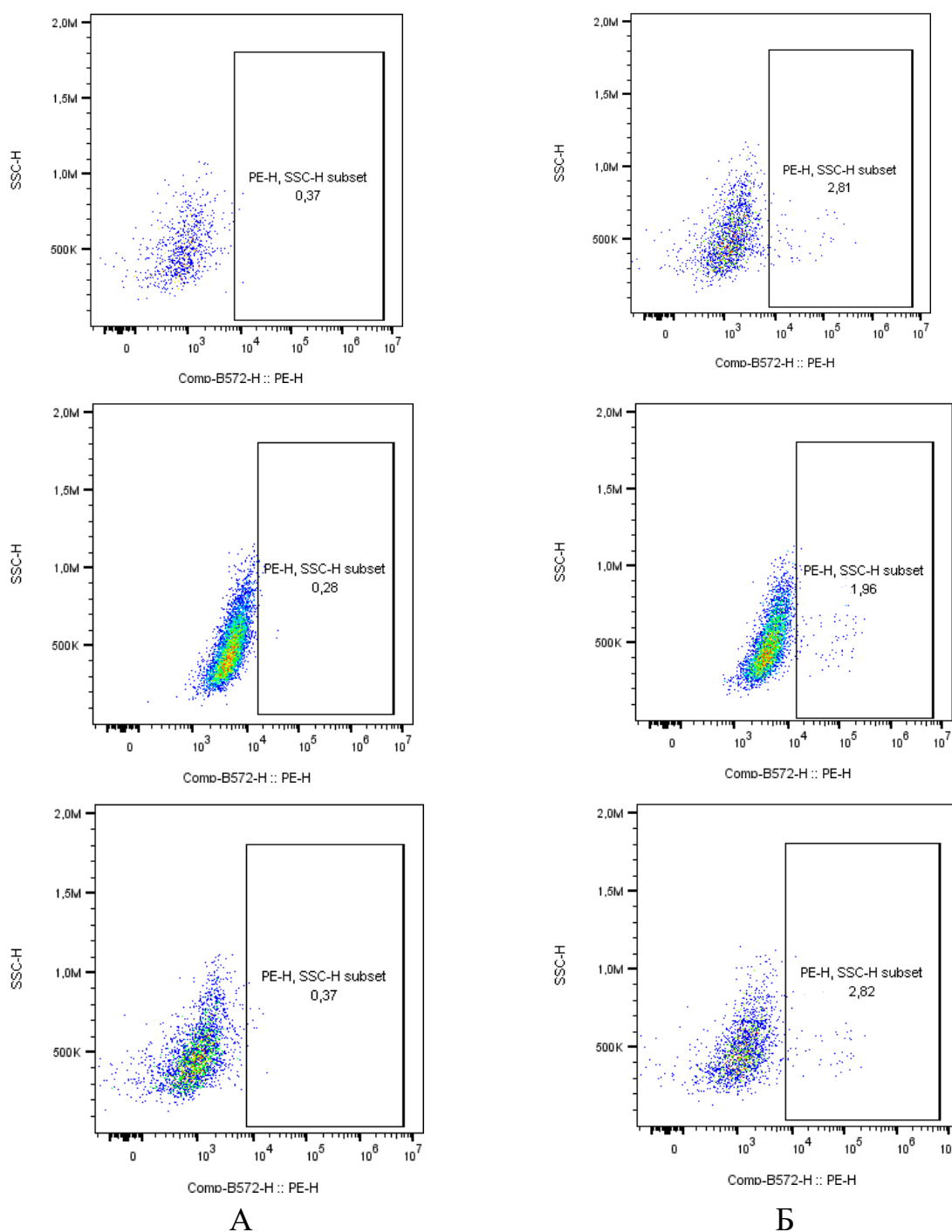
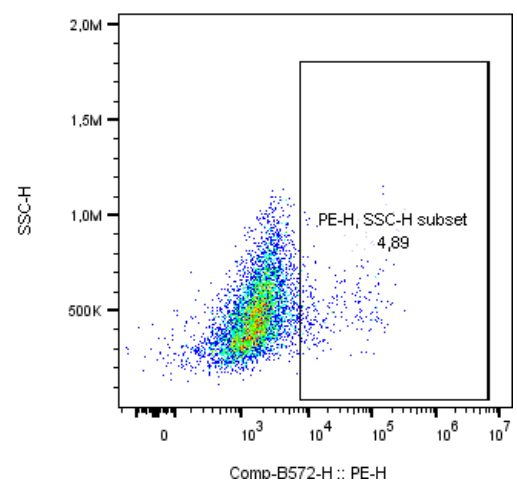
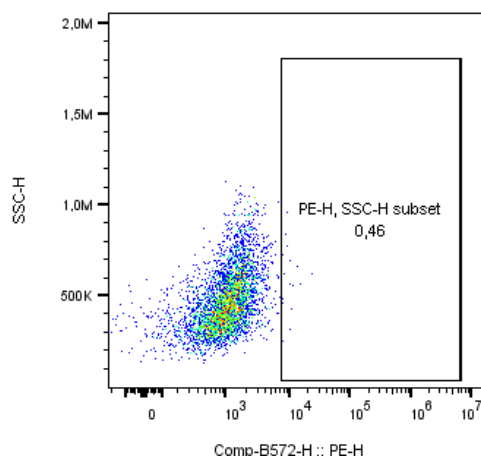
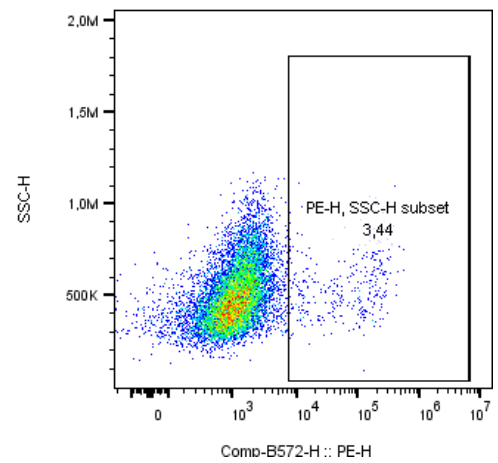
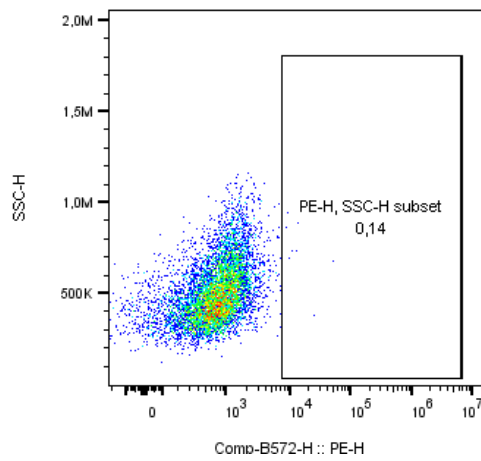
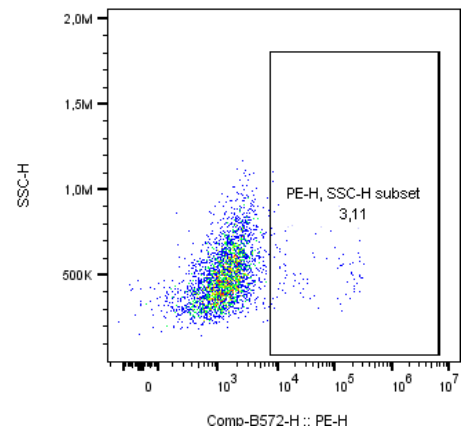
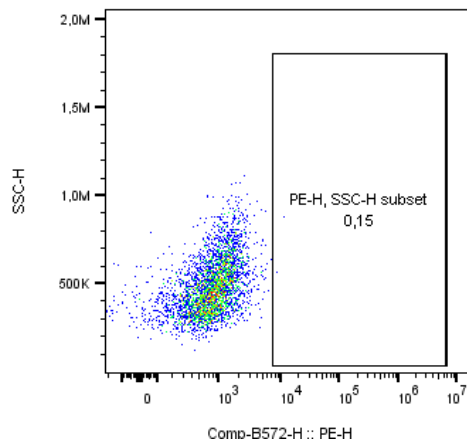


Рисунок 6 – Оценка процента апоптотических, пропидиум йодид-положительных клеток линии ТНР-1: А) контроль окрашивания; Б) после инкубации клеток с образцами имплантов без покрытия.



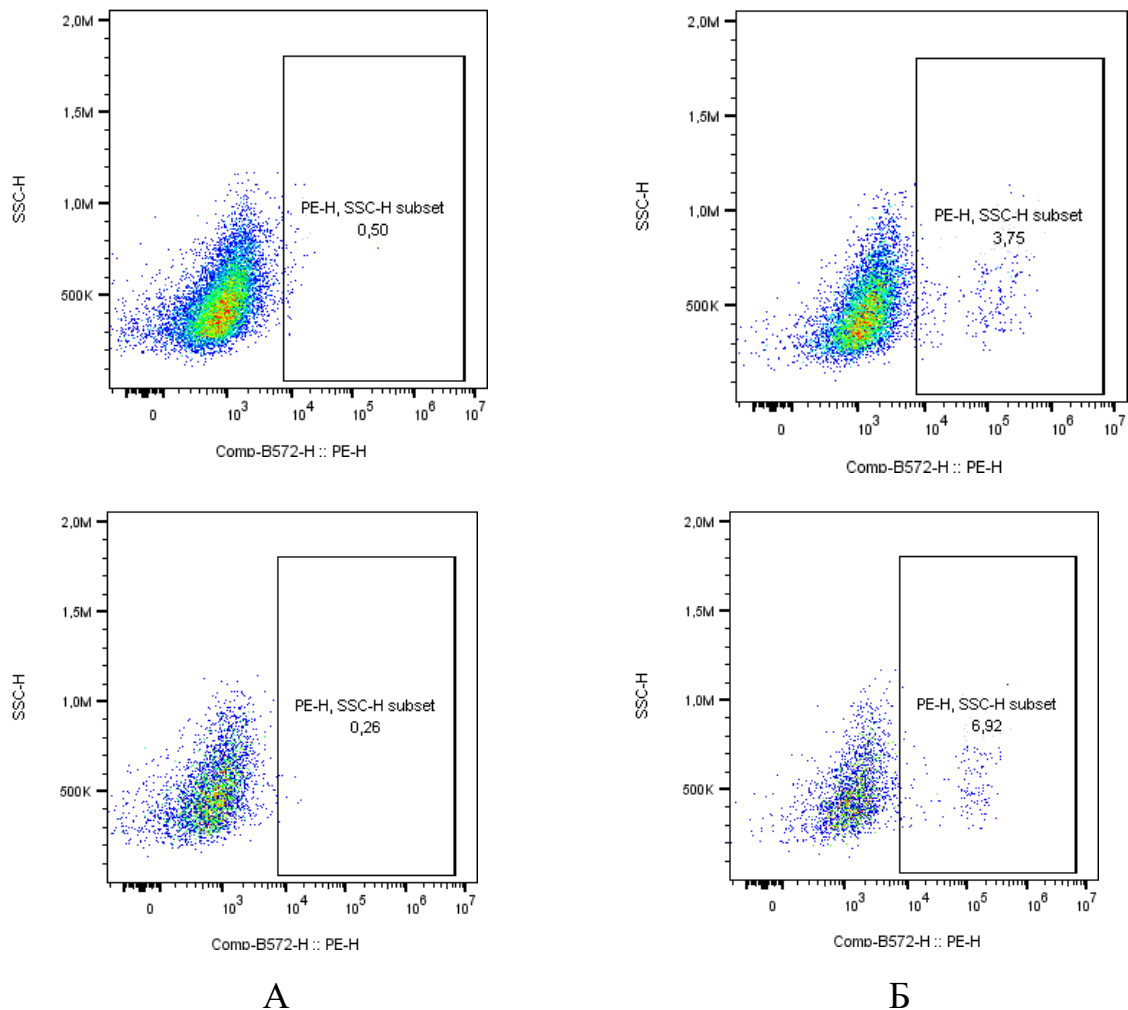


Рисунок 7 – Оценка процента апоптотических, пропидиум йодид-положительных клеток линии ТНР-1: А) контроль окрашивания; Б) после инкубации клеток с образцами имплантов с покрытием.

Дополнительно был выполнен анализ доли CD45-положительных клеток после инкубации клеточной линии ТНР-1 с образцами дентальных имплантатов, как с биоактивным покрытием, так и без него. По результатам проведённого иммунофенотипического исследования установлено статистически значимое увеличение процента CD45-положительных клеток в группе образцов с нанесённым покрытием по сравнению с контрольными имплантатами без покрытия. Выявленные изменения указывают на активацию клеток моноцитарно-макрофагального ряда при контакте с модифицированной

поверхностью имплантатов и свидетельствуют о биологически значимом влиянии покрытия на клеточный иммунный ответ (таблица 5, рисунок 8).

Таблица 5 – Процент CD45-положительных клеток, после инкубации клеток с образцами имплантов без/с покрытием.

Номер повторности	Без покрытия	С покрытием
1	35,5	51,6
2	34,8	54,5
3	30,3	48,8
4	38,1	47,9
5	35,4	49,5
Среднее $\pm$ SD	34,8 $\pm$ 2,8	50,46 $\pm$ 2,6*

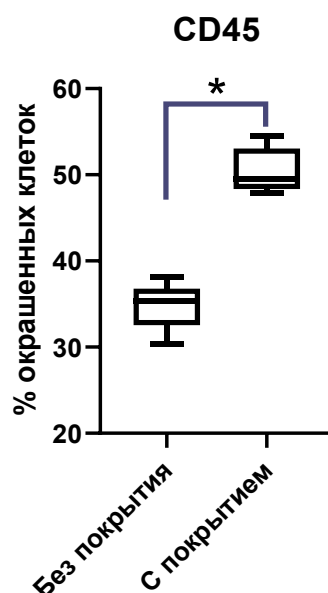


Рисунок 8 – Процент CD45-положительных клеток после инкубации клеток с образцами имплантов без/с покрытием. * - $p < 0.05$ согласно t-тесту.

Репрезентативные результаты иммунофлуоресцентного окрашивания представлены на рисунке 9. На полученных гистограммах отмечается смещение популяции окрашенных клеток, обозначенных голубым цветом,

влево по оси интенсивности сигнала в группе образцов с биоактивным покрытием по сравнению с контрольными клетками.

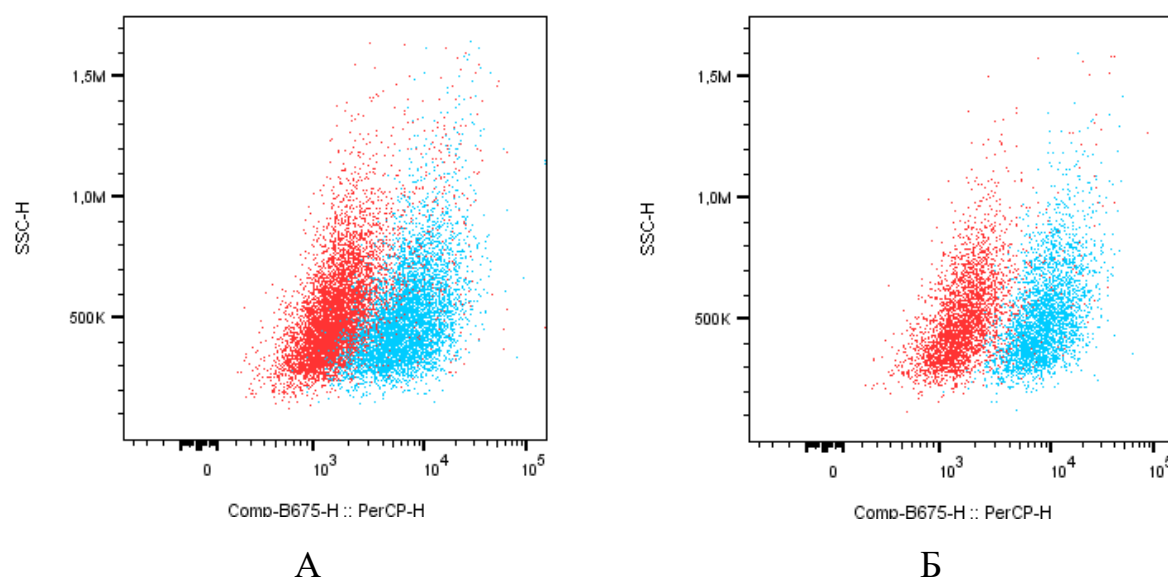


Рисунок 9 – Репрезентативное окрашивание клеток ТНР-1 антителами к CD45 (голубое окрашивание) после инкубации клеток с образцами имплантов: А) без покрытия; Б) с покрытием. Красное окрашивание – контрольные клетки.

CD45, также известный как рецептор тирозинфосфатазы белка типа С (PTPRC) или общий антиген лейкоцитов (LCA), является важным трансмембранным гликопротеином, экспрессируемым на всех ядродержащих гемопоэтических клетках. Экспрессия CD45 может увеличиваться из-за различных факторов: она тесно связана с активацией и сигнализацией иммунных клеток. Внешние стимулы, в частности патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMP), могут вызывать увеличение экспрессии CD45. Например, стимуляция липополисахаридами образцов цельной крови пациентов с COVID-19 привела к увеличению экспрессии CD45 в гранулоцитах и моноцитах (10.3390/jcm11144219). Воспалительные состояния и клеточный стресс могут привести к повышенной экспрессии CD45. CD45 участвует в регуляции апоптоза и пролиферации иммунных клеток в условиях стресса, что может включать повышение

регуляции его экспрессии в качестве компенсаторного механизма. Активация клеток THP-1 может привести к повышению экспрессии CD45, что можно расценивать как признак активации моноцитов или макрофагов *in vivo*. CD45 участвует в регуляции пролиферации клеток. Изменения в клеточном цикле или скорости пролиферации клеток THP-1 могут потенциально привести к повышенной экспрессии CD45 как части клеточного механизма, регулирующего рост и деление.

Многогранная роль CD45 в функции иммунных клеток, от регулирования передачи сигнала до влияния на пролиферацию и дифференциацию клеток, делает его динамическим маркером, экспрессия которого может меняться в ответ на различные клеточные и экологические сигналы.

По результатам проведённого комплекса токсикологических исследований установлено, что дентальные имплантаты с нанесённым биоактивным покрытием на основе рекомбинантного BMP-2 не оказывают выраженного цитостатического и цитотоксического воздействия на клетки моноцитарно-макрофагального ряда линии THP-1 *in vitro*.

Анализ жизнеспособности клеток по данным МТТ-теста показал отсутствие статистически значимых различий между имплантатами без покрытия и имплантатами с биоактивным покрытием. Средние значения оптической плотности (OD_{540}) составили $1,19 \pm 0,37$ для образцов без покрытия и $1,04 \pm 0,34$ для образцов с покрытием, различия между указанными группами были статистически недостоверны ($p > 0,05$). В то же время контрольная группа, представленная культуральной средой без импланта, характеризовалась достоверно более высокими показателями метаболической активности клеток ($1,92 \pm 0,52$), что статистически значимо отличалось от обеих экспериментальных групп ($p < 0,05$). Это свидетельствует о том, что само присутствие имплантационного материала в культуральной среде оказывает влияние на клеточную активность, независимо от наличия биоактивного покрытия.

Результаты проточно-цитометрического анализа апоптоза, выполненного с использованием окрашивания пропидиум-йодидом, показали, что доля апоптотических клеток после 48-часовой инкубации с образцами имплантатов без покрытия ($2,79 \pm 0,56 \%$) и с покрытием ($4,42 \pm 1,54 \%$) не имела статистически значимых различий ($p > 0,05$). Несмотря на тенденцию к увеличению процента PI-положительных клеток в группе имплантатов с покрытием, выявленные изменения не носили достоверного характера и не свидетельствовали о выраженном проапоптотическом эффекте биоактивной поверхности.

Вместе с тем иммунофенотипический анализ выявил статистически значимое увеличение доли CD45-положительных клеток в группе имплантатов с покрытием. Среднее значение данного показателя составило $50,46 \pm 2,6 \%$, что было достоверно выше по сравнению с группой имплантатов без покрытия ($34,8 \pm 2,8 \%$, $p < 0,05$). Данный факт указывает на активацию клеток моноцитарно-макрофагального ряда при контакте с модифицированной поверхностью имплантатов и отражает иммунобиологическую реакцию, не сопровождающуюся усилением апоптоза или снижением клеточной жизнеспособности.

В совокупности полученные данные свидетельствуют о высокой биосовместимости дентальных имплантатов с покрытием на основе рекомбинантного BMP-2. Биоактивное покрытие не оказывает цитотоксического действия, не индуцирует апоптоз клеток и одновременно способствует активации иммунокомпетентных клеток, что может рассматриваться как потенциально благоприятный фактор в контексте ранних стадий остеоинтеграции и регуляции репаративных процессов. Полученные результаты обосновывают целесообразность дальнейшего экспериментального изучения данных имплантатов в условиях *in vivo*.

3.2 Результаты микробиологических исследований

Микробиологический раздел исследований был посвящён изучению адгезивных свойств клинически значимых микроорганизмов на поверхности титановых образцов с нанесённым ВМР-2 и без него. Учитывая, что первичная микробная адгезия и последующее формирование биоплёнки являются одними из ключевых факторов риска развития воспалительных осложнений в дентальной имплантологии, анализ остаточной адгезии различных бактериальных и грибковых тест-культур позволил оценить потенциальное влияние биоактивного покрытия на микробную колонизацию поверхности имплантатов.

При анализе показателей остаточной адгезии тест-микроорганизмов *E. coli* ATCC 25982, *S. aureus* ATCC 6538, *C. albicans* CTC885-653, *S. mutans* 3003, *S. mitis* NCTC 10712 и *P. aeruginosa* B-8243 к образцу I установлено, что все исследуемые штаммы сохраняли способность к адгезии на поверхности конструкционного материала, что подтверждает универсальный характер первичного микробного взаимодействия с имплантационными субстратами (рисунок 10).

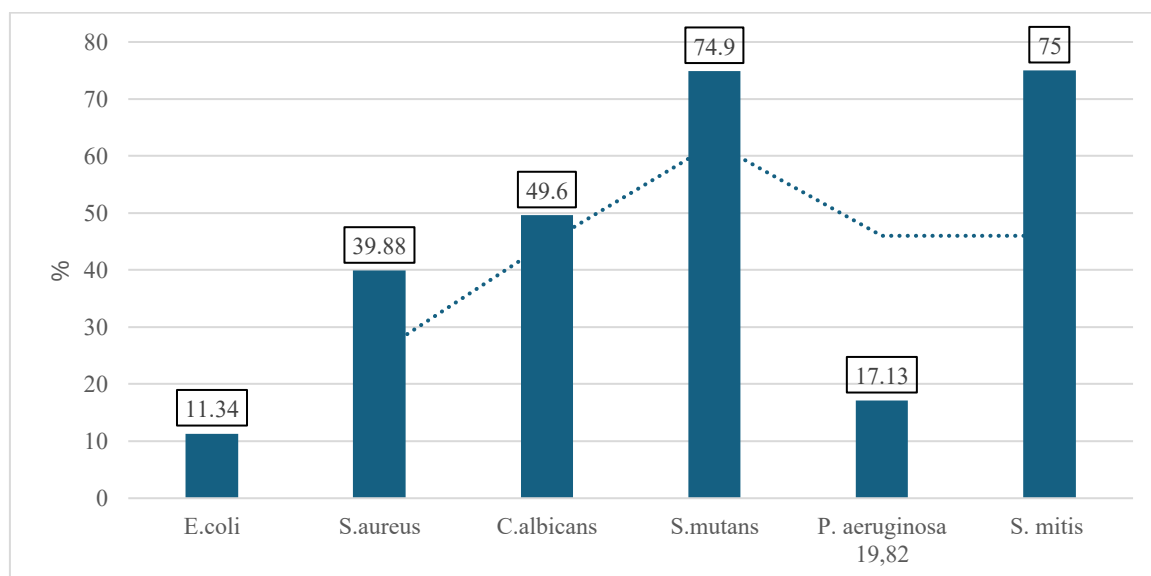


Рисунок 10 – Остаточная адгезия штаммов *E. coli* ATCC 25982, *S. aureus* ATCC 6538, *C. albicans* NoCTC885-653, *S. mutans* – 3003, *S. mitis* NCTC 10712,

P. aeruginosa B-8243 (Biovitrum, СПб, Россия) к опытному образцу, площадь 0,45см²

При изучении образцов, модифицированных покрытием с рекомбинантным ВМР-2, выявлены выраженные межвидовые различия в уровне остаточной адгезии микроорганизмов после стандартного 40-минутного инкубирования. Наибольшую адгезивную активность продемонстрировали представители оральной микрофлоры — *S. mutans* 3003 и *S. mitis* NCTC 10712, значения остаточной адгезии которых составили 74,9% и 75% соответственно, при этом различия с рядом других микроорганизмов носили статистически значимый характер ($p < 0,05$).

Минимальные показатели адгезии были зафиксированы для *E. coli* ATCC 25922 (11,34%), тогда как для *P. aeruginosa* B-8243 данный показатель составил 19,83%. Умеренный уровень адгезии наблюдался у *S. aureus* ATCC 6538 (39,88%) и *C. albicans* CTC885-653 (49,6%), что указывает на различия в механизмах взаимодействия грамположительных, грамотрицательных бактерий и дрожжеподобных грибов с биоактивной поверхностью имплантата.

Сравнительный анализ коэффициентов остаточной адгезии показал, что отношение показателей *S. mutans* 3003 к *S. mitis* NCTC 10712 составляло 0,99, что свидетельствует о практически идентичной адгезивной способности данных микроорганизмов. В то же время адгезия *S. mutans* превышала показатели *E. coli* в 6,6 раза, *S. aureus* — в 1,88 раза, *C. albicans* — в 1,5 раза и *P. aeruginosa* — в 3,77 раза. Аналогичная тенденция выявлена и при сравнении *S. mitis* NCTC 10712 с другими тест-культурами: по отношению к *E. coli* показатель был выше в 6,61 раза, к *S. aureus* — в 1,88 раза, к *C. albicans* — в 1,53 раза, а к *P. aeruginosa* — в 3,78 раза.

Анализ показателей остаточной адгезии тест-микроорганизмов *E. coli* ATCC 25982, *S. aureus* ATCC 6538, *C. albicans* CTC885-653, *S. mutans* 3003, *S.*

mitis NCTC 10712 и *P. aeruginosa* B-8243 (Biovitrum, Санкт-Петербург, Россия) к образцам имплантационного материала без нанесённого покрытия рекомбинантным ВМР-2 показал, что все исследуемые штаммы сохраняли способность к адгезии на поверхности конструкционного материала. Полученные данные свидетельствуют о наличии базового уровня микробного прикрепления, характерного для титановой поверхности без биологической модификации, что подтверждается результатами, представленными на рисунке 10.

Между коэффициентами адгезии, полученными при изучении опытного и контрольного образцов, достоверных различий выявлено не было. Зарегистрирована тенденция к увеличению индекса остаточной адгезии на материалах контрольных образцов, $p \leq 0,05$.

При анализе образцов имплантационного материала без нанесения рекомбинантного ВМР-2 установлено, что после стандартного 40-минутного инкубирования сохраняется выраженная способность микроорганизмов к адгезии на поверхности исходного конструкционного материала. Наиболее высокие показатели остаточной адгезии в данной группе были характерны для представителей стрептококковой флоры — *S. mutans* 3003 и *S. mitis* NCTC 10712, значения которых составили 76,9% и 72% соответственно, при этом различия между ними и рядом других тест-культур были статистически значимыми ($p < 0,05$).

Минимальная адгезивная активность в условиях отсутствия биоактивного покрытия была зафиксирована у *E. coli* ATCC®25922™ (13,1%) и *P. aeruginosa* B-8243 (15,12%). Умеренные показатели остаточной адгезии отмечались у *S. aureus* ATCC 6538 (42,14%) и *C. albicans* CTC885-653 (45,18%), что указывает на различия в адгезивном потенциале микроорганизмов в зависимости от их таксономической принадлежности и биологических свойств.

Сравнительный анализ коэффициентов остаточной адгезии показал, что отношение показателей *S. mutans* 3003 к *S. mitis* NCTC 10712 составило 1,07, свидетельствуя о незначительном преобладании адгезивной активности первого штамма. При сопоставлении *S. mutans* 3003 с другими микроорганизмами установлено, что его адгезия превышала показатели *E. coli* в 5,8 раза, *S. aureus* — в 1,82 раза, *C. albicans* — в 1,7 раза и *P. aeruginosa* — в 5,08 раза. Аналогичная тенденция выявлена и для *S. mitis* NCTC 10712, показатели остаточной адгезии которого превышали значения *E. coli* в 5,4 раза, *S. aureus* — в 1,7 раза, *C. albicans* — в 1,59 раза и *P. aeruginosa* — в 4,76 раза (рисунок 11).

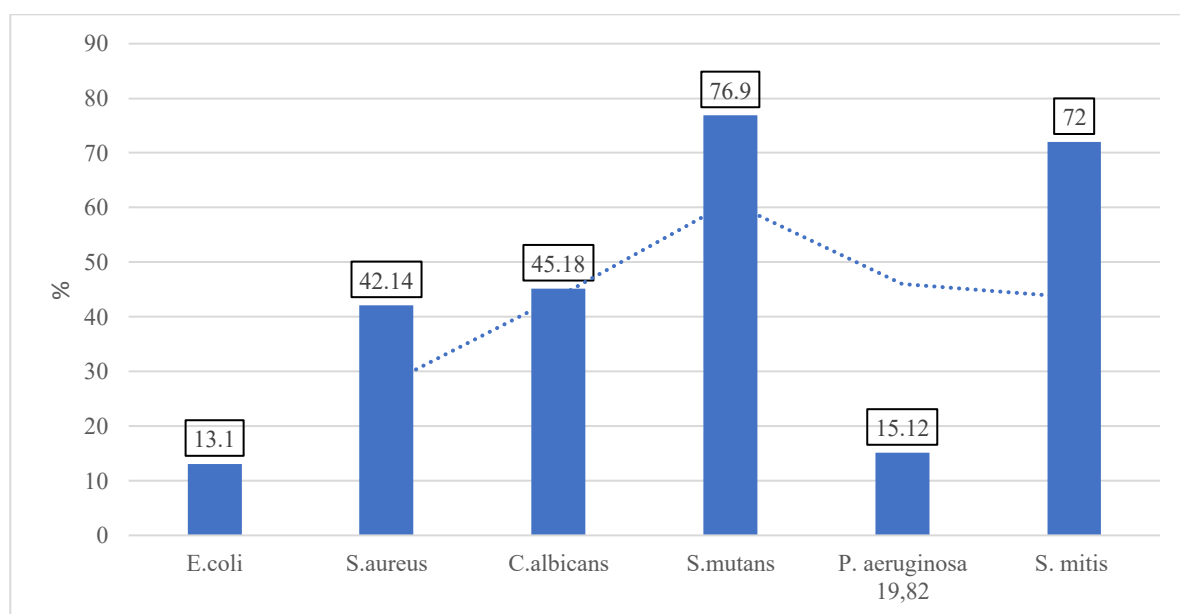


Рисунок 11 – Остаточная адгезия штаммов *E. coli* ATCC 25982, *S. aureus* ATCC 6538, *C. albicans* NoCTC885-653, *S. mutans* – 3003, *S. mitis* NCTC 10712, *P. aeruginosa* B-8243 (Biovitrum, СПб, Россия) к контрольному образцу, площадь 0,45см²

В ходе исследования установлено, что все использованные тест-микроорганизмы обладают способностью к остаточной адгезии на поверхности образцов дентальных имплантатов, модифицированных рекомбинантным костным морфогенетическим белком BMP-2. Наличие биоактивного покрытия не препятствовало первичному прикреплению как грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов, а также

дрожжеподобных грибов, что подтверждает сохранение адгезивных свойств поверхности имплантационного материала.

Сравнительный анализ индексов остаточной адгезии микроорганизмов на опытных образцах с покрытием ВМР-2 и контрольных образцах без покрытия не выявил статистически значимых различий между группами ($p > 0,05$). При этом отмечена тенденция к несколько более высоким значениям показателей остаточной адгезии на поверхности контрольных образцов, не модифицированных белком ВМР-2, что может быть связано с особенностями физико-химических характеристик немодифицированной SLA-поверхности.

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Настоящая глава посвящена анализу и обобщению результатов собственных экспериментальных исследований, выполненных *in vivo* и направленных на комплексную оценку процессов остеоинтеграции дентальных имплантатов с различными вариантами поверхностной модификации. В рамках проведённого эксперимента на животных изучалось влияние экспериментального покрытия на характер и динамику формирования костной ткани в зоне имплантации, а также на показатели костного ремоделирования и биологической интеграции имплантатов с окружающими тканями.

В главе представлены данные конусно-лучевой компьютерной томографии, позволяющие количественно оценить оптическую плотность костной ткани в различных анатомических зонах вокруг имплантатов на разных сроках наблюдения. Полученные рентгенологические результаты сопоставлены с морфологическими и гистоморфометрическими показателями, отражающими структурную организацию новообразованной костной ткани, соотношение грубоволокнистого и пластинчатого костного матрикса, клеточный состав и параметры ангиогенеза.

Отдельный раздел главы посвящён результатам иммуногистохимического исследования, направленного на выявление экспрессии ключевых маркеров остеогенеза и костного ремоделирования, что позволило дополнительно охарактеризовать функциональную активность костной ткани в зоне остеоинтеграции и оценить биологическую состоятельность экспериментального покрытия.

4.1 Результаты исследования оптической плотности костной ткани в зоне имплантации методом конусно-лучевой компьютерной томографии

В рамках проведённого экспериментального исследования были использованы четыре животных (овцы), каждой из которых в ходе оперативного вмешательства устанавливали по три дентальных имплантата. Два из них (имплантаты № 1 и № 3) относились к основной экспериментальной группе и характеризовались наличием биоактивного покрытия, тогда как третий имплантат (№ 2) выполнял функцию контрольного и применялся без дополнительной модификации поверхности. Для анализа временных аспектов остеоинтеграции и ремоделирования костной ткани животные поэтапно выводились из эксперимента: по две особи — через 3 и через 5 месяцев после хирургической установки имплантатов, что обеспечило возможность сопоставления морфологических и гистологических изменений на различных сроках после имплантации.

Результаты рентгенологического исследования через 3 месяца после операции.

Имплантат 1.1 (1 опытный образец, животное №1)

По данным рентгенологического исследования визуализируется чёткая тень установленного имплантата, характеризующаяся стабильными значениями его оптической плотности, находящимися в диапазоне 4500–5000 НУ на всех этапах наблюдения. Костная ткань, окружающая ложе имплантата, отличается выраженной неоднородностью структуры и плотности по периферии (рисунок 12, 13, 14, 15).

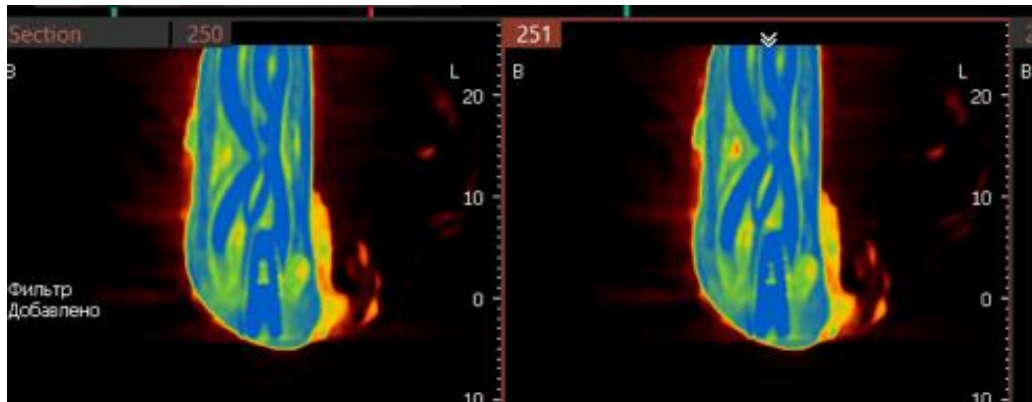


Рисунок 12 – Томограмма на уровне имплантата 1.1, определяется неравномерная плотность костной ткани по периферии имплантата

Количественный анализ плотности костной ткани в различных зонах контакта с имплантатом 1.1 показал следующие значения. В области крестальной кости, соответствующей корональной части имплантата, оптическая плотность варьировала в пределах 2370–2410 HU (рис. 13), что свидетельствует о формировании относительно плотной костной ткани.

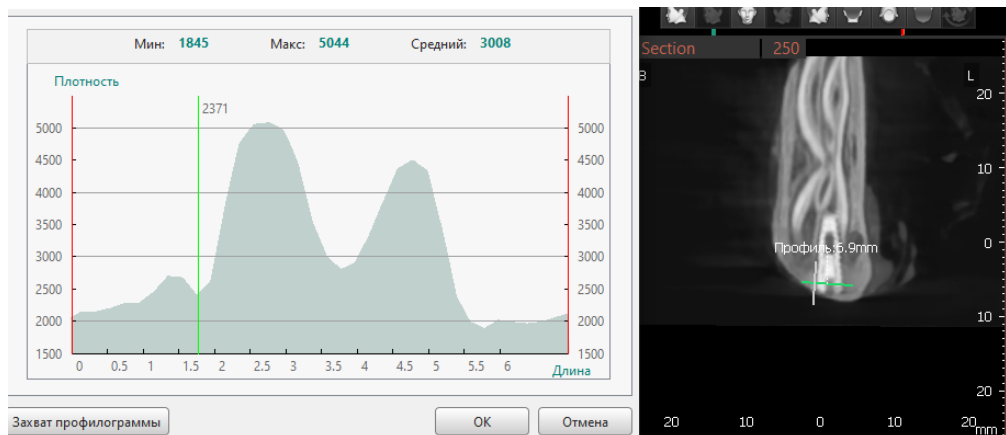


Рисунок 13 – Томограмма имплантата 1.1 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне крестальной кости

В зоне средней трети имплантата регистрировались более низкие показатели плотности — 1450–1500 HU (рис. 14), отражающие особенности ремоделирования костного матрикса в данной области.



Рисунок 14 – томограмма имплантата 1.1 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне средней трети имплантата

Минимальные значения оптической плотности отмечены в апикальной части имплантата и составляли 1069–1176 HU (рис. 15), что указывает на менее выраженную минерализацию костной ткани в данной зоне на момент исследования.

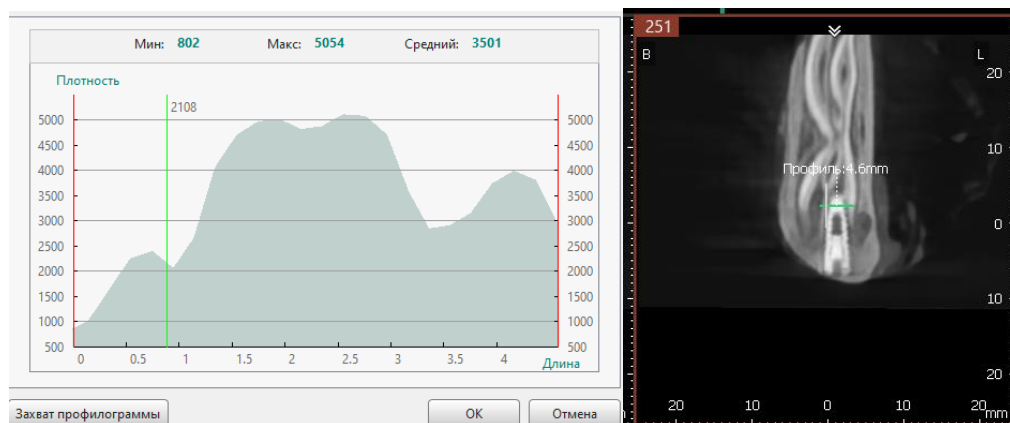


Рисунок 15 – Томограмма имплантата 1.1 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне апикальной части имплантата

Имплантат 1.2 (контрольный образец, животное №1)

При рентгенологическом исследовании отчётливо визуализируется тень имплантата с высокими и стабильными значениями собственной оптической плотности, находящимися в диапазоне 4500–5000 HU на всех этапах наблюдения. Костная ткань, окружающая имплантационное ложе, характеризуется неоднородной структурой и вариабельной плотностью по всей периферии контакта с имплантатом (рис. 16, 17, 18, 19).

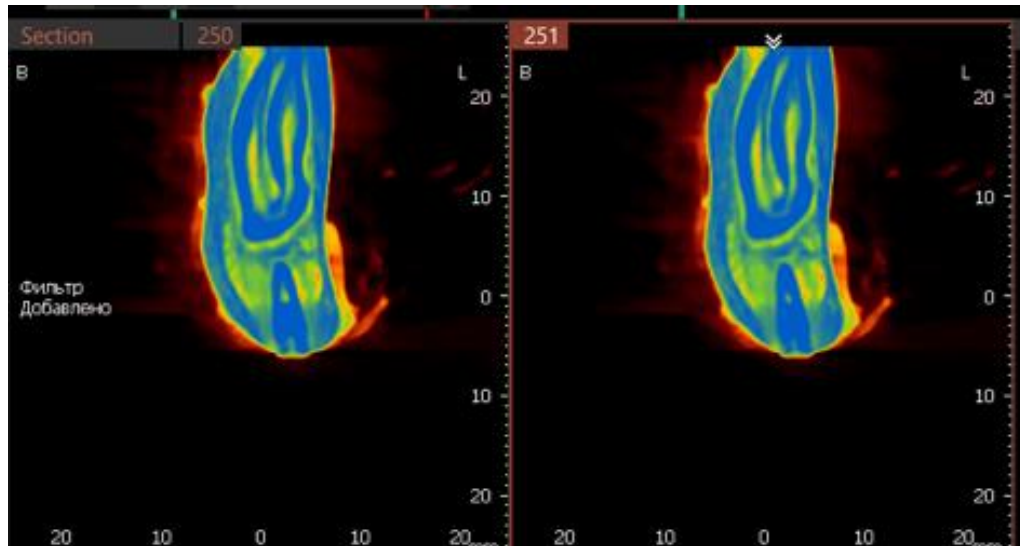


Рисунок 16 – томограмма на уровне имплантата 1.2, определяется неравномерная плотность костной ткани по периферии имплантата

Количественная оценка оптической плотности костной ткани в зоне имплантата 1.2 выявила выраженные регионарные различия. В области крестальной кости, соответствующей корональной части имплантата, значения плотности варьировали от 2150 до 2310 HU, что отражает формирование относительно плотной опорной костной структуры (рис. 17).

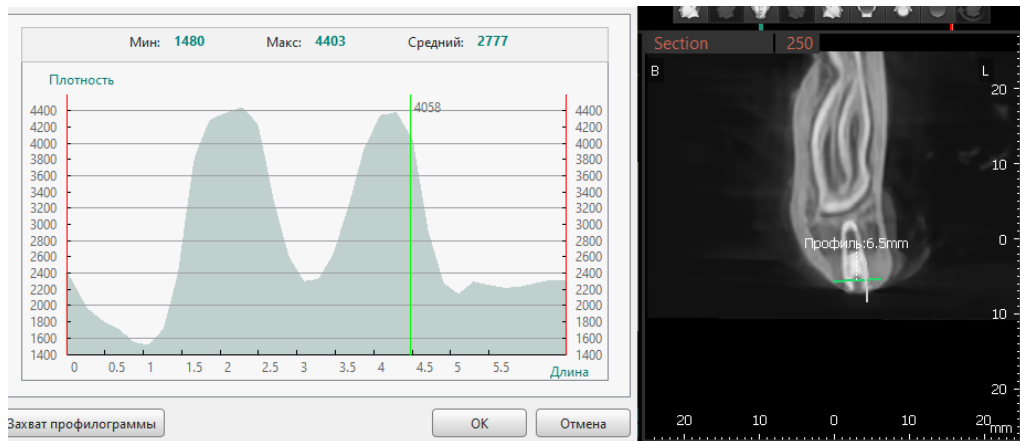


Рисунок 17 – Томограмма имплантата 1.2 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне крестальной кости

В средней трети имплантата показатели оптической плотности были ниже и составляли 1150–1500 HU, что может быть связано с активными процессами костного ремоделирования в данной зоне (рис. 18).

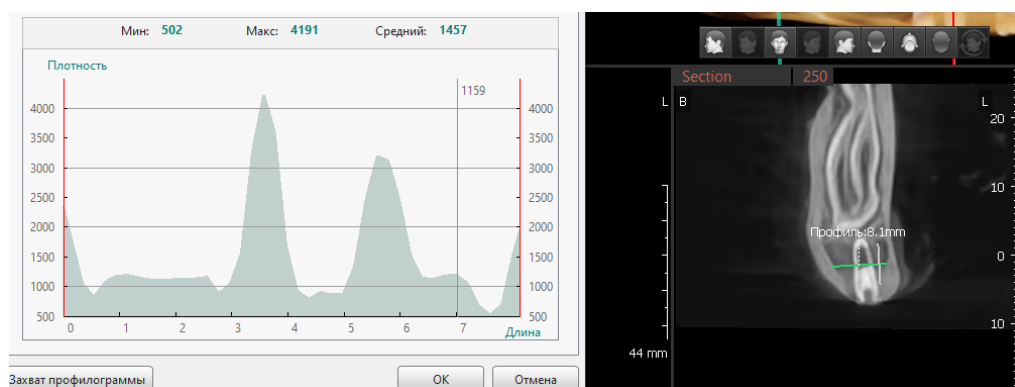


Рисунок 18 – томограмма имплантата 1.2 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне средней трети имплантата

В апикальной части имплантата регистрировались более высокие значения плотности костной ткани — 1530–1650 HU, указывающие на более выраженную минерализацию костного матрикса по сравнению со средней третью имплантата (рис. 19).

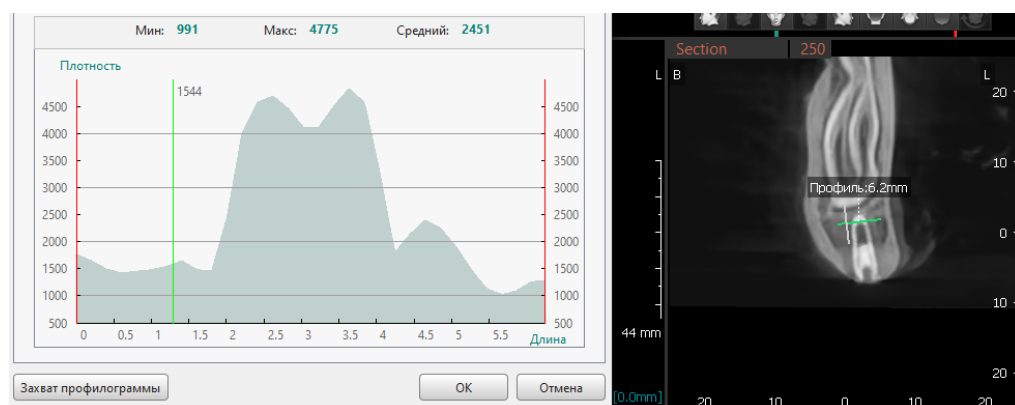


Рисунок 19 – томограмма имплантата 1.1 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне апикальной части имплантата

Имплантат 1.3 (2 опытный образец, животное №1)

По данным рентгенологического исследования определяется чёткая тень имплантата с высокими и стабильными показателями собственной оптической плотности, находящимися в пределах 4500–5000 HU на всех этапах наблюдения. Костная ткань, окружающая имплантационное ложе, характеризуется выраженной неоднородностью структуры и вариабельностью плотностных показателей по периметру контакта с имплантатом (рис. 20, 21, 22, 23).

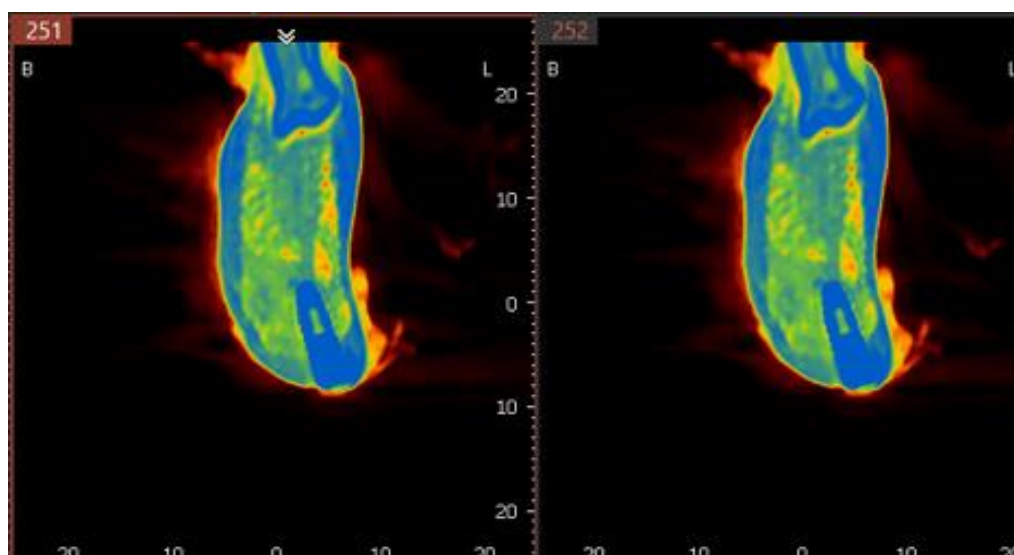


Рисунок 20 – Томограмма на уровне имплантата 1.3, определяется неравномерная плотность костной ткани по периферии имплантата

Количественный анализ оптической плотности костной ткани в зоне имплантата 1.3 выявил регионарные различия минерализации. В крестальной области регистрировались значения плотности в диапазоне 2010–2100 HU, что указывает на формирование опорной костной ткани умеренной плотности в корональной части имплантата (рис. 21).



Рисунок 21 – томограмма имплантата 1.3 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне крестальной кости

В средней трети имплантата показатели оптической плотности снижались до 1350–1450 HU, отражая продолжающиеся процессы костного ремоделирования (рис. 22).

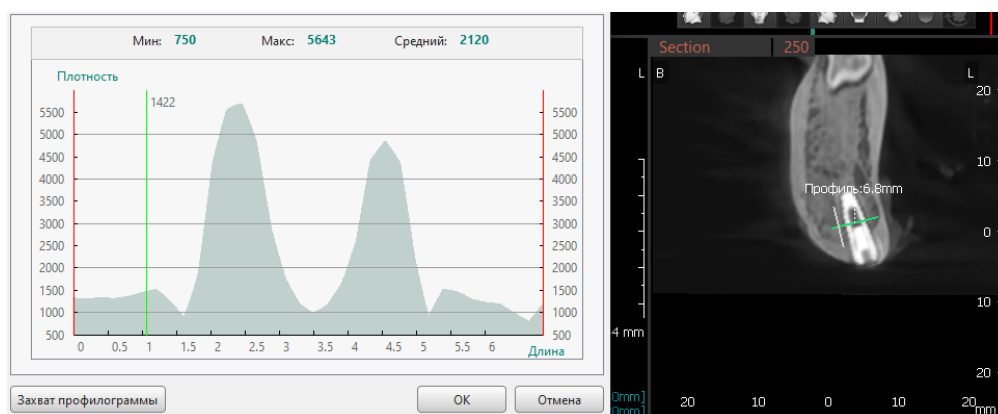


Рисунок 22 – томограмма имплантата 1.3 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне средней трети имплантата

В апикальной зоне имплантата, напротив, определялись более высокие значения плотности костной ткани — 1850–1920 HU, что свидетельствует о более выраженной минерализации и формировании зрелой костной структуры в данной области (рис. 23).

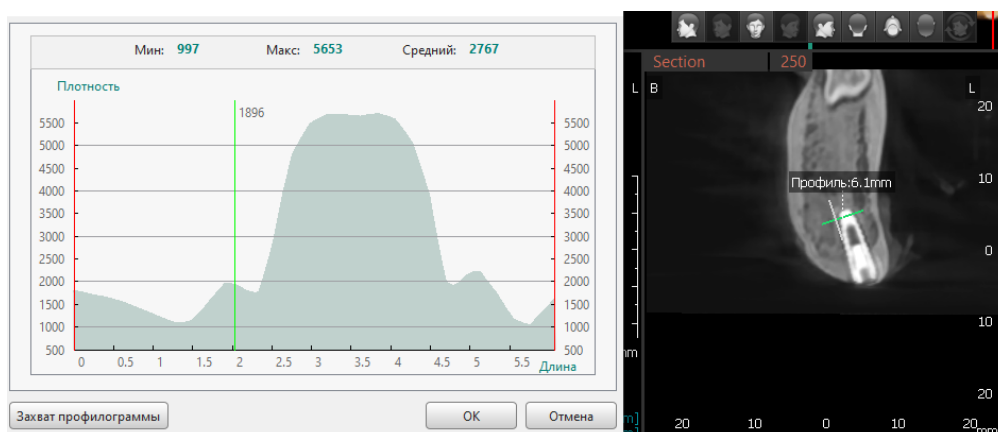


Рисунок 23 – томограмма имплантата 1.3 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне апикальной части имплантата

Имплантат 2.1 (1 опытный образец, животное №2)

Рентгенологическое исследование выявляет чётко контурированную тень имплантата с устойчиво высокими значениями собственной оптической плотности, сохраняющимися в диапазоне 4500–5000 HU на протяжении всего периода наблюдения. Костная ткань, окружающая имплантационное ложе, отличается выраженной неоднородностью структуры и плотностных характеристик по периферии контакта с имплантатом (рис. 24, 25, 26).

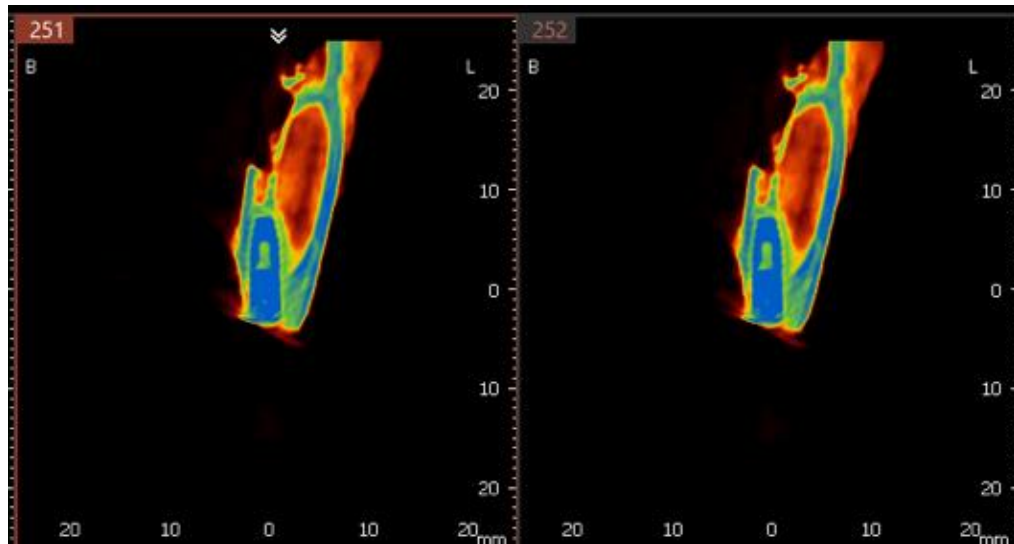


Рисунок 24 – Томограмма на уровне имплантата 2.1, определяется неравномерная плотность костной ткани по периферии имплантата

Анализ показателей оптической плотности костной ткани в зоне имплантата 2.1 продемонстрировал последовательное снижение значений от коронарной к апикальной части. В области крестальной кости регистрировались показатели в пределах 1650–1810 HU, что свидетельствует о формировании костной ткани умеренной плотности в коронарной зоне (рис. 25).

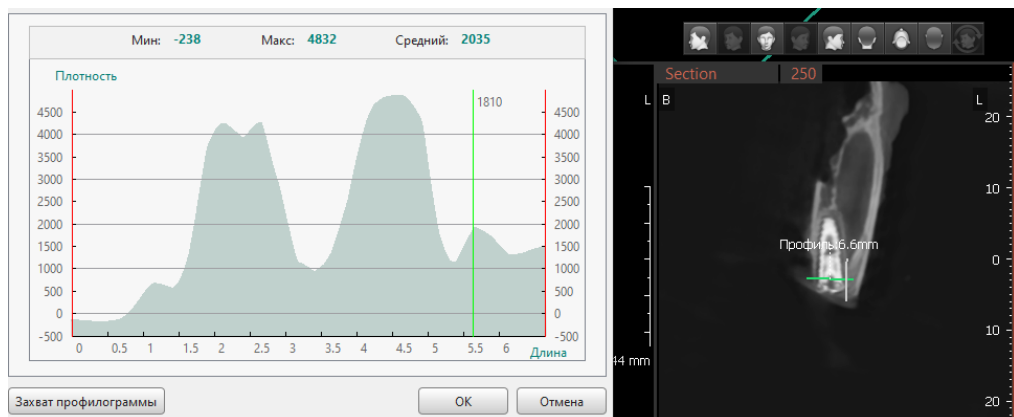


Рисунок 25 – томограмма имплантата 2.1 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне крестальной кости

В средней трети имплантата значения плотности снижались до 1210–1390 HU, отражая активные процессы ремоделирования костного матрикса (рис. 26).

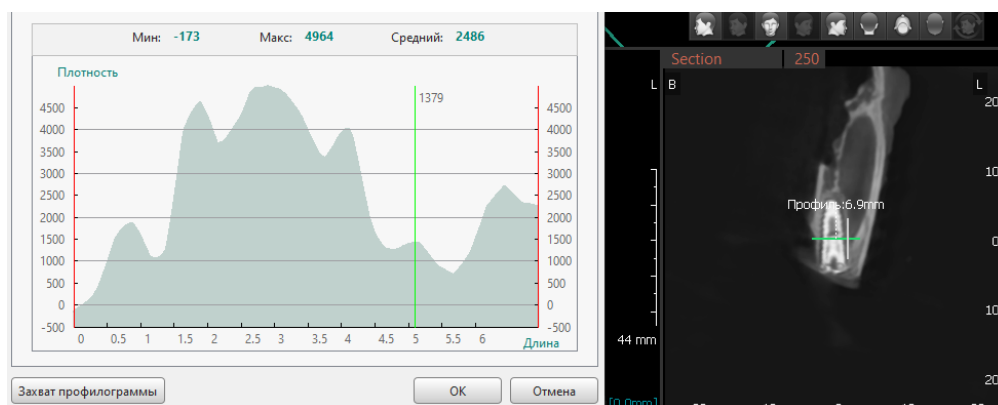


Рисунок 26 – томограмма имплантата 2.1 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне средней трети имплантата

Минимальные показатели оптической плотности отмечались в апикальной части имплантата и составляли 1140–1210 HU, что указывает на менее выраженную минерализацию костной ткани в данной зоне на момент исследования

Имплантат 2.2 (контрольный образец, животное №2)

При рентгенологическом исследовании определяется отчётливая тень имплантата с высокими и стабильными значениями собственной оптической плотности, сохраняющимися в диапазоне 4500–5000 HU на всех этапах наблюдения. Костная ткань, окружающая имплантационное ложе, характеризуется выраженной неоднородностью структуры и вариабельностью плотностных показателей по всей периферии контакта с имплантатом (рис. 27, 28, 29).

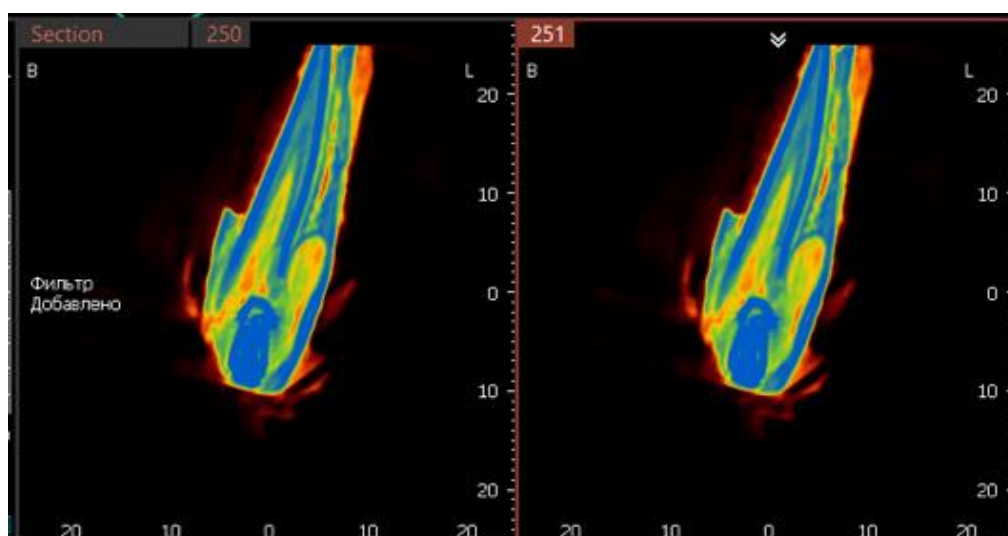


Рисунок 27 – Томограмма на уровне имплантата 2.2, определяется неравномерная плотность костной ткани по периферии имплантата

Количественный анализ плотности костной ткани в зоне имплантата 2.2 показал относительно сглаженное распределение значений между различными анатомическими уровнями. В крестальной области показатели оптической плотности составляли 1340–1390 HU, что отражает формирование костной ткани умеренной минерализации в корональной части имплантата. В средней трети имплантата значения плотности находились в пределах 1280–1360 HU, демонстрируя сопоставимый уровень минерализации костного матрикса (рис. 28).

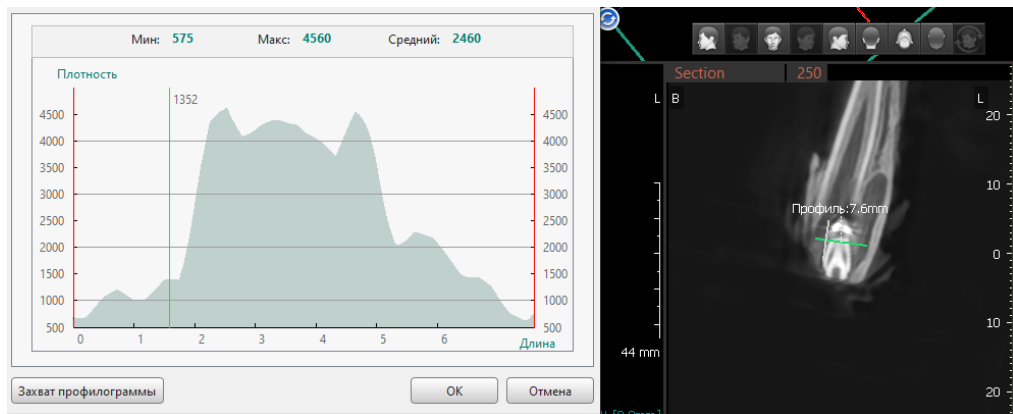


Рисунок 28 – Томограмма имплантата 2.2 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне средней трети имплантата

В апикальной зоне регистрировались несколько более низкие показатели — 1240–1280 HU, что может свидетельствовать о сохраняющихся процессах ремоделирования костной ткани и менее выраженной степени её минерализации в данной области (рис. 29).

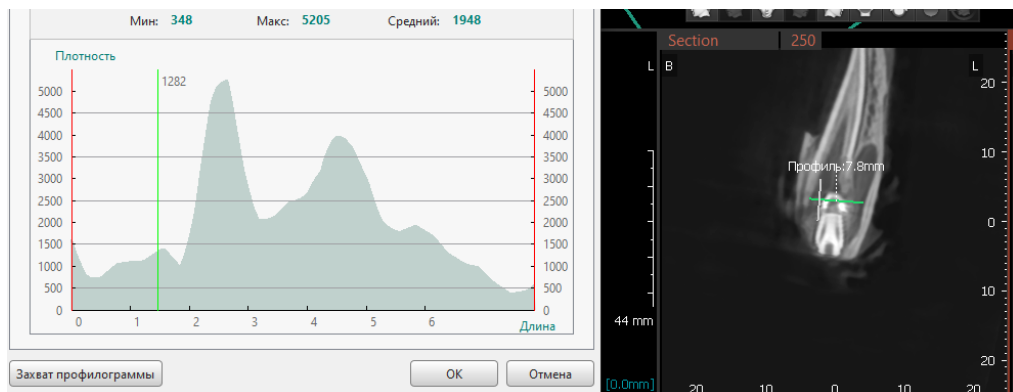


Рисунок 29 – Томограмма имплантата 2.2 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне апикальной части имплантата

Имплантат 2.3 (2 опытный образец, животное №2)

По данным рентгенологического исследования визуализируется чёткая тень имплантата с устойчиво высокими показателями собственной оптической плотности, сохраняющимися в диапазоне 4500–5000 HU на всех этапах наблюдения (рис. 30, 31, 32, 33).

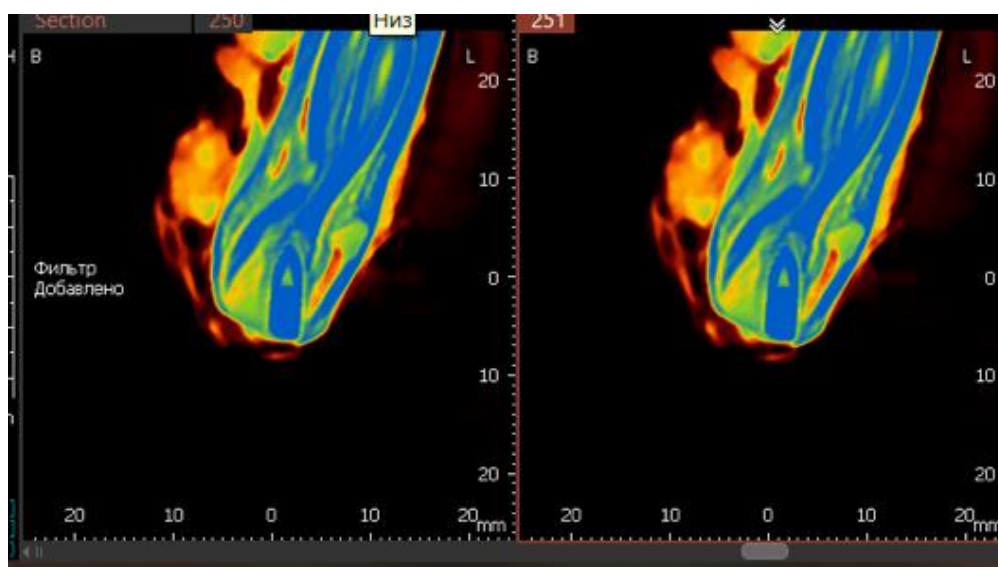


Рисунок 30 – Томограмма на уровне имплантата 2.3, определяется неравномерная плотность костной ткани по периферии имплантата

По периферии имплантат плотность костной ткани соответствовала значениям 1800–1960 HU (рис. 31).

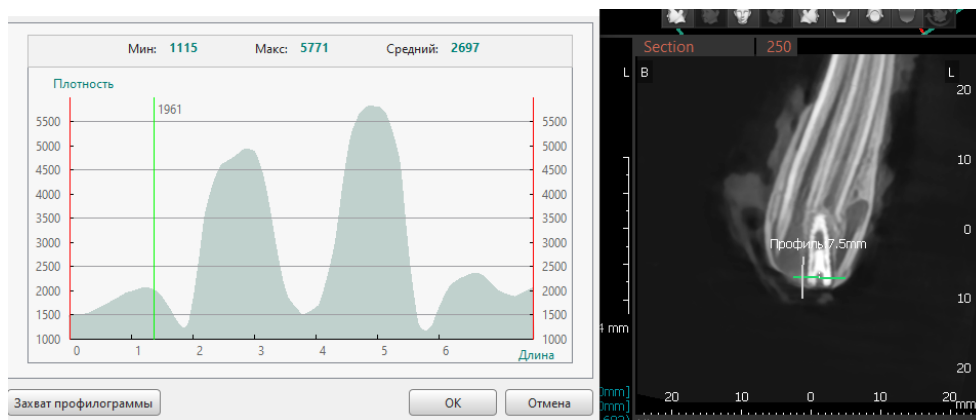


Рисунок 31 – Томограмма имплантата 2.3 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне крестальной кости

В середине имплантата 2.3. регистрировались значения плотности костной ткани в диапазоне 1330–1400 HU (рис. 32).

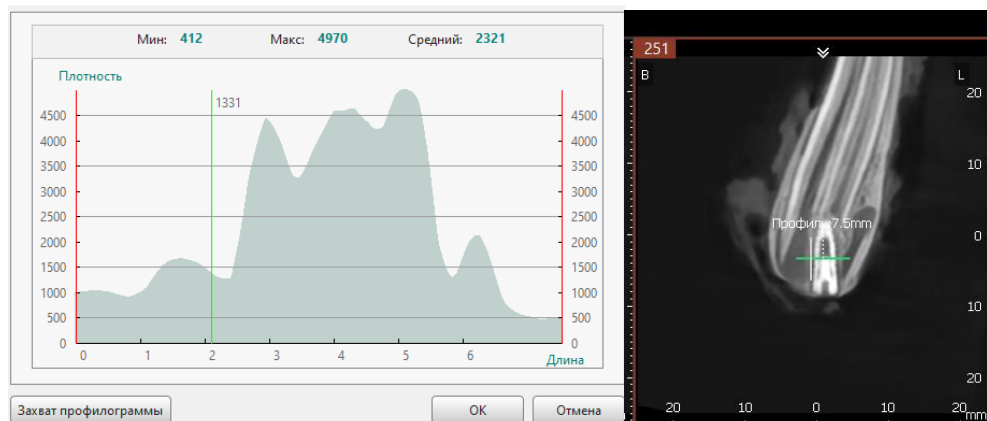


Рисунок 32 – Томограмма имплантата 2.3 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне средней трети имплантата

В апикальной области имплантата отмечался наиболее широкий диапазон показателей плотности — от 1280 до 2130 HU, что может отражать гетерогенность минерализации костного матрикса и различную степень зрелости костной ткани в данной зоне (рис. 33).

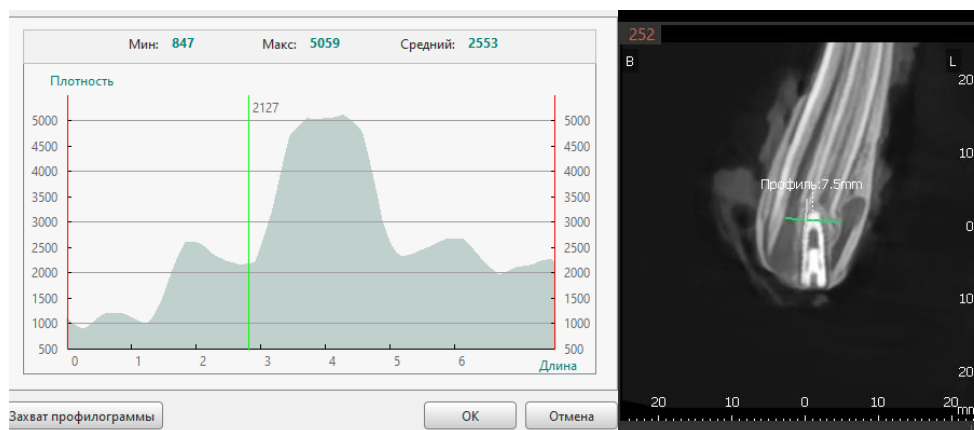


Рисунок 33 – Томограмма имплантата 2.3 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне апикальной части имплантата

Результаты рентгенологического исследования через 5 месяцев после операции.

Имплантат 3.1 (1 опытный образец, животное №3)

При рентгенологическом исследовании отчётливо визуализируется тень имплантата с высокими и стабильными значениями собственной оптической плотности, находящимися в диапазоне 4500–5000 HU на всех этапах оценки. По периферии имплантационного ложа определяется узкая зона просветления с неровными, нечеткими контурами, максимальной толщиной до 0,6 мм, что может свидетельствовать о наличии зоны адаптационного костного ремоделирования. Структура костной ткани, окружающей имплантат, характеризуется выраженной неоднородностью, что отражает различную степень минерализации и созревания костного матрикса (рис. 34, 35).

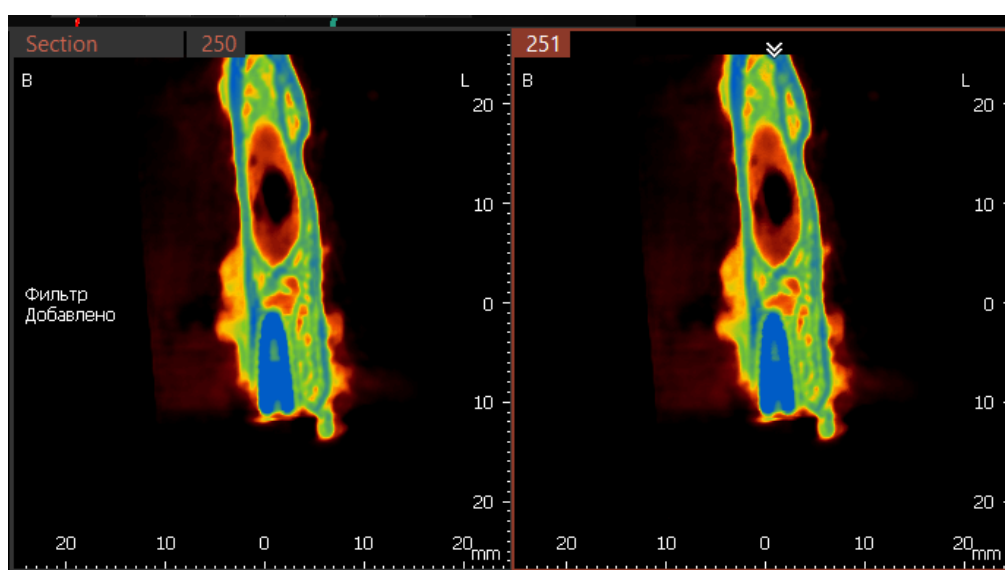


Рисунок 34 – Томограмма на уровне имплантата 3.1, определяется неравномерная плотность костной ткани по периферии имплантата

Анализ оптической плотности костной ткани в зоне имплантата 3.1 выявил чётко выраженную зональную дифференциацию. В крестальной области, соответствующей корональной части имплантата, показатели плотности находились в пределах 2370–2410 HU, что указывает на формирование плотной, хорошо минерализованной костной ткани. В средней трети имплантата значения оптической плотности составляли 1500–1660 HU, что соответствует стадии активного костного ремоделирования (рис. 35).

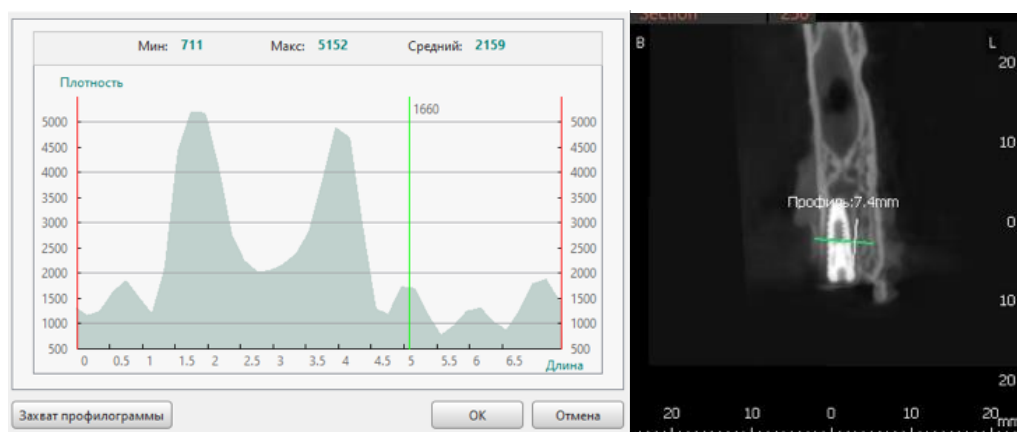


Рисунок 35 – Томограмма имплантата 3.1 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне средней трети имплантата

В апикальной зоне имплантата регистрировались наименьшие показатели плотности — 1069–1176 HU, что может отражать менее зрелую костную ткань и продолжающиеся процессы остеогенеза в данной области.

Имплантат 3.2 (контрольный образец, животное №3)

На компьютерной томографии визуализируется чёткая тень имплантата с устойчиво высокими показателями собственной рентгенологической плотности, находящимися в диапазоне 4500–5000 HU на всех этапах исследования. По периферии имплантационного ложа определяется узкая зона рентгенологического просветления с неровными, неравномерными контурами, максимальной шириной до 0,6 мм, что может отражать зону функциональной перестройки костной ткани в процессе остеоинтеграции. Окружающая имплантат костная ткань характеризуется выраженной структурной неоднородностью, свидетельствующей о различной степени минерализации в отдельных участках (рис. 36, 37).

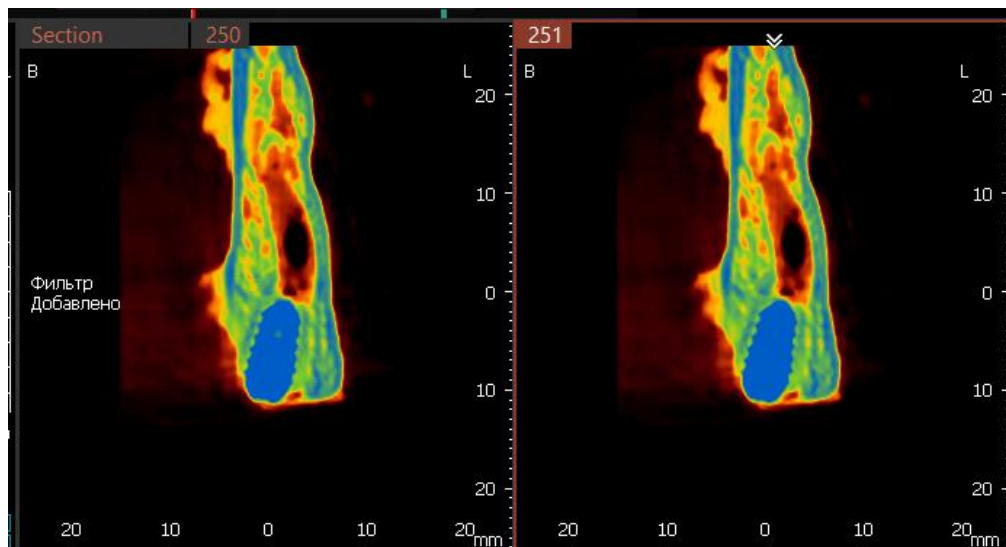


Рисунок 36 – Томограмма на уровне имплантата 3.2, определяется неравномерная плотность костной ткани по периферии имплантата

Количественный анализ оптической плотности костной ткани в области имплантата 3.2 выявил закономерную градацию показателей в зависимости от анатомической зоны. В крестальной области (корональная часть имплантата) значения плотности составляли 2370–2410 HU, что соответствует хорошо минерализованной костной ткани. В средней трети имплантата показатели снижались до 1450–1550 HU, отражая зону активного костного ремоделирования (рис. 37).

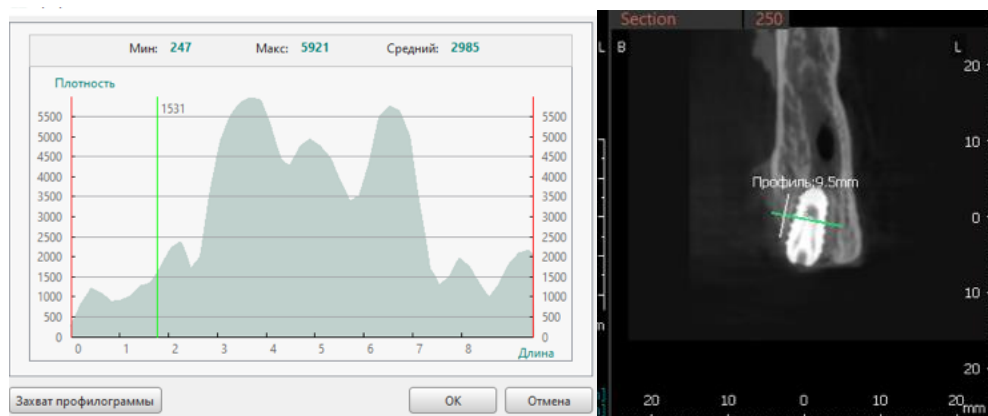


Рисунок 37 – Томограмма имплантата 3.2 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне средней трети имплантата

В апикальной части имплантата регистрировались наименьшие значения плотности — 1069–1176 HU, что может указывать на наличие менее зрелой костной ткани и продолжающиеся процессы остеогенеза в данной области.

Имплантат 3.3 (2 опытный образец, животное №3)

При рентгенологическом исследовании определяется чёткая тень имплантата с высокими и стабильными значениями собственной рентгенологической плотности в диапазоне 4500–5000 HU на всех этапах наблюдения. По периферии имплантационного ложа визуализируется тонкая зона рентгенологического просветления с неровным, местами прерывистым контуром, максимальной шириной до 0,6 мм, что может соответствовать зоне адаптационного ремоделирования костной ткани. Окружающая имплантат костная ткань характеризуется выраженной неоднородностью структуры, отражающей различные стадии минерализации и созревания костного матрикса (рис. 38, 39).

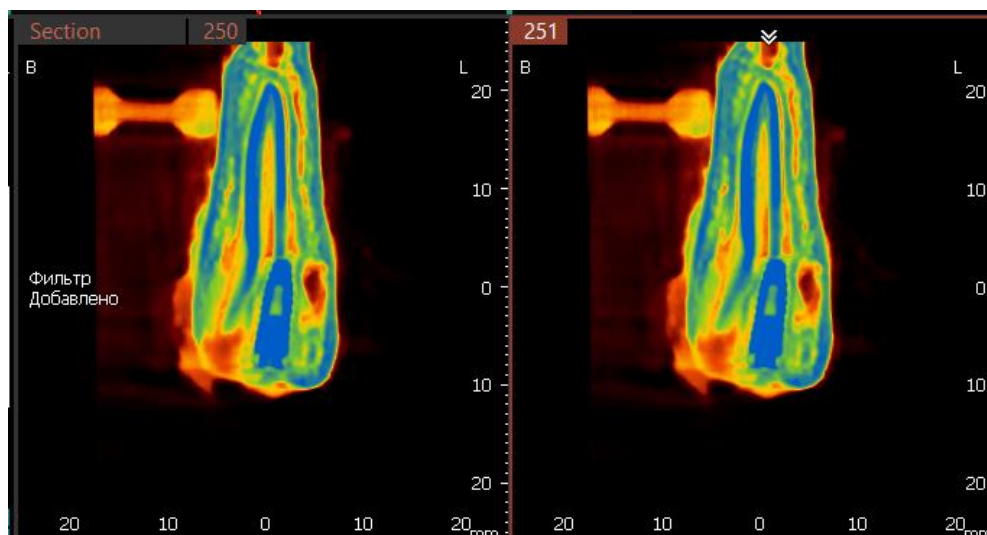


Рисунок 38 – Томограмма на уровне имплантата 3.3, определяется неравномерная плотность костной ткани по периферии имплантата

Количественная оценка оптической плотности костной ткани в зоне имплантата 3.3 выявила выраженную зональную дифференциацию. В крестальной области, соответствующей корональной части имплантата, показатели плотности составляли 2370–2410 HU, что свидетельствует о формировании плотной, высокоминерализованной костной ткани. В средней трети имплантата значения оптической плотности находились в диапазоне 1300–1450 HU, что указывает на продолжающиеся процессы костного ремоделирования (рис. 39).

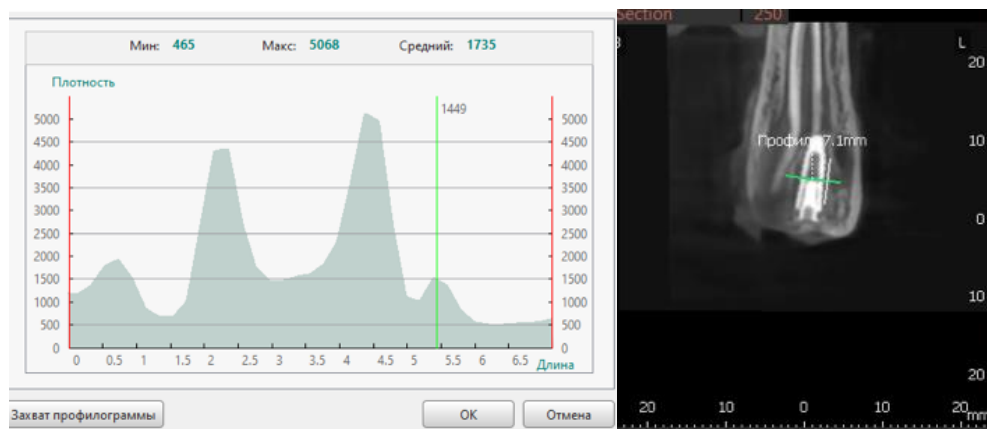


Рисунок 39 – Томограмма имплантата 3.3 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне средней трети имплантата

В апикальной части имплантата регистрировались минимальные показатели плотности — 1070–1150 HU, что может отражать наличие менее зрелой костной ткани и активные остеогенетические процессы в данной зоне.

Имплантат 4.1 (1 опытный образец, животное №4)

На рентгенологическом изображении отчётливо визуализируется тень имплантата с высокими и стабильными значениями собственной рентгенологической плотности, находящимися в диапазоне 4500–5000 HU на протяжении всех этапов исследования. По периферии имплантационного ложа определяется узкая полоса рентгенологического просветления с неровным, местами нечетким контуром, максимальной толщиной до 0,6 мм, что может указывать на зону функциональной адаптации и перестройки костной ткани в ответ на имплантацию. Костная ткань, окружающая имплантат, характеризуется выраженной неоднородностью структуры, отражающей различную степень минерализации в отдельных участках (рис. 40, 41).

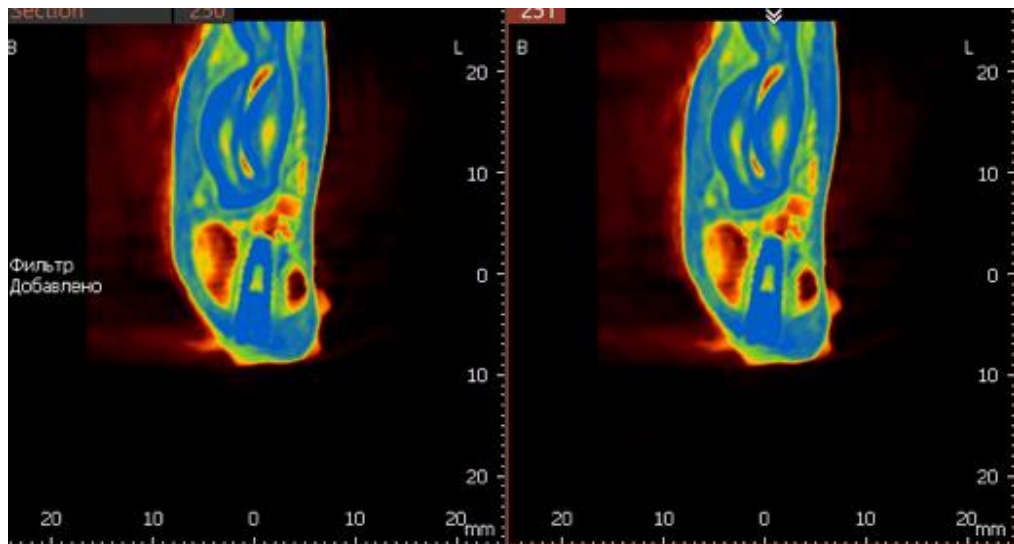


Рисунок 40 – Томограмма на уровне имплантата 4.1, определяется неравномерная плотность костной ткани по периферии имплантата

Количественный анализ оптической плотности костной ткани в зоне имплантата 4.1 выявил выраженную зональную вариабельность показателей. В крестальной области, соответствующей коронарной части имплантата, значения плотности составляли 2500–2700 HU, что свидетельствует о формировании плотной, высокоминерализованной костной ткани (рис. 41).

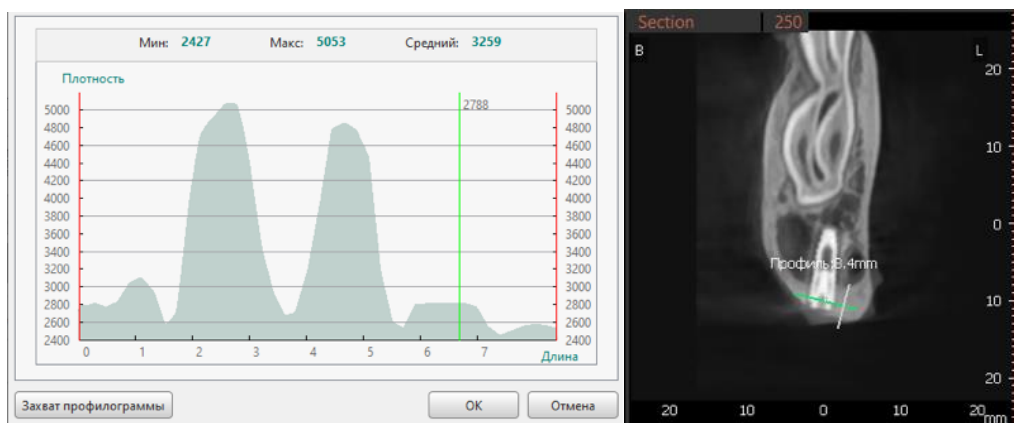


Рисунок 41 – Томограмма имплантата 4.1 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне крестальной кости

В средней трети имплантата показатели оптической плотности снижались до 900–1200 HU, что может отражать зону активного костного ремоделирования и формирования новой кости. В апикальной части имплантата регистрировался широкий диапазон значений плотности — от 500

до 1700 HU, что указывает на выраженную неоднородность костной структуры и различные стадии остеогенеза в данной области.

Имплантат 4.2 (контрольный образец, животное №4)

При рентгенологическом исследовании визуализируется чёткая тень имплантата с устойчиво высокими показателями собственной рентгенологической плотности, находящимися в диапазоне 4500–5000 HU во всех сериях исследований. Окружающая имплантат костная ткань по периферии имплантационного ложа характеризуется выраженной неоднородностью структуры, что отражает различную степень минерализации и ремоделирования костного матрикса (рис. 42, 43, 44, 45).

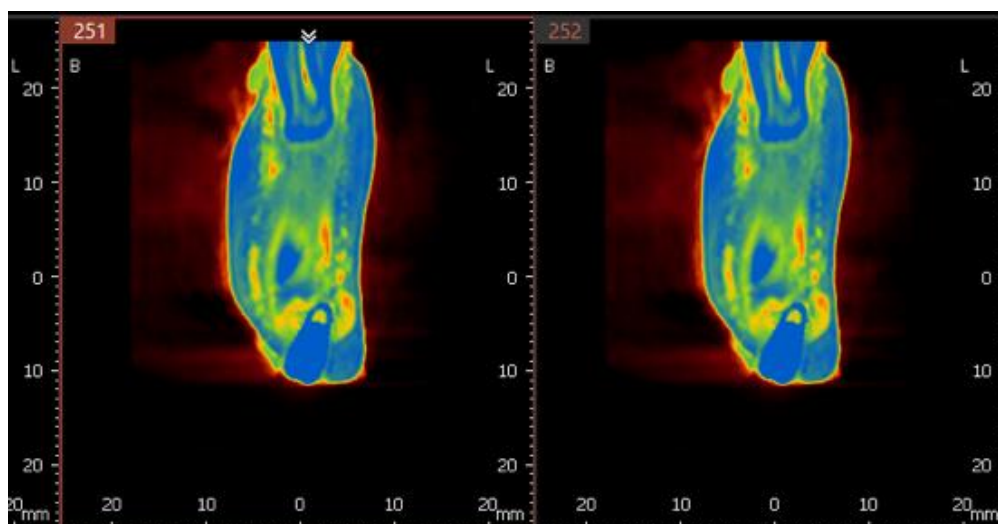


Рисунок 42 – томограмма на уровне имплантата 4.2, определяется неравномерная плотность костной ткани по периферии имплантата

Количественная оценка оптической плотности костной ткани в зоне имплантата 4.2 выявила выраженную зональную дифференциацию показателей. В крестальной области, соответствующей корональной части имплантата, значения плотности находились в диапазоне 1800–2200 HU, что указывает на формирование относительно плотной костной ткани с признаками минерализации (рис. 43).

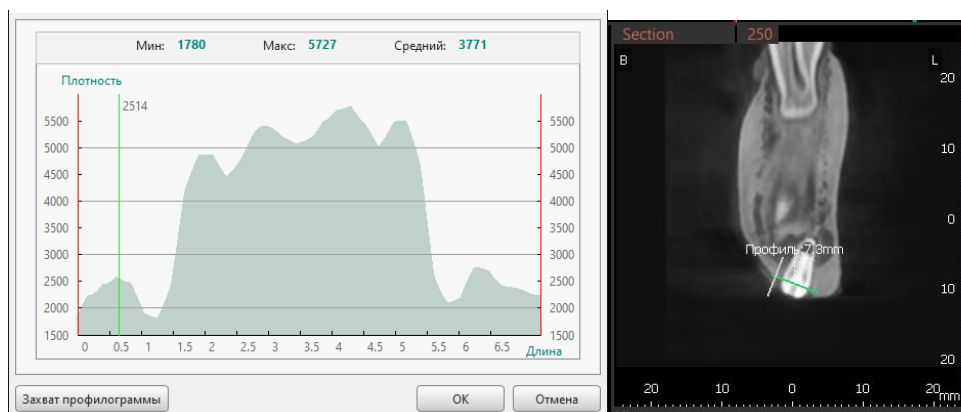


Рисунок 43 – Томограмма имплантата 4.2 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне крестальной кости

В средней трети имплантата показатели плотности снижались до 900–980 HU, что может свидетельствовать о продолжающихся процессах костного ремоделирования (рис. 44).

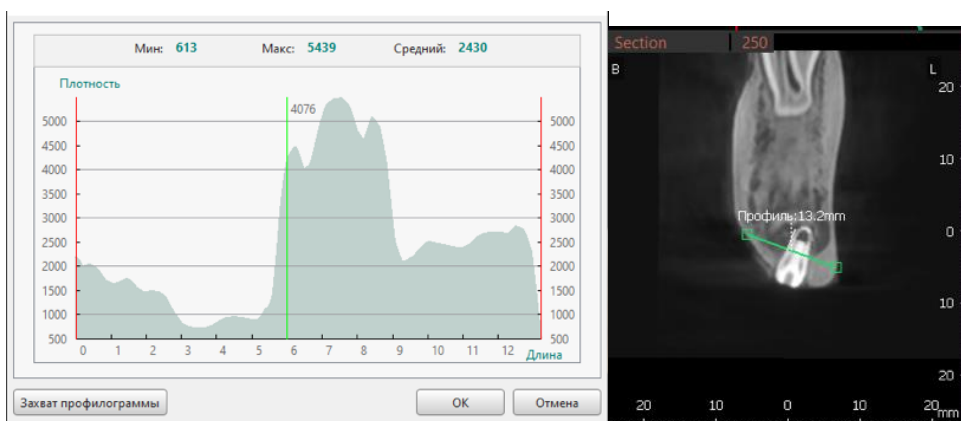


Рисунок 44 – Томограмма имплантата 4.2 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне средней трети имплантата

В апикальной зоне имплантата регистрировались значения плотности в пределах 700–1000 HU, отражающие наличие менее зрелой костной ткани и активные остеогенетические процессы в данной области (рис. 45).



Рисунок 45 – томограмма имплантата 4.2 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне апикальной части имплантата

Имплантат 4.3 (2 опытный образец, животное №4)

При рентгенологическом обследовании чётко визуализируется тень имплантата с высокой собственной рентгенологической плотностью, стабильно находящейся в диапазоне 4500–5000 HU на всех этапах исследования. Костная ткань, окружающая имплантационное ложе, характеризуется структурной неоднородностью, что отражает различную степень минерализации и активность процессов костного ремоделирования в периимплантатной зоне (рис. 46, 47, 48, 49).

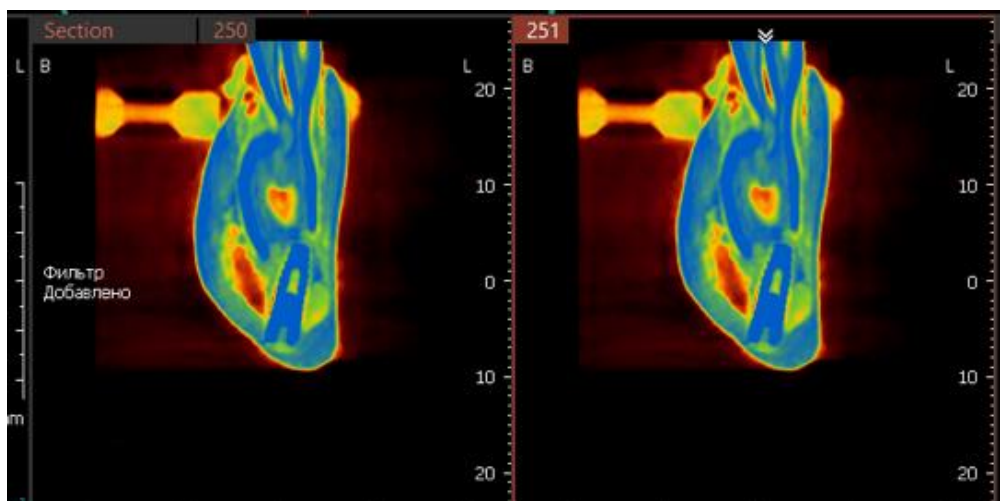


Рисунок 46 – Томограмма на уровне имплантата 4.3, определяется неравномерная плотность костной ткани по периферии имплантата

Количественный анализ плотности костной ткани в области имплантата 4.3 выявил выраженную градиентность показателей в зависимости от уровня

измерения. В крестальной зоне, соответствующей корональной части имплантата, значения плотности составляли 2100–2300 НУ, что свидетельствует о формировании достаточно плотной, минерализованной костной ткани (рис. 47).

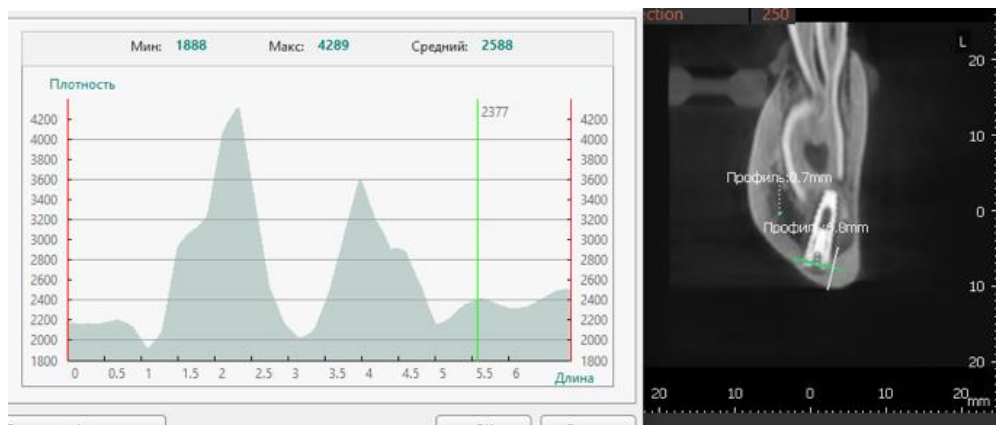


Рисунок 47 – Томограмма имплантата 4.3 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне крестальной кости

В средней трети имплантата показатели варьировали в пределах 1100–1500 НУ, что может указывать на сочетание участков зрелой и формирующейся костной ткани (рис. 48).

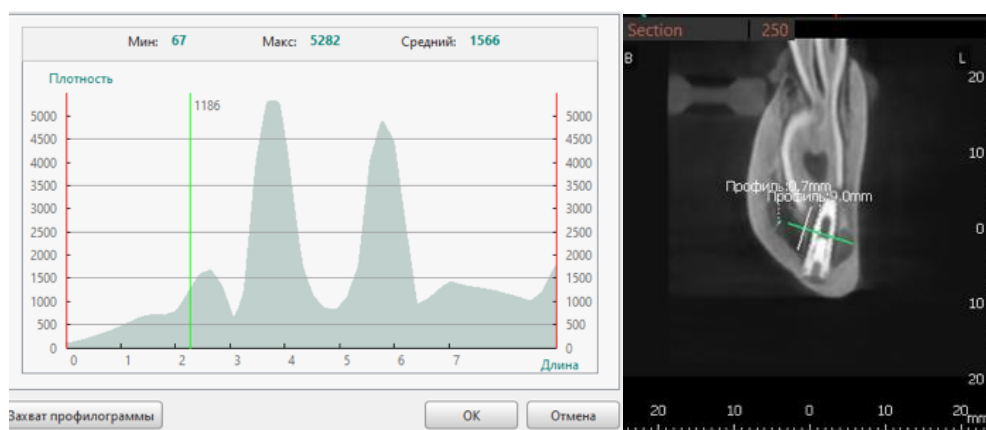


Рисунок 48 – Томограмма имплантата 4.3 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне средней трети имплантата

В апикальной области имплантата плотность костной ткани достигала 1400–1700 НУ, отражая более выраженные процессы минерализации по сравнению со средней третью и подтверждая активное течение остеогенеза в данной зоне (рис. 49).



Рисунок 49 – Томограмма имплантата 4.3 с измерением оптической плотности костной ткани на уровне апикальной части имплантата

Общие показатели плотности костной ткани по результатам конусно-лучевой томографии экспериментальных животных представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Показатели плотности костной ткани по результатам конусно-лучевой томографии экспериментальных животных

3 месяца наблюдений							
Костная ткань		Имплантат, животное					
		1,1	2,1	3,1	1,2	2,2	3,2
Кортикальная		2370- 2410	2150- 2310	2010- 2100	1650- 1810	1340- 1500	1800- 1960
Губчатая	Середина	1450- 1500	1150- 1500	1350- 1450	1210- 1390	1280- 1360	1330- 1400
	Апекс	1070- 1180	1530- 1650	1850- 1920	1140- 1250	1240- 1280	1280- 2130
5 месяцев наблюдений							
Костная ткань		Имплантат, животное					
		1,3	2,3	3,3	1,4	2,4	3,4
Кортикальная		2370- 2410	1100- 1250	1300- 1400	2500- 2700	1800- 2200	2100- 2300
Губчатая	Середина	1500- 1660	1450- 1550	1300- 1450	900- 1200	900- 980	1100- 1500

	Апекс	900- 1100	1200- 1300	800- 1500	1000- 1700	700- 1000	1400- 1700
--	-------	--------------	---------------	--------------	---------------	--------------	---------------

Проведённое конусно-лучевое томографическое исследование показало, что во всех зонах имплантации отмечалось формирование костной ткани с чётко выраженной зональной дифференциацией плотности, характерной для процессов остеоинтеграции. На сроке 3 месяца оптическая плотность кристалльной кости в зоне опытных имплантатов с биоактивным покрытием составляла в среднем 2010–2410 HU, тогда как у контрольных имплантатов — 1340–2310 HU; в апикальной зоне значения варьировали от 1069–1920 HU в опытной группе и от 1140–1650 HU в контрольной. Через 5 месяцев наблюдений отмечалась тенденция к увеличению плотности кортикальной кости вокруг опытных имплантатов (до 2370–2700 HU) по сравнению с контрольными (1800–2300 HU), а также более выраженное созревание губчатой костной ткани в апикальной и средней трети имплантатов. Полученные данные свидетельствуют о более интенсивных процессах минерализации и ремоделирования костного матрикса в зоне имплантатов с биоактивным покрытием, что указывает на его положительное влияние на формирование костно-имплантатного контакта в динамике наблюдения.

4.2 Результаты гистологической и морфометрической оценки процессов остеоинтеграции

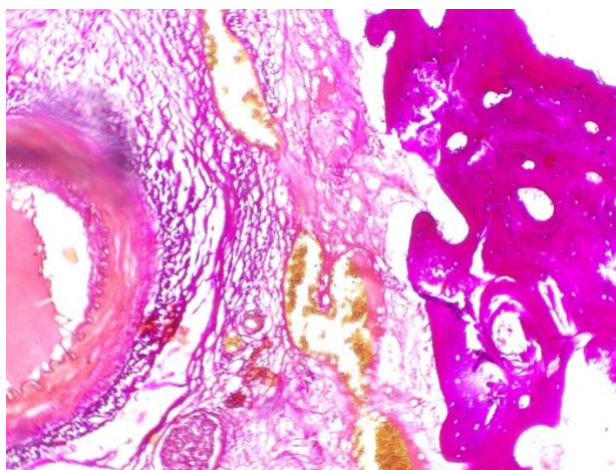
Гистологическая и морфометрическая оценка процессов остеоинтеграции через три месяца

Препараты контрольной группы (1.2, 2.2)

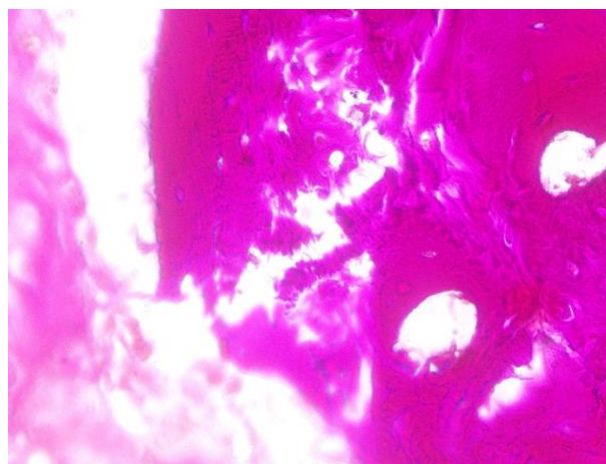
Гистологическое исследование образцов костной ткани, полученных от двух животных контрольной группы через 3 месяца после имплантации, продемонстрировало, что в зоне имплантационного ложа процессы

костеобразования находились преимущественно на ранних стадиях. В структуре новообразованной ткани преобладала грубоволокнистая костная ткань, которая сочеталась с участками рыхлой соединительной ткани и единичными фрагментами формирующейся пластинчатой кости (рис. 50, 51, 52).

В апикальной части ложа имплантата у животных контрольной группы грубоволокнистая костная ткань была представлена хаотично ориентированными пучками коллагеновых волокон, погружённых в аморфный матрикс. На поверхности данных волокон выявлялись остеобласты, что указывает на продолжающуюся активность остеогенеза (рис. 50). При изучении препаратов как при малом, так и при большом увеличении определялись отдельные очаги пластинчатой костной ткани, ассоциированные с формированием первичных остеонов вокруг сосудистых структур. В данных зонах коллагеновые волокна отличались более упорядоченным расположением, формируя плотные костные пластинки с лакунами, содержащими остеоциты, а также гаверсовыми каналами с элементами микроциркуляторного русла (рис. 50).



Увеличение 100х

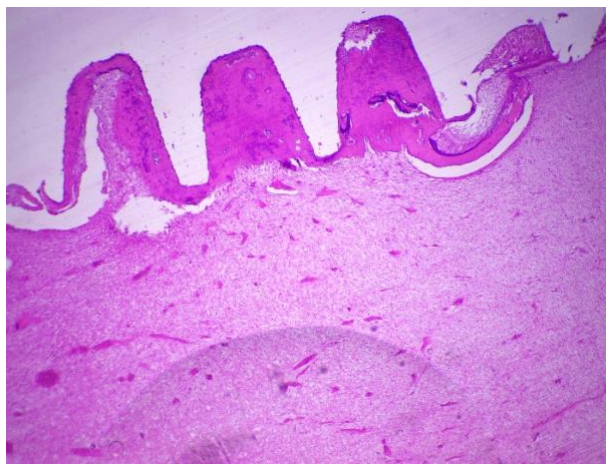


Увеличение 400х

Рисунок 50 – Фрагмент декальцинированного среза из апикальной части ложа от установленного имплантата у животных контрольной группы; окраска пикрофуксин по Ван-Гизону

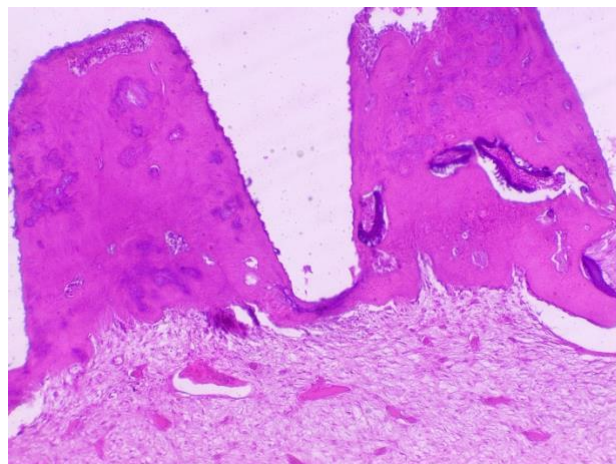
По всей протяжённости имплантационного ложа, в области контакта с витками имплантата, у животных контрольной группы выявлялась новообразованная костная ткань с наличием лакун, содержащих остециты, что свидетельствует о начале формирования костно-имплантатного контакта (рис. 51 А, Б, Д). Одновременно с этим в зонах вершушек и межвитковых пространств сохранялись участки грубоволокнистой костной ткани с дезорганизованным расположением коллагеновых волокон, на поверхности которых определялось значительное количество остеобластов, отражающих высокую метаболическую активность клеточного компонента (рис. 51 А, Г, Д).

Позади витков имплантата на всём протяжении имплантационного ложа преобладала грубоволокнистая соединительная ткань, характеризующаяся беспорядочной ориентацией коллагеновых волокон и обилием остеобластов. В отдельных зонах встречались небольшие участки рыхлой соединительной ткани, что указывает на неоднородность процессов тканевой дифференцировки (рис. 51 А, Б, В, Д, Е). В целом, морфологическая картина свидетельствует о неравномерном характере остеоинтеграционных процессов вдоль всего ложа имплантата в контрольной группе.



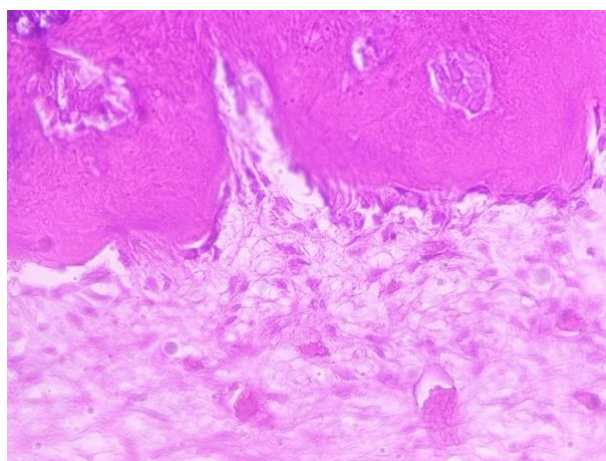
Увеличение 40х

А



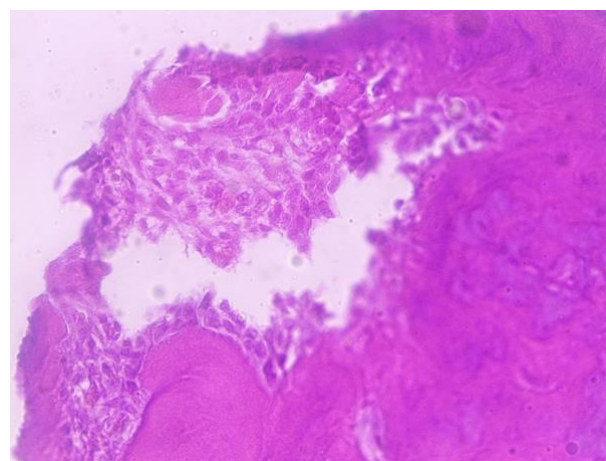
Увеличение 100х

Б



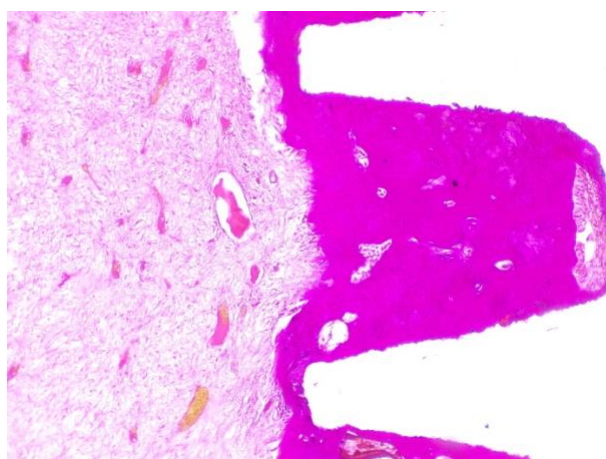
Увеличение 400х

В



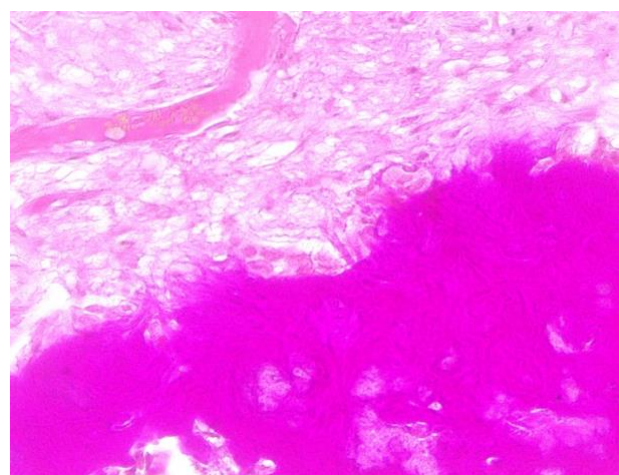
Увеличение 400х

Г



Увеличение 100х

Д

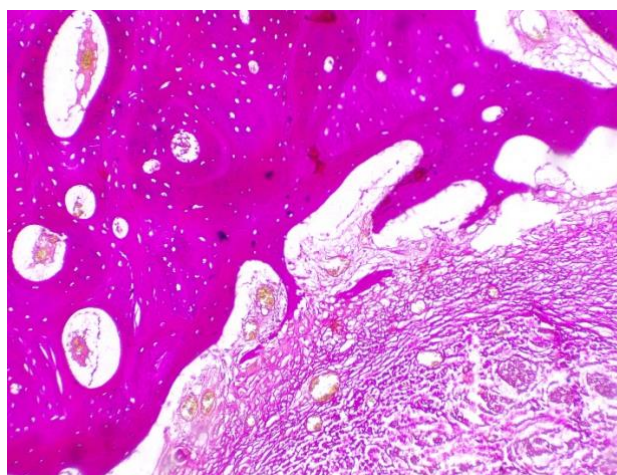


Увеличение 100х

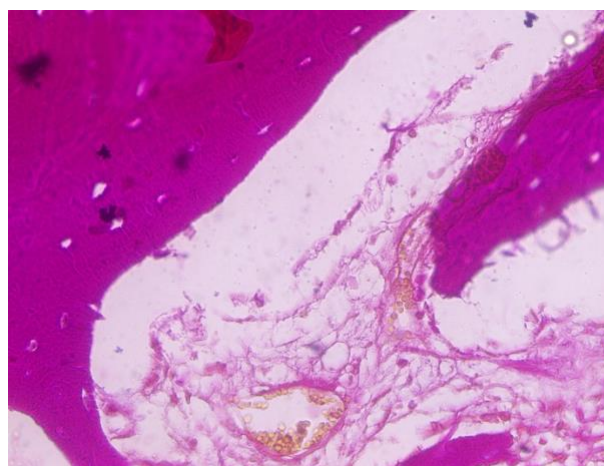
Е

Рисунок 51 – Фрагменты декальцинированного среза по ходу ложа от установленного имплантата у животных контрольной группы. Окраска А, Б, В, Г – гематоксилин-эозин; Д, Е - пикрофуксин по Ван-Гизону.

В пришеечной области имплантационного ложа вновь сформированная костная ткань более плотно прилегала к виткам дентального имплантата. Здесь визуализировались небольшие участки формирующейся пластинчатой костной ткани с компактно организованными коллагеновыми волокнами и лакунами, содержащими остециты. По периферии от данных зон располагалась грубоволокнистая соединительная ткань с высоким содержанием остеобластов, что отражает продолжающийся процесс перестройки и созревания костного матрикса (рис. 52).



Увеличение 100х



Увеличение 400х

Рисунок 52 – Фрагменты декальцинированного среза из пришеечной части ложа от установленного дентального имплантата у животных контрольной группы; окраска пикрофуксин по Ван-Гизону.

Морфометрическая характеристика костной ткани

Морфометрический анализ микропрепаратов, полученных из фрагментов челюстной кости экспериментальных животных, позволил количественно охарактеризовать соотношение различных типов костной и соединительной ткани, клеточный состав, а также параметры ангиогенеза в зоне имплантации.

Препарат 1.2

Результаты морфометрического анализа микропрепаратов данного фрагмента свидетельствуют о преобладании грубоволокнистой костной ткани в зоне исследования. Площадь пластинчатой костной ткани составила 24 848 мкм², что соответствовало 5 % от общей площади костного матрикса. Основную долю занимала грубоволокнистая костная ткань — 472 699 мкм² (92 %), тогда как площадь рыхлой соединительной ткани была минимальной и составляла 16 481 мкм² (3 %).

Суммарная площадь клеток остеобластического ряда в анализируемом фрагменте составила 14 826 мкм², что отражает сохраняющуюся клеточную активность в зоне ремоделирования. При количественном анализе клеточного состава установлено, что абсолютное число остеоцитов достигало 485 клеток, что соответствовало 97 % от общего числа клеточных элементов. Доля

остеобластов была незначительной и составляла 15 клеток (3 %), при этом остеокласты в исследуемом поле зрения не выявлялись.

Оценка ангиогенеза показала наличие сформированных сосудистых структур. Суммарная площадь сосудов составляла 3 380 мкм², общий периметр сосудистой стенки — 471 мкм, а средний диаметр сосудов — 66 мкм, что указывает на активные процессы васкуляризации в зоне костной перестройки.

Препарат 2.2

Морфометрическое исследование микропрепаратов данного образца также продемонстрировало доминирование грубоволокнистой костной ткани, однако с несколько большей долей пластинчатых структур по сравнению с предыдущим препаратом. Площадь пластинчатой костной ткани составила 25 073 мкм², что соответствовало 7 % от общей площади. Грубоволокнистая костная ткань занимала 298 670 мкм² (85 %), тогда как рыхлая соединительная ткань составляла 28 481 мкм² (8 %), что указывает на более выраженное присутствие соединительнотканного компонента.

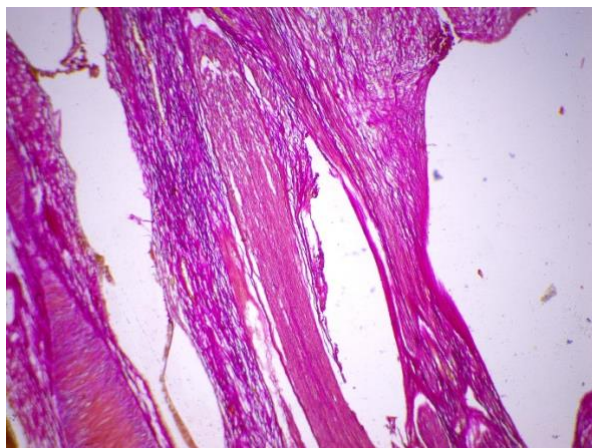
Площадь клеток остеобластического ряда в данном фрагменте составляла 13 724 мкм². При подсчёте абсолютных и относительных значений клеточного состава выявлено преобладание остеоцитов — 430 клеток (95 %). Количество остеобластов составляло 22 клетки (5 %), остеокласты, как и в предыдущем образце, обнаружены не были.

Морфометрическая оценка сосудистого компонента показала несколько меньшую степень ангиогенеза по сравнению с препаратом № 5346. Общая площадь сосудов составляла 2 697 мкм², суммарный периметр их стенок — 440 мкм, а средний диаметр сосудов — 59 мкм, что свидетельствует о формировании микроциркуляторного русла в условиях продолжающегося костного ремоделирования.

Препараты опытной группы (1.1, 1.3, 2.1, 2.3)

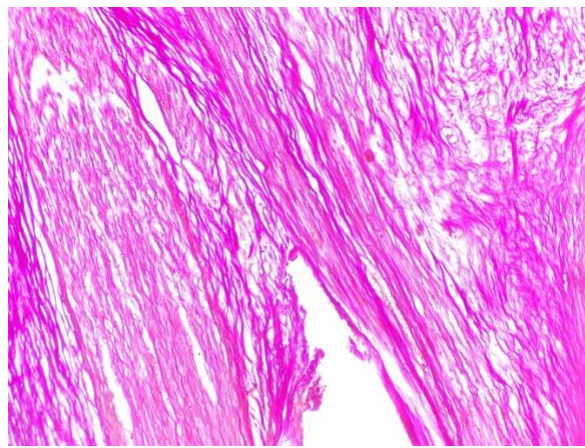
Гистологическое исследование костных образцов, полученных от двух животных опытной группы через три месяца после имплантации, показало, что в зоне имплантационного ложа процессы остеогенеза характеризуются формированием преимущественно грубоволокнистой костной ткани с включением участков пластинчатой кости и рыхлой соединительной ткани (рис. 53, 54, 55).

В апикальной области ложа дентального имплантата у животных опытной группы грубоволокнистая костная ткань представлена хаотично ориентированными в межклеточном матриксе пучками толстых коллагеновых волокон, на поверхности которых выявляются активные остеобласты, что указывает на продолжающиеся процессы костеобразования (рис. 53 А, Б). По периферии данных участков обнаруживаются небольшие очаги формирующейся пластинчатой костной ткани, отличающейся более упорядоченной архитектоникой: параллельно ориентированные коллагеновые волокна плотно упакованы, между ними располагаются лакуны с остеоцитами, а также формирующиеся гаверсовы каналы, содержащие элементы микроциркуляторного русла (рис. 53 В, Г, Д).



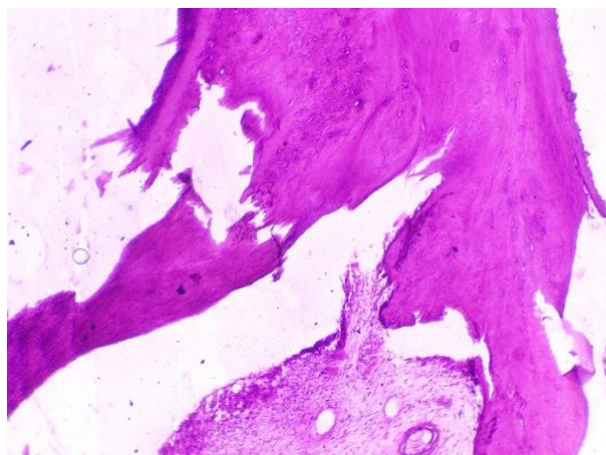
Увеличение 40х

А



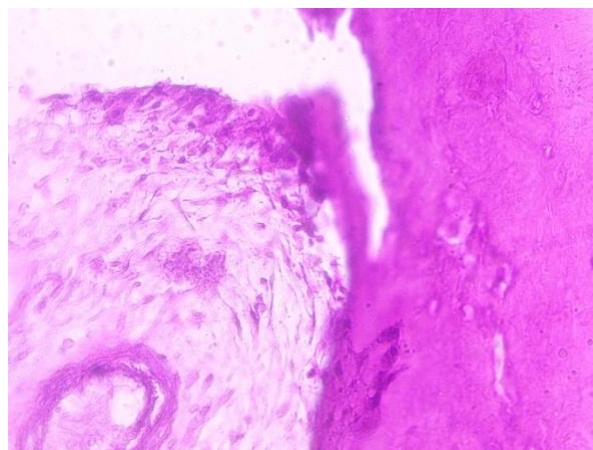
Увеличение 100х

Б



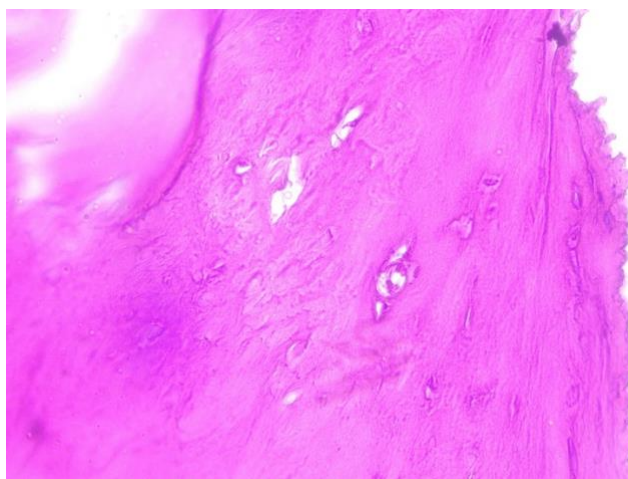
Увеличение 100х

В



Увеличение 400х

Г



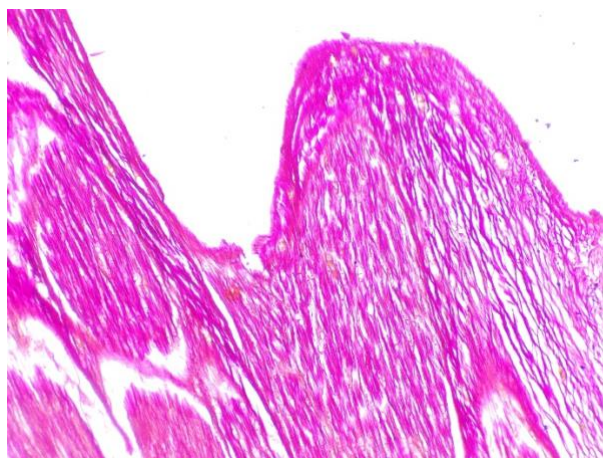
Увеличение 400х

Д

Рисунок 53 – Фрагмент декальцинированного среза из апикальной части ложа от установленного имплантата у животных опытной группы. Окраска В, Г, Д – гематоксилин-эозин; А, Б - пикрофуксин по Ван-Гизону.

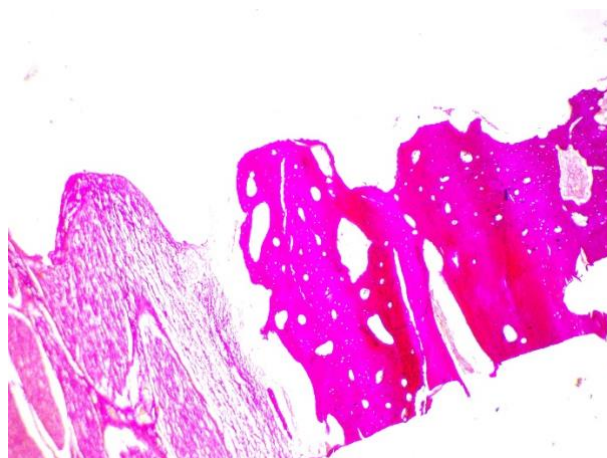
По ходу имплантационного ложа отмечается выраженная морфологическая неоднородность костной ткани. С одной стороны имплантата, преимущественно вблизи апикальной зоны, в области витков сохраняется грубоволокнистая костная ткань, тогда как по мере приближения к средней трети имплантата выявляются участки формирующейся пластинчатой кости с лакунами, содержащими остециты, что свидетельствует о постепенном созревании костного матрикса (рис. 54 А–Г).

С противоположной стороны имплантационного ложа грубоволокнистая костная ткань характеризуется более упорядоченным расположением коллагеновых волокон в матриксе, при этом на их поверхности визуализируются многочисленные остеобласты. Наряду с этим выявляются участки пластинчатой костной ткани с признаками формирования остеонов вокруг сосудов, сопровождающиеся уплотнением коллагеновых волокон, наличием многочисленных лакун с остеоцитами и сформированными гаверсовыми каналами, содержащими кровеносные сосуды (рис. 54 Д, Е).



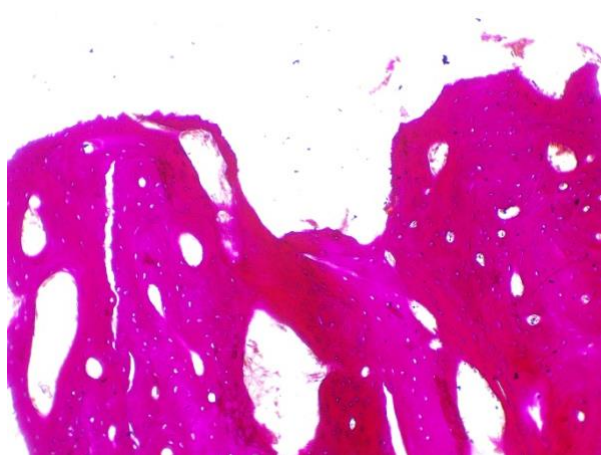
Увеличение 40х

А



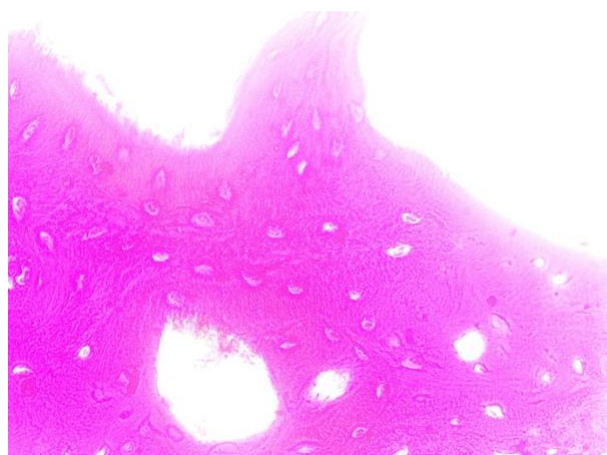
Увеличение 40х

Б



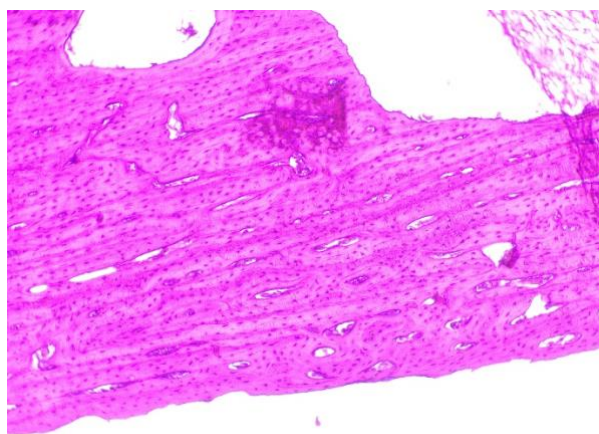
Увеличение 100х

В



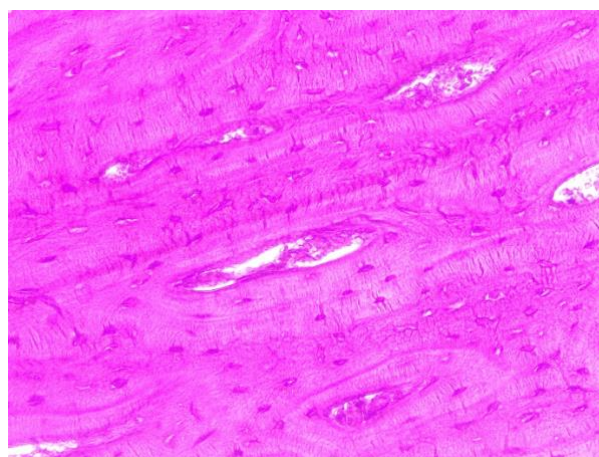
Увеличение 400х

Г



Увеличение 100х

Д



Увеличение 400х

Е

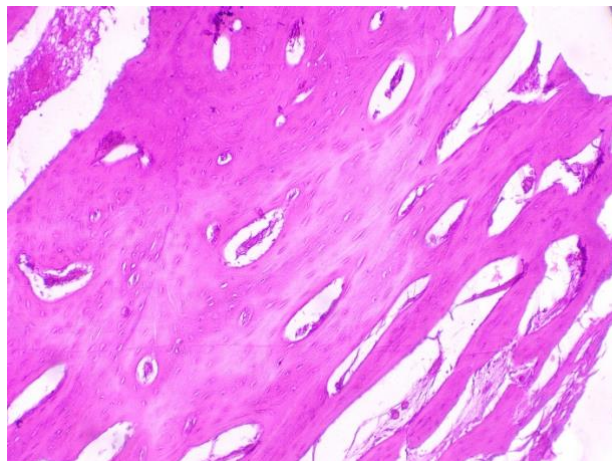
Рисунок 54 – Фрагменты декальцинированного среза по ходу ложа от установленного имплантата у животных опытной группы. Окраска Д, Е – гематоксилин-эозин; А, Б, В, Г - пикрофуксин по Ван-Гизону.

В пришеечной зоне имплантационного ложа у животных опытной группы с одной стороны имплантата вновь образованная костная ткань плотно прилежит к виткам имплантата, что указывает на формирование прямого контакта кость–имплантат. В данной области выявляются небольшие участки формирующейся пластинчатой костной ткани с плотно организованными коллагеновыми волокнами и лакунами, содержащими остециты. Между костными балками располагается грубоволокнистая соединительная ткань, обильно представленная остеобластическими клетками (рис. 55 А, Б).

Одновременно в отдельных зонах пришеечной части имплантационного ложа обнаруживаются участки новообразованной костной ткани, в структуре которой преобладает аморфное межклеточное вещество при относительно низком содержании коллагеновых волокон, что подтверждается жёлтым окрашиванием ткани при применении метода пикрофуксина по Ван-Гизону (рис. 55 В).

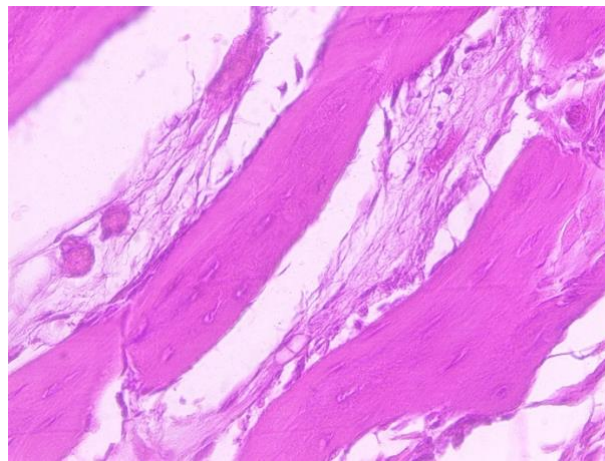
С противоположной стороны пришеечной области визуализируются формирующиеся костные балки с более упорядоченной организацией коллагеновых волокон, на поверхности которых сохраняется высокая

остеобластическая активность. Наряду с этим выявляются участки пластинчатой костной ткани с формирующимися остеонами вокруг сосудов, наличием гаверсовых каналов и многочисленных лакун, содержащих остециты, что свидетельствует о переходе костной ткани к более зрелым стадиям структурной организации (рис. 55 Г, Д).



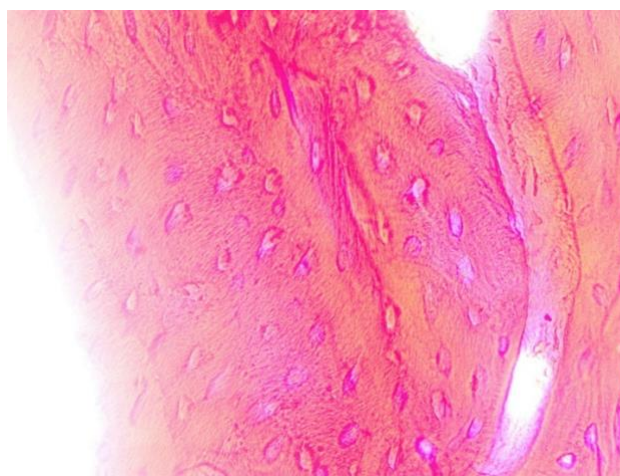
Увеличение 100х

А



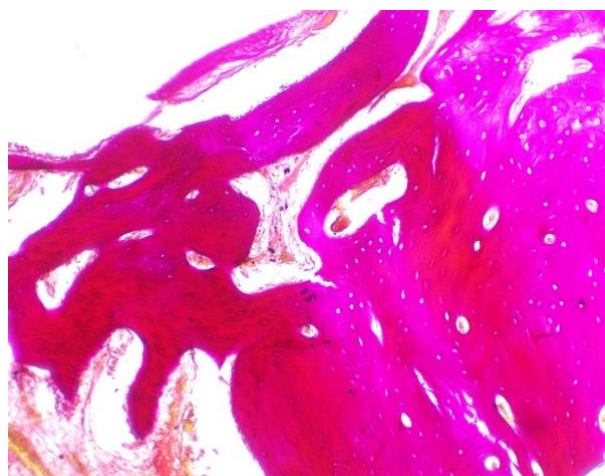
Увеличение 400х

Б



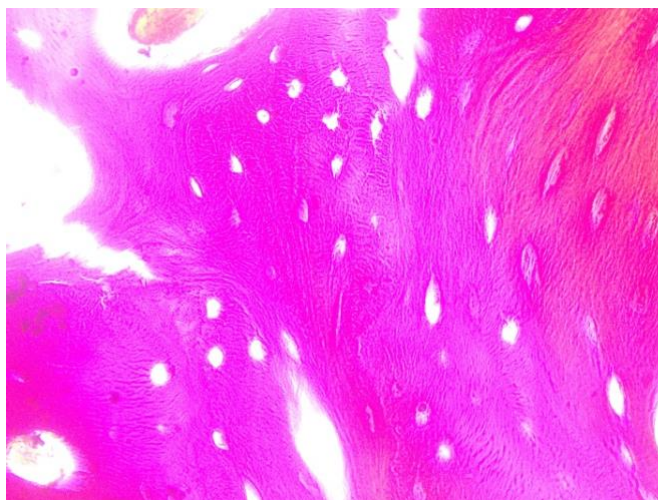
Увеличение 400х

В



Увеличение 100х

Г



Увеличение 400х

Д

Рисунок 55 – Фрагменты декальцинированного среза из пришеечной части ложа от установленного дентального имплантата у животных опытной группы. Окраска А, Б – гематоксилин-эозин; В, Г, Д, Е – пикрофуксин по Ван-Гизону.

Морфометрическая характеристика костной ткани

Препарат 1.1

В микропрепарате преобладающим компонентом новообразованной ткани являлась грубоволокнистая костная ткань, площадь которой составила 420 268 мкм², что соответствовало 90 % от общей исследуемой площади. Площадь пластинчатой костной ткани была существенно меньше и составляла 40 597 мкм² (9 %), тогда как рыхлая соединительная ткань занимала минимальную площадь — 6 431 мкм² (1 %). Площадь клеток остеобластического ряда достигала 16 548 мкм². При анализе клеточного состава выявлено 577 остеоцитов (92 %) и 48 остеобластов (8 %); остеокласты в исследуемом поле зрения не обнаружены. Морфометрическая оценка ангиогенеза показала, что суммарная площадь сосудов составляла 987 мкм², общий периметр сосудистой стенки — 265 мкм, а средний диаметр сосудов — 35 мкм.

Препарат 1.3

В микропрепарате также отмечалось доминирование грубоволокнистой костной ткани, площадь которой составляла 498 592 мкм² (93 %). Пластинчатая костная ткань занимала 20 330 мкм² (4 %), а рыхлая соединительная ткань — 15 658 мкм² (3 %). Площадь клеток остеобластического ряда была значительно выше по сравнению с предыдущим образцом и составляла 27 345 мкм². Клеточный состав характеризовался преобладанием остеоцитов — 658 клеток (94 %) при наличии 45 остеобластов (6 %); остеокласты отсутствовали. Параметры ангиогенеза включали площадь сосудов 605 мкм², общий периметр сосудистой стенки 149 мкм и средний диаметр сосудов 28 мкм.

Препарат 2.1

В микропрепарате площадь пластинчатой костной ткани составляла 50 429 мкм² (11 %), тогда как грубоволокнистая костная ткань занимала 389 757 мкм² (83 %). Рыхлая соединительная ткань была представлена в большем объёме по сравнению с предыдущими образцами и составляла 31 494 мкм² (6 %). Площадь клеток остеобластического ряда достигала 10 983 мкм². При подсчёте клеток выявлено 364 остеocyта (91 %) и 34 остеобласта (9 %); остеокласты не определялись. Ангиогенез характеризовался площадью сосудов 639 мкм², общим периметром сосудистой стенки 198 мкм и средним диаметром сосудов 29 мкм.

Препарат 2.3

В микропрепарате наибольшая доля приходилась на грубоволокнистую костную ткань — 406 196 мкм² (85 %), тогда как площадь пластинчатой костной ткани достигала 64 916 мкм² (14 %). Рыхлая соединительная ткань была представлена минимально и занимала лишь 4 309 мкм² (1 %). Площадь клеток остеобластического ряда составила 12 979 мкм². Клеточный состав характеризовался преобладанием остеоцитов — 398 клеток (96 %), при наличии 10 остеобластов (4 %); остеокласты не выявлены. Показатели ангиогенеза были минимальными среди представленных образцов: площадь

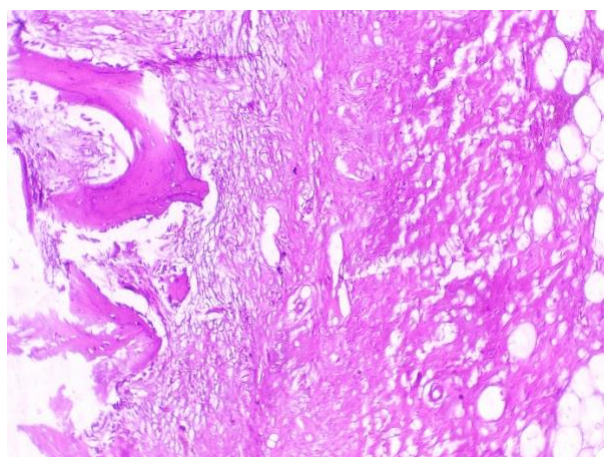
сосудов составляла 282 мкм², общий периметр сосудистой стенки — 116 мкм, а средний диаметр сосудов — 19 мкм.

Гистологическая и морфометрическая оценка процессов остеointеграции через пять месяцев

Препараты контрольной группы (3.2, 4,2)

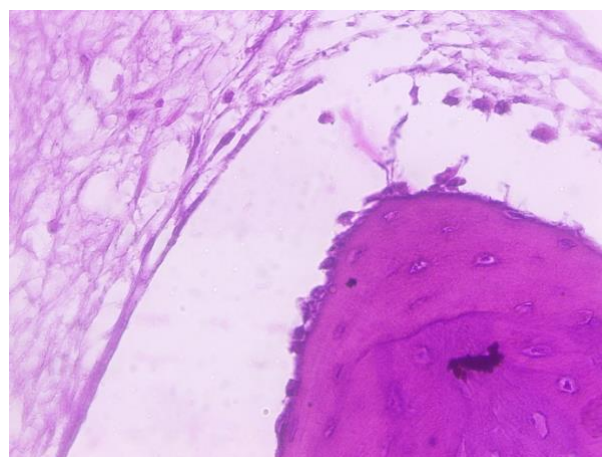
Гистологическое исследование образцов, полученных от двух животных контрольной группы через пять месяцев после установки дентальных имплантатов, показало, что в области имплантационного ложа преобладают процессы формирования новообразованной костной ткани, представленной преимущественно грубоволокнистой костью, с включением отдельных участков рыхлой соединительной ткани и фрагментов формирующейся пластинчатой костной ткани (рис. 56, 57, 58).

При анализе апикальной части ложа имплантата у животных контрольной группы, выведенных из эксперимента на пятом месяце наблюдения, установлено, что грубоволокнистая костная ткань характеризуется рыхлым, дезорганизованным расположением пучков коллагеновых волокон в костном матриксе. На поверхности данных структур визуализируются многочисленные остеобласты, что свидетельствует о продолжающейся активности костеобразовательных процессов (рис. 56 А, Б). Как при малом, так и при большом увеличении определяются формирующиеся костные балки, местами переходящие в участки пластинчатой костной ткани. В данных зонах выявляются зачатки остеонов, формирующихся вокруг сосудов, с наличием лакун, содержащих остециты. Поверхность костных балок выстлана активными остеобластами (рис. 56 Б, В).



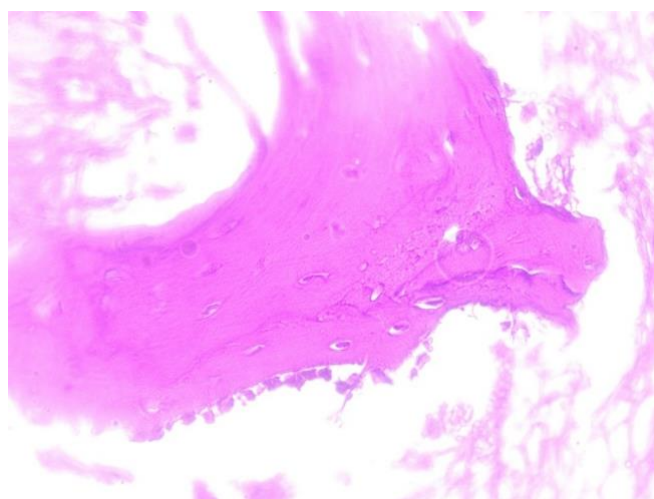
Увеличение 40х

А



Увеличение 400х

Б



Увеличение 400х

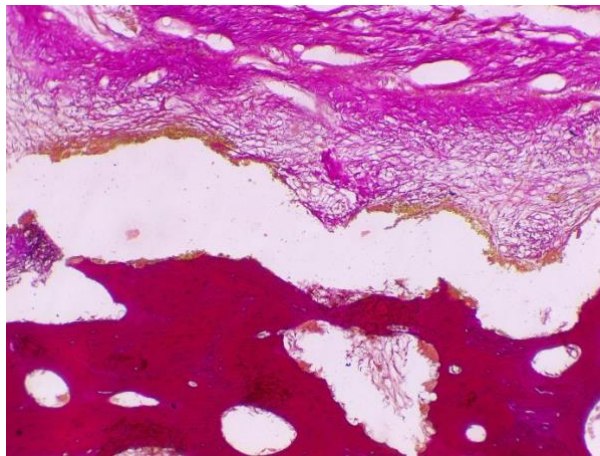
В

Рисунок 56 – Фрагменты декальцированного среза из апикальной части ложа от установленного имплантата у животных контрольной группы. Окраска гематоксилин-эозин.

По ходу имплантационного ложа с обеих сторон от установленного имплантата у животных контрольной группы отмечается наличие новообразованной костной ткани в области витков имплантата. Она представлена тонкими костными балками с лакунами, содержащими остециты, на фоне обширных участков грубоволокнистой костной ткани (рис. 57 А, Б, Д). На протяжении всего ложа имплантата выявляется грубоволокнистая соединительная ткань, представленная хаотично

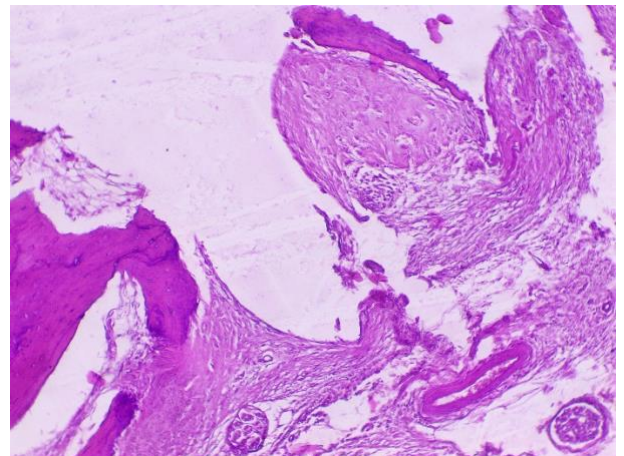
ориентированными пучками грубых коллагеновых волокон, на поверхности которых располагается значительное количество остеобластов. Наряду с этим определяются отдельные очаги рыхлой соединительной ткани (рис. 57 А, Б, В).

В исследуемых образцах также обнаруживаются небольшие фрагменты пластинчатой костной ткани, в структуре которых визуализируются формирующиеся остеоны, concentрически ориентированные вокруг сосудов. В данных участках коллагеновые волокна отличаются более плотной упаковкой, присутствуют многочисленные лакуны с остеоцитами, а также гаверсовы каналы, содержащие кровеносные сосуды. На поверхности костных балок сохраняется наличие остеобластов, что указывает на продолжающиеся процессы ремоделирования костной ткани (рис. 57 В, Г, Д, Е). Следует подчеркнуть, что остеоинтеграционные процессы в области имплантационного ложа у животных контрольной группы носят выражено неравномерный характер.



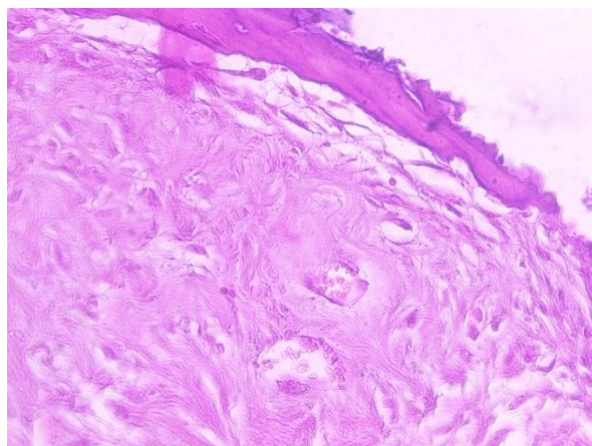
Увеличение 100х

А



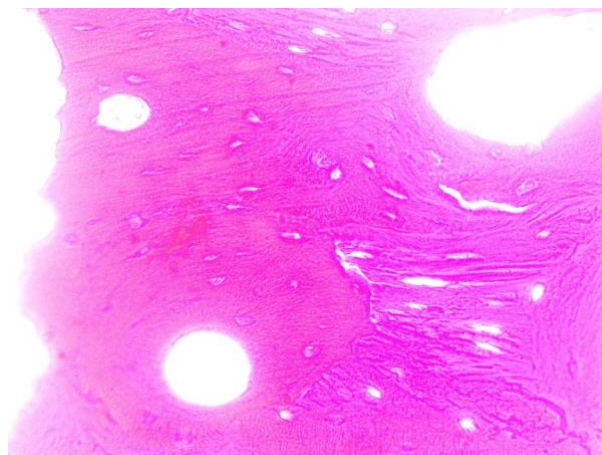
Увеличение 100х

Б



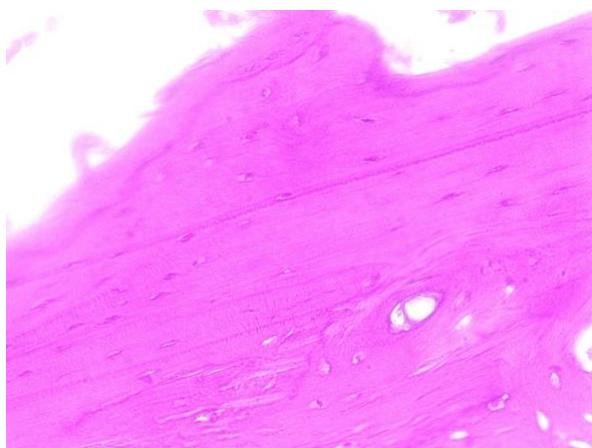
Увеличение 400х

В



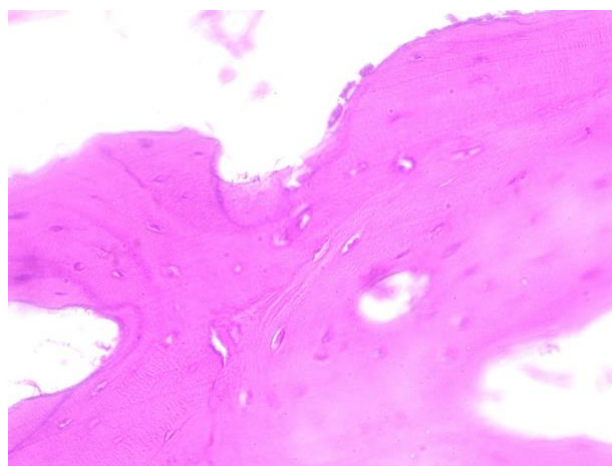
Увеличение 400х

Г



Увеличение 400х

Д

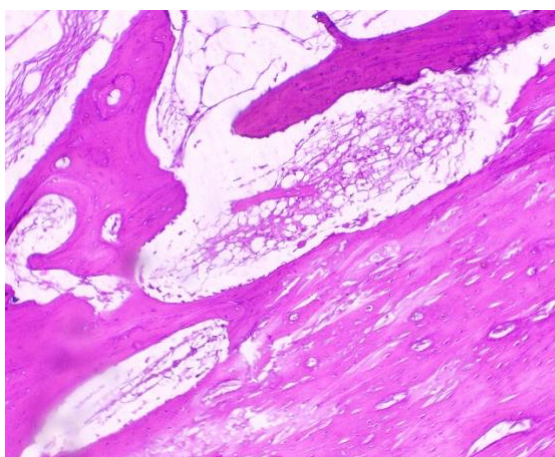


Увеличение 400х

Е

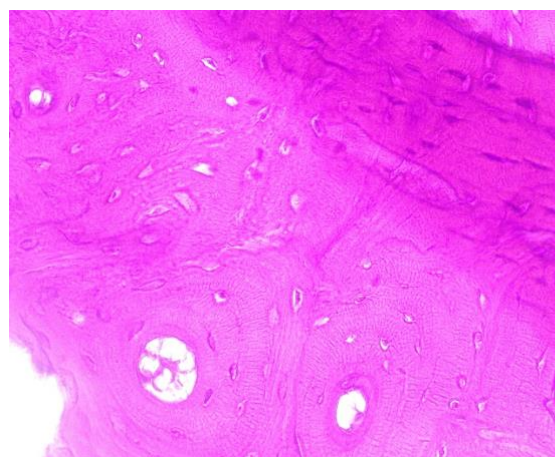
Рисунок 57 – Фрагменты декальцинированного среза по ходу ложа от установленного имплантата у животных контрольной группы. Окраска Б, В, Д, Е – гематоксилин-эозин; А, Г - пикрофуксин по Ван-Гизону.

В пришеечной зоне ложа дентального имплантата вновь сформированная костная ткань у животных контрольной группы достаточно плотно прилежит к виткам имплантата. В данной области выявляются формирующиеся костные балки и отдельные участки развивающейся пластинчатой костной ткани с плотно организованными коллагеновыми волокнами, между которыми располагаются лакуны, содержащие остеocyты. К периферии от данных структур определяется грубоволокнистая соединительная ткань с высоким содержанием остеобластических элементов (рис. 58).



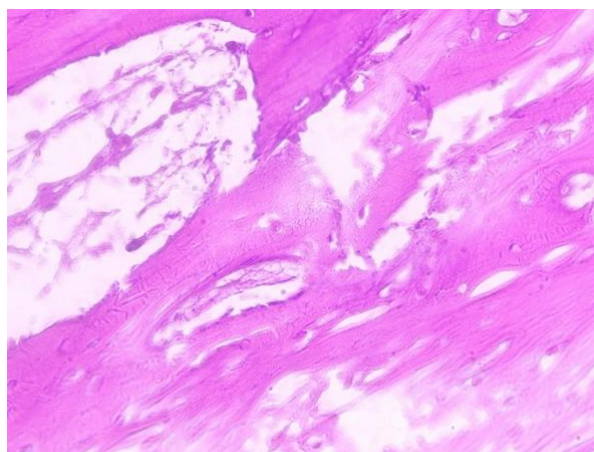
Увеличение 100х

А



Увеличение 400х

Б



Увеличение 400х

В

Рисунок 58 – Фрагменты декальцинированного среза из пришеечной части ложа от установленного дентального имплантата у животных контрольной группы. Окраска гематоксилин-эозин.

Морфометрическая характеристика костной ткани

Препарат 3.2

При морфометрическом анализе микропрепарата установлено, что в структуре новообразованной ткани в зоне имплантации преобладает грубоволокнистая костная ткань, площадь которой составила 367 861 мкм², что соответствует 91 % от общей исследуемой площади. Доля пластинчатой костной ткани была значительно меньшей и составила 11 611 мкм² (3 %), тогда как рыхлая соединительная ткань занимала 26 326 мкм² (6 %). Площадь клеток

остеобластического ряда в данном препарате достигала 11 037 мкм², что свидетельствует о сохраняющейся активности остеогенеза.

Анализ клеточного состава показал, что подавляющее большинство клеток представлено остеоцитами — 409 клеток (91 %), в то время как доля остеобластов составила 41 клетку (9 %). Остеокласты в исследуемых полях зрения не выявлялись.

При оценке показателей ангиогенеза в данном микропрепарате суммарная площадь сосудов составила 295 мкм², общий периметр сосудистой стенки — 88 мкм, а средний диаметр сосудов — 19 мкм, что указывает на умеренно выраженную сосудистую сеть в зоне имплантации.

Препарат 4.2

Морфометрический анализ микропрепарата выявил более выраженное структурное разнообразие тканей в области имплантационного ложа. Площадь пластинчатой костной ткани составила 33 835 мкм², что соответствовало 8 % исследуемой площади, тогда как грубоволокнистая костная ткань занимала 339 350 мкм² (77 %). Значительную долю составляла рыхлая соединительная ткань — 69 619 мкм² (15 %), что может отражать активные процессы ремоделирования костного матрикса.

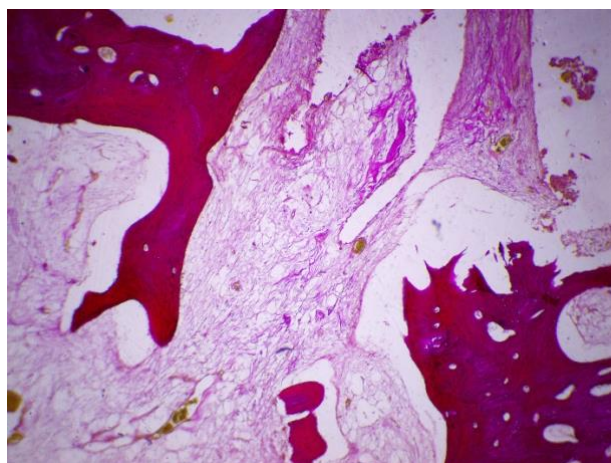
Площадь клеток остеобластического ряда в данном препарате составила 12 552 мкм². Клеточный состав характеризовался преобладанием остеоцитов — 495 клеток (93 %), при меньшей доле остеобластов — 35 клеток (7 %). Остеокластические элементы в исследуемых участках также не определялись.

При морфометрической оценке ангиогенеза в микропрепарате № 5176 (4-2) отмечалось увеличение сосудистого компонента по сравнению с предыдущим образцом: площадь сосудов достигала 1 690 мкм², общий периметр сосудистой стенки — 338 мкм, а средний диаметр сосудов — 46 мкм, что свидетельствует о более развитой микроциркуляторной сети и может быть связано с активизацией процессов костного ремоделирования и созревания новообразованной ткани.

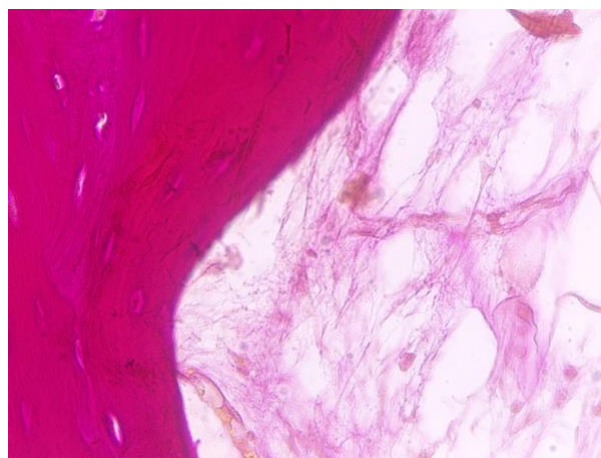
Препараты опытной группы (3.1, 3.3, 4.1, 4.3)

Гистологическое исследование образцов, полученных от четырёх животных основной (опытной) группы через пять месяцев после установки имплантатов, продемонстрировало, что в зоне имплантационного ложа формирование новообразованной костной ткани характеризуется выраженным полиморфизмом. В структуре регенерата преобладала грубоволокнистая костная ткань, которая сочеталась с участками формирующейся пластинчатой кости и зонами рыхлой соединительной ткани (рис. 59, 60, 61).

При микроскопическом анализе апикальной части ложа имплантатов у животных опытной группы, выведенных из эксперимента через пять месяцев после операции, отмечалось чередование обширных массивов грубоволокнистой костной ткани, представленной беспорядочно ориентированными пучками коллагеновых волокон, с локальными участками, сформированными костными балками. На поверхности указанных костных структур выявлялось значительное количество остеобластов, что свидетельствует о сохраняющейся остеогенетической активности (рис. 59 А–Г). По периферии данных зон визуализировались очаги формирующейся пластинчатой костной ткани, в которых коллагеновые волокна располагались параллельно и плотно, формируя лакуны с остеоцитами и начальные гаверсовы системы с кровеносными сосудами (рис. 59 Г, Д).



Увеличение 40х



Увеличение 400х

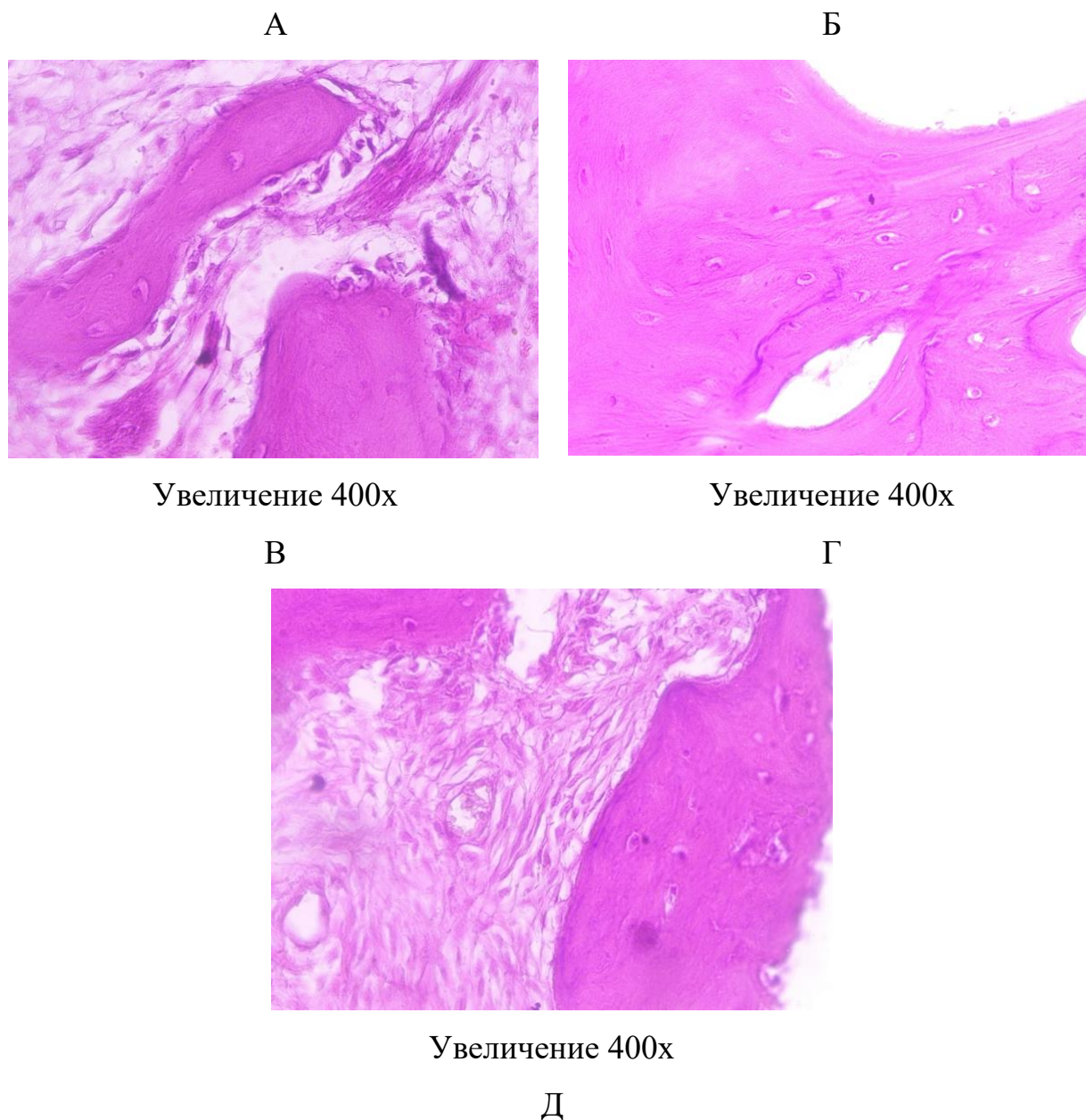
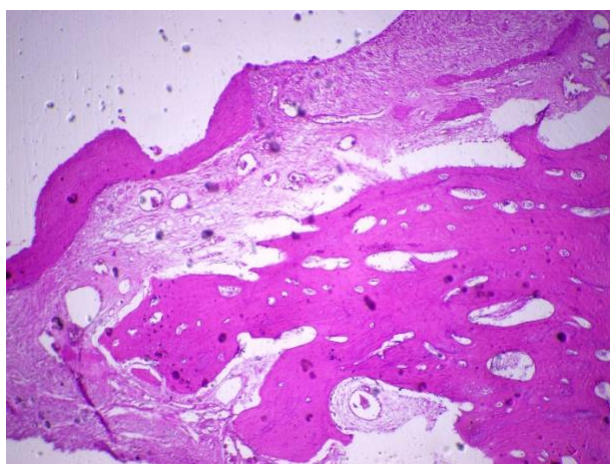


Рисунок 59 – Фрагменты декальцинированного среза из апикальной части ложа от установленного имплантата у животных опытной группы. Окраска В, Г, Д – гематоксилин-эозин; А, Б - пикрофуксин по Ван-Гизону.

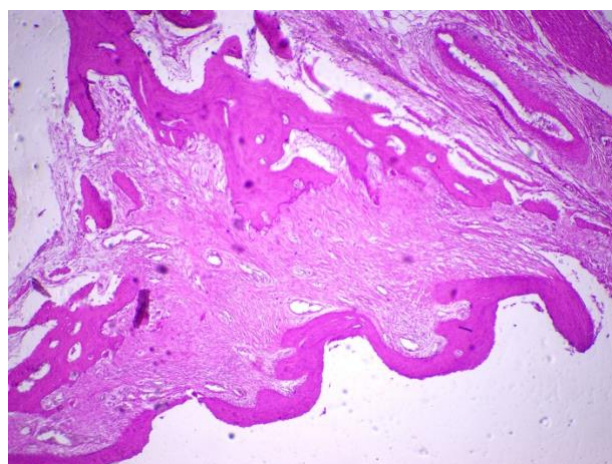
На протяжении ложа имплантата у животных опытной группы с обеих сторон в области витков имплантата определялся тонкий слой новообразованной костной ткани, плотно контактирующий с поверхностью имплантата и содержащий лакуны с включёнными остеоцитами, что указывает на формирование прямого контакта «кость–имплантат» (рис. 60 А–Г). Позади витков имплантата на всём протяжении ложа выявлялись обширные участки грубоволокнистой костной ткани, в структуре которой

присутствовали беспорядочно ориентированные коллагеновые волокна, а также формирующиеся костные балки с выраженной остеобластической выстилкой (рис. 60 А–Г). Дополнительно в этих зонах определялись участки пластинчатой костной ткани с формирующимися остеонами вокруг сосудов, concentрически уплотняющимися коллагеновыми волокнами, многочисленными лакунами с остеocyтами и сформированными гаверсовыми каналами (рис. 60 Д, Е).



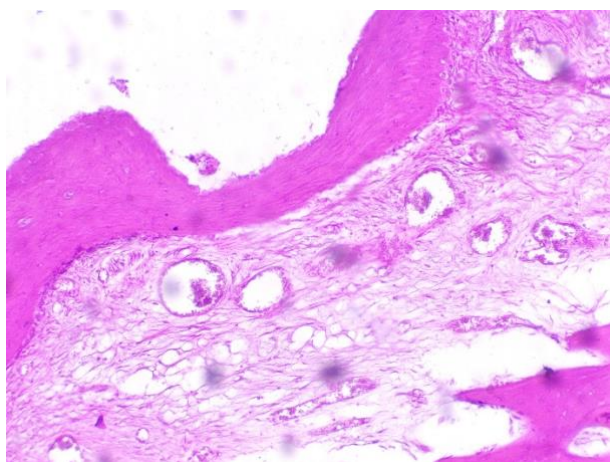
Увеличение 40х

А



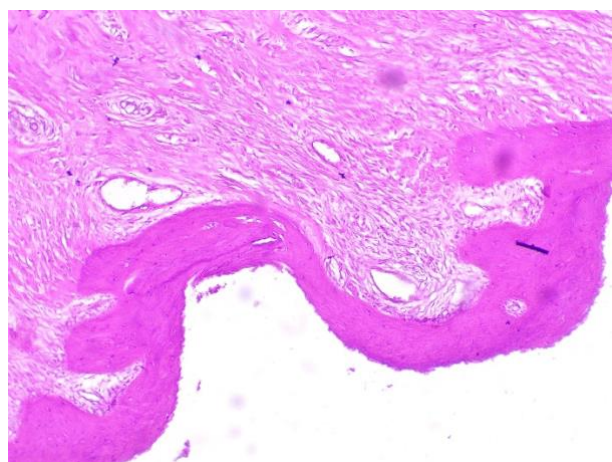
Увеличение 40х

Б



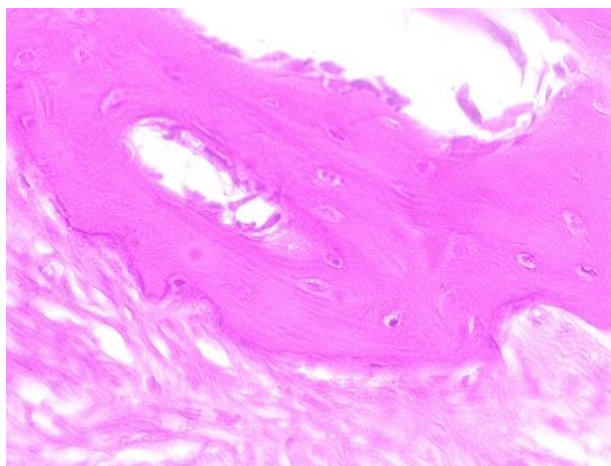
Увеличение 100х

В



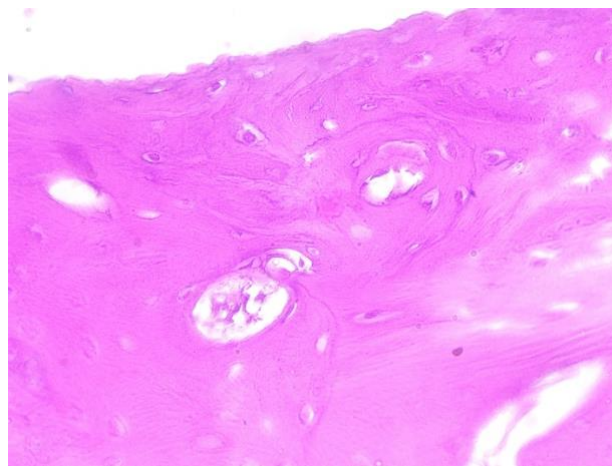
Увеличение 100х

Г



Увеличение 400х

Д

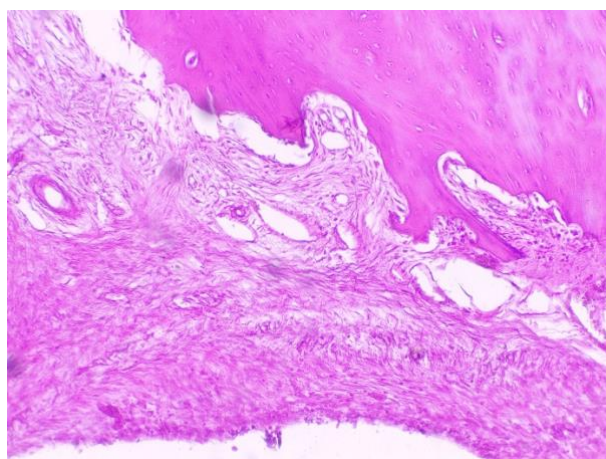


Увеличение 400х

Е

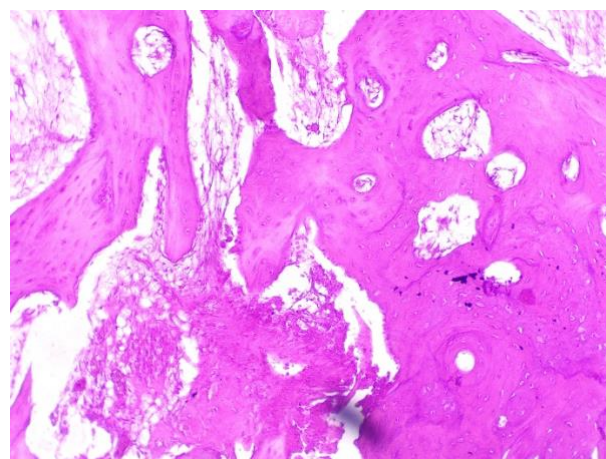
Рисунок 60 – Фрагменты декальцинированного среза по ходу ложа от установленного имплантата у животных опытной группы. Окраска гематоксилин-эозин.

В пришеечной части имплантационного ложа у животных опытной группы вновь сформированная костная ткань на одной из сторон имплантата плотно прилегала к его виткам. В данной области выявлялись небольшие участки формирующейся пластинчатой кости с хорошо упакованными коллагеновыми волокнами и лакунами, содержащими остециты. Между костными балками располагались участки грубоволокнистой соединительной ткани, характеризующиеся высокой клеточностью и наличием значительного количества остеобластов (рис. 61 А–В). С противоположной стороны пришеечной зоны определялись формирующиеся костные балки с более упорядоченной ориентацией коллагеновых волокон, на поверхности которых также располагались остеобласты. В отдельных участках визуализировались зоны пластинчатой костной ткани с формирующимися остеонами вокруг сосудов, плотной упаковкой коллагеновых волокон, многочисленными лакунами с остеоцитами и выраженными гаверсовыми каналами (рис. 61 Б, В).



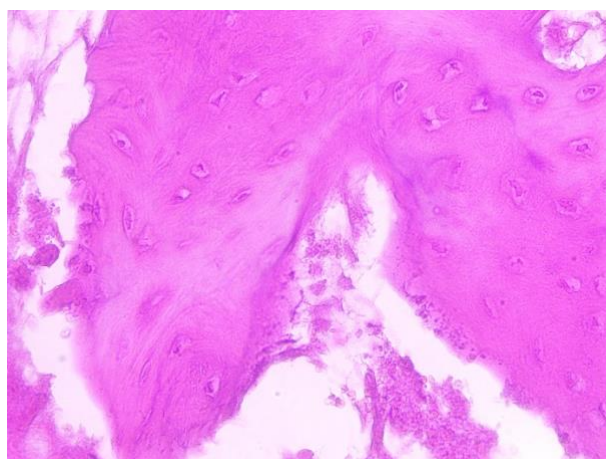
Увеличение 100х

А



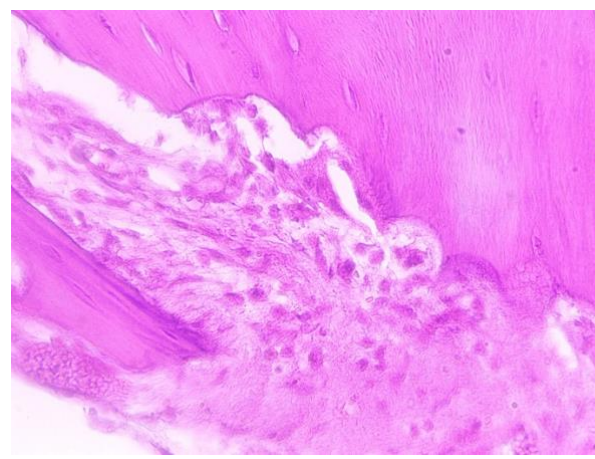
Увеличение 100х

Б



Увеличение 400х

В



Увеличение 400х

Г

Рисунок 61 – Фрагменты декальцинированного среза из пришеечной части ложа от установленного дентального имплантата у животных опытной группы. Окраска гемоксилин-эозин.

Морфометрическая характеристика костной ткани

По данным морфометрического анализа микропрепаратов, полученных от животных опытной группы через пять месяцев после имплантации, установлено, что структура новообразованной костной ткани характеризуется выраженной гетерогенностью и различной степенью зрелости в зависимости от локализации имплантата.

Препарат 3.1

В препарате доля пластинчатой костной ткани составила 92 523 мкм² (24%), что указывает на относительно высокий уровень созревания костного матрикса. Основную площадь занимала грубоволокнистая костная ткань — 234 155 мкм² (61%), тогда как рыхлая соединительная ткань составляла 55 661 мкм² (15%). Площадь клеток остеобластического ряда достигала 12 319 мкм². Клеточный состав был представлен преимущественно остеоцитами — 408 клеток (96%), при незначительной доле остеобластов — 15 клеток (4%), остеокласты не выявлялись. Морфометрические показатели ангиогенеза свидетельствовали о формировании сосудистой сети умеренной выраженности: площадь сосудов составила 760 мкм², общий периметр сосудистой стенки — 239 мкм, средний диаметр сосудов — 31 мкм.

Препарат 3.3

В микропрепарате 3.3 площадь пластинчатой костной ткани была ниже и составляла 45 289 мкм² (11%), при преобладании грубоволокнистой костной ткани — 297 043 мкм² (76%). Доля рыхлой соединительной ткани достигала 49 765 мкм² (13%). Площадь остеобластического компонента составила 11 857 мкм². Клеточный состав характеризовался увеличением относительного числа остеобластов: остеоциты — 365 (89%), остеобласты — 47 (11%), остеокласты отсутствовали. Ангиогенные показатели в данном препарате были менее выражены: площадь сосудов — 544 мкм², периметр сосудистой стенки — 200 мкм, средний диаметр сосудов — 26 мкм.

Препарат 4.1

В препарате 4.1 пластинчатая костная ткань занимала 56 482 мкм² (13%), при доминировании грубоволокнистой кости — 383 560 мкм² (85%). Рыхлая соединительная ткань была минимальной и составляла 9 462 мкм² (2%), что свидетельствует о более выраженном замещении соединительнотканых структур костным матриксом. Площадь остеобластического ряда достигала 14 442 мкм². Клеточный состав включал 388 остеоцитов (94%) и 26 остеобластов (6%), остеокласты не определялись. Ангиогенез в данном образце был

выражен значительно сильнее: площадь сосудов составила 1 816 мкм², общий периметр — 268 мкм, средний диаметр сосудов — 48 мкм.

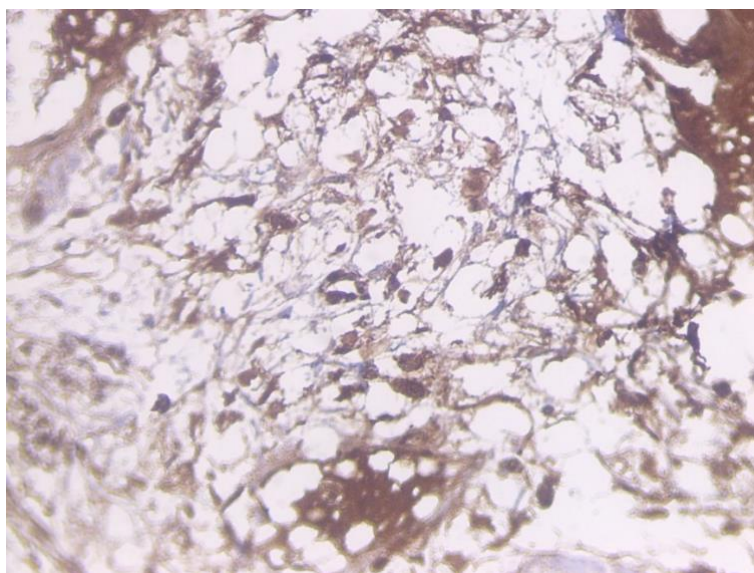
Препарат 4.3

Наиболее выраженные признаки васкуляризации и клеточной активности выявлены в препарате 4.3. Площадь пластинчатой костной ткани составляла 48 234 мкм² (11%), грубоволокнистой — 357 874 мкм² (82%), рыхлой соединительной ткани — 27 992 мкм² (7%). Площадь клеток остеобластического ряда достигала 13 585 мкм².

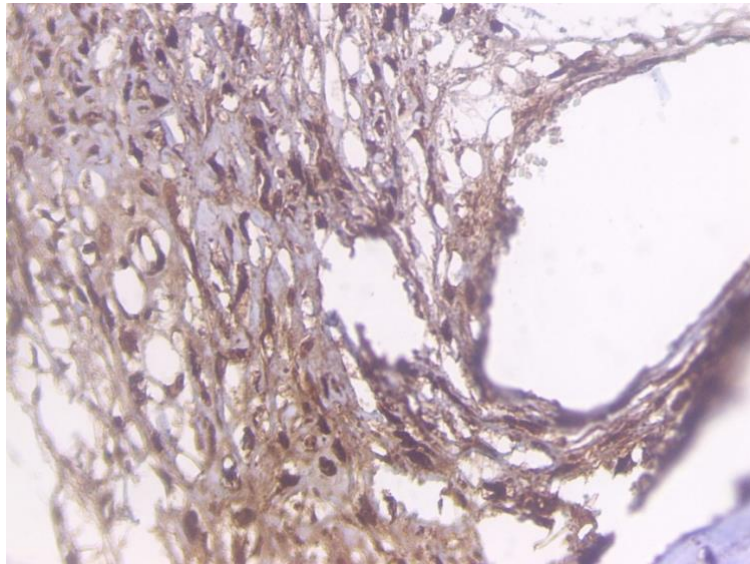
4.3 Результаты иммуногистохимического исследования

Контрольная группа

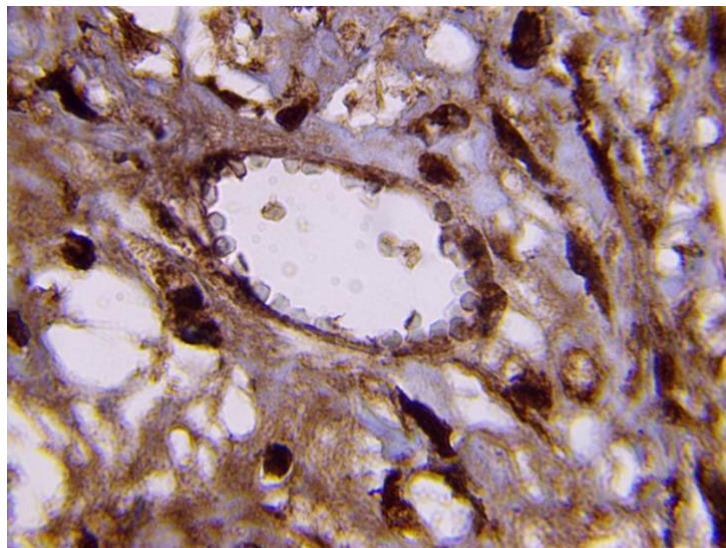
Результаты иммуногистохимического исследования образцов от двух животных контрольной группы через три месяца после операции показывают вокруг всех частей ложа, прилегающих к виткам установленного имплантата слабую и умеренную экспрессию SPARC (остеонектин) во внеклеточном матриксе, выраженную в остеобластах и остеоцитах (рисунок 62), что указывает на слабое формирование и созревание костного матрикса.



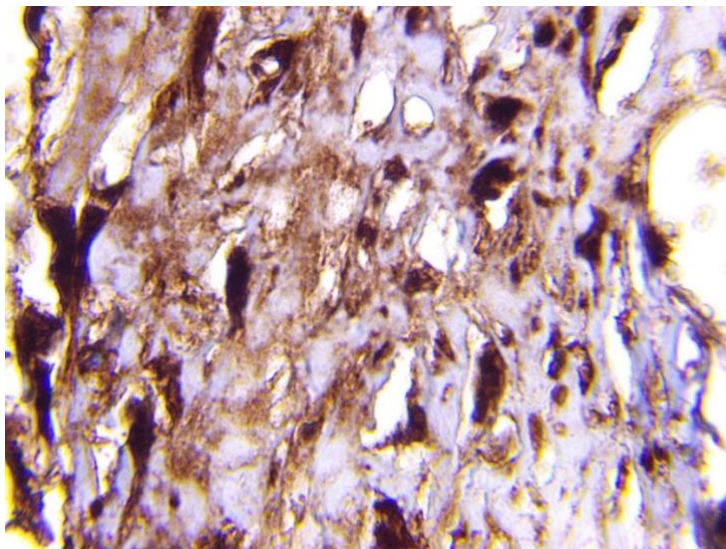
Увеличение x400



Увеличение x400



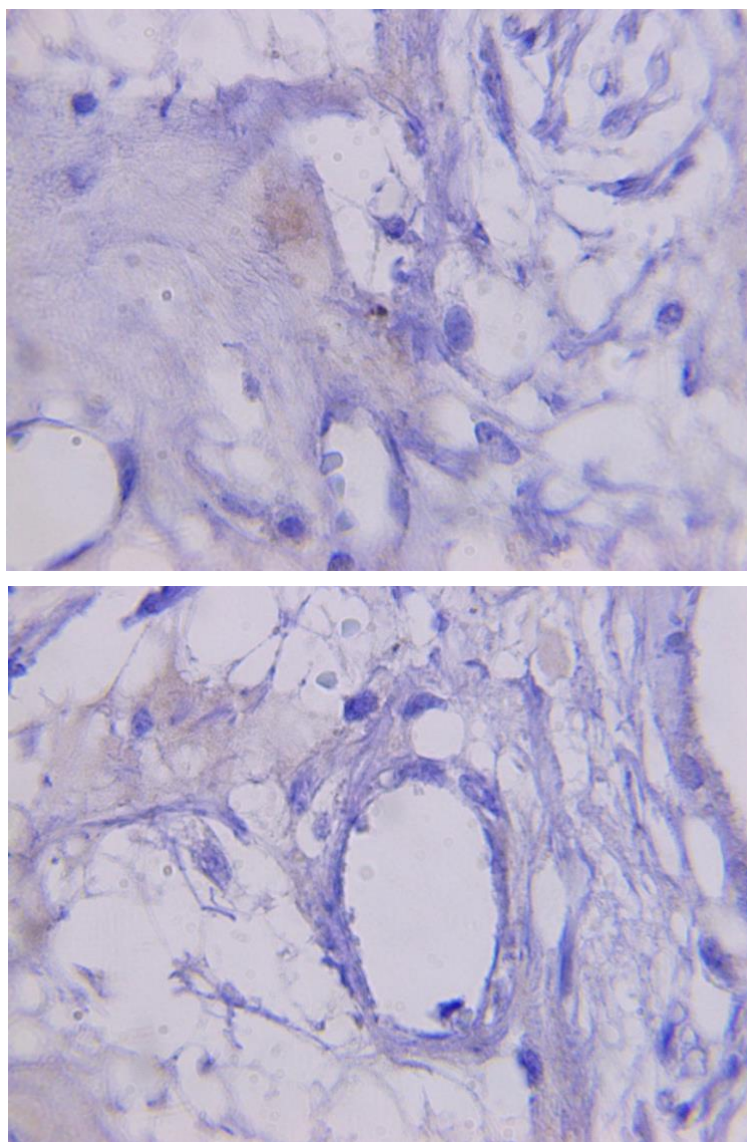
Увеличение x1000



Увеличение x1000

Рисунок 62 – Экспрессия SPARC (остеонектин) через 3 месяца после операции в контрольной группе.

При исследовании экспрессии остеопонтина вокруг всех частей ложа, прилегающих к виткам установленного имплантата образцов от двух животных контрольной группы через три месяца после операции показали умеренную экспрессию остеопонтина в остеобластах и остеоцитах (рисунок 63), что указывает на слабо выраженную фазу костного ремоделирования, хемотаксиса клеток и процесса минерализации новообразованного остеоида.



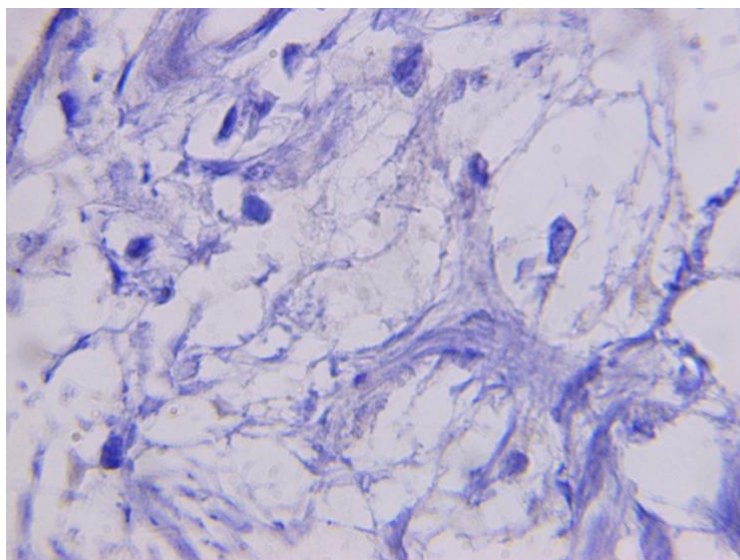
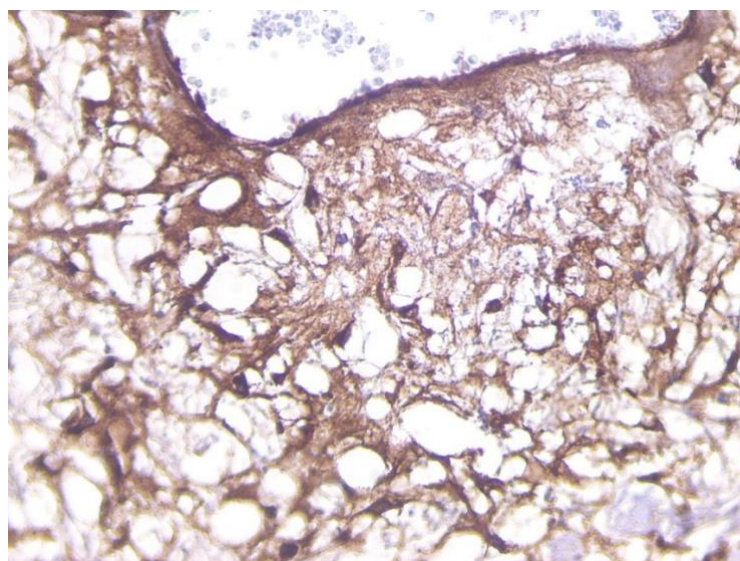
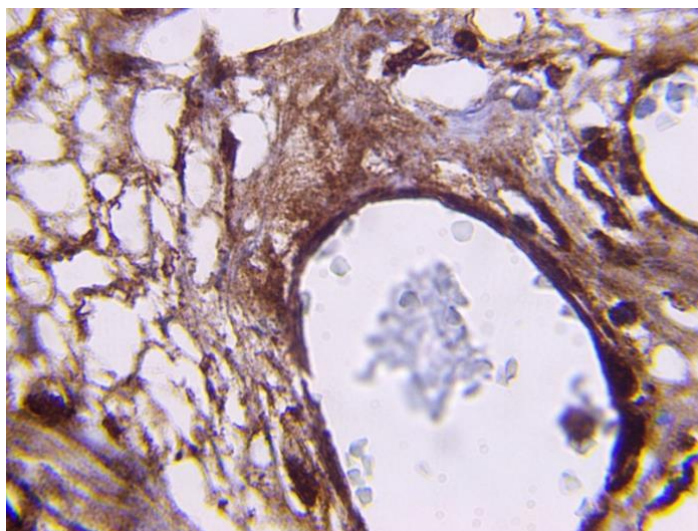


Рисунок 63 – Экспрессия остеопонтина через 3 месяца после операции в контрольной группе. Увеличение $\times 1000$.

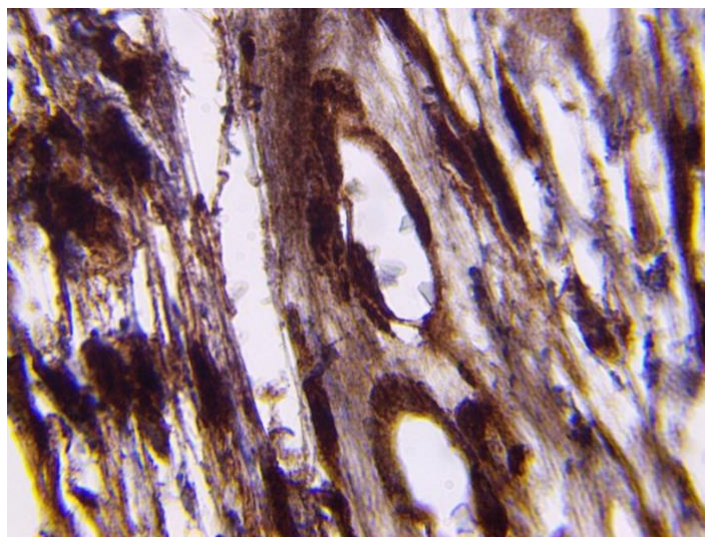
Результаты иммуногистохимического исследования образцов от двух животных контрольной группы через пять месяцев после операции показывают вокруг всех частей ложа, прилегающих к виткам установленного имплантата умеренную экспрессию SPARC (остеонектин) во внеклеточном матриксе, выраженную в остеоцитах (рисунок 64), что свидетельствует об активировании формирования костного матрикса.



Увеличение $\times 400$



Увеличение x1000



Увеличение x1000

Рисунок 64 – Экспрессия SPARC (остеонектин) через 5 месяцев после операции в контрольной группе.

При исследовании экспрессии остеопонтина вокруг всех частей ложа, прилегающих к виткам установленного имплантата образцов от двух животных контрольной группы через три месяца после операции показали умеренную экспрессию остеопонтина в остеобластах и остеоцитах (рисунок 65), что указывает на вяло протекающие процессы костного ремоделирования, хемотаксиса клеток и минерализации новообразованного остеоида.

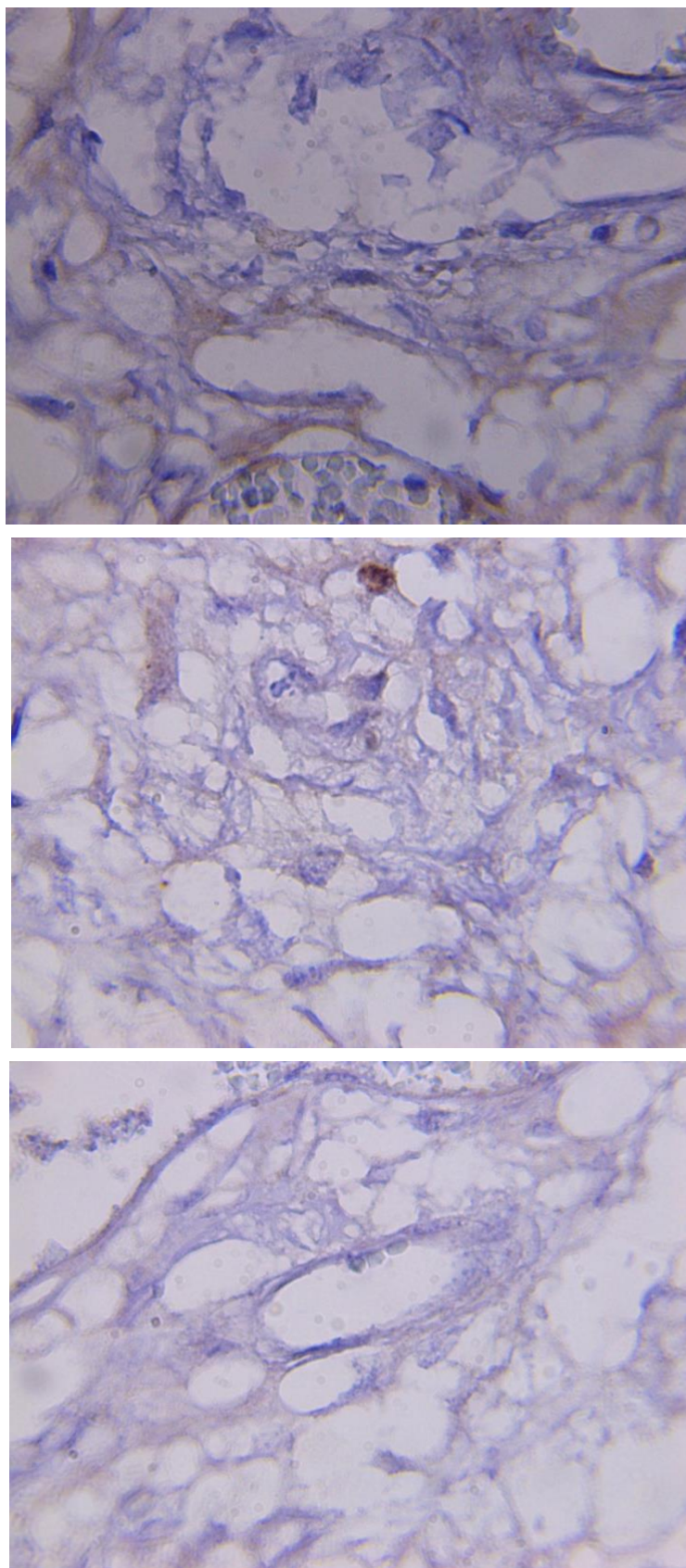
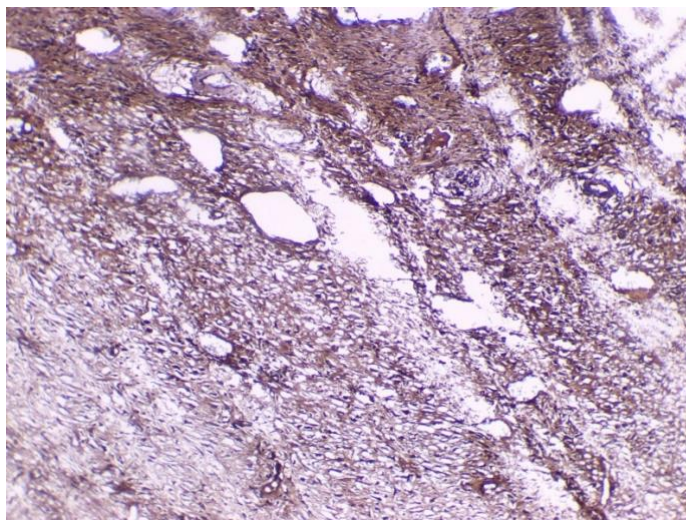


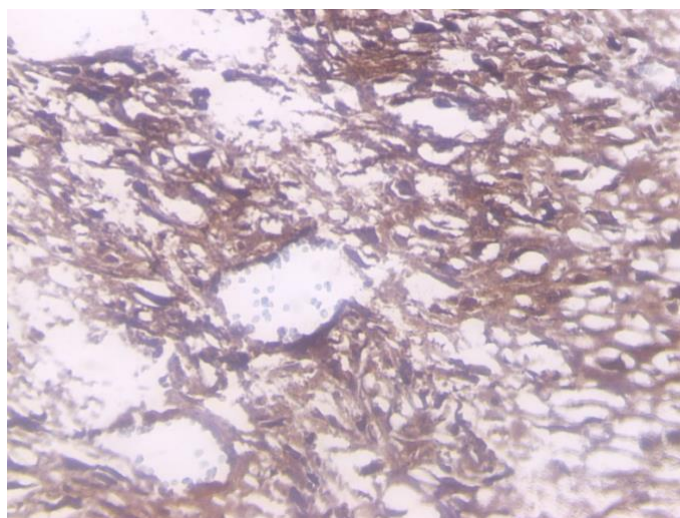
Рисунок 65 – Экспрессия остеопонтина через 5 месяцев после операции в контрольной группе. Увеличение x1000.

Опытная группа

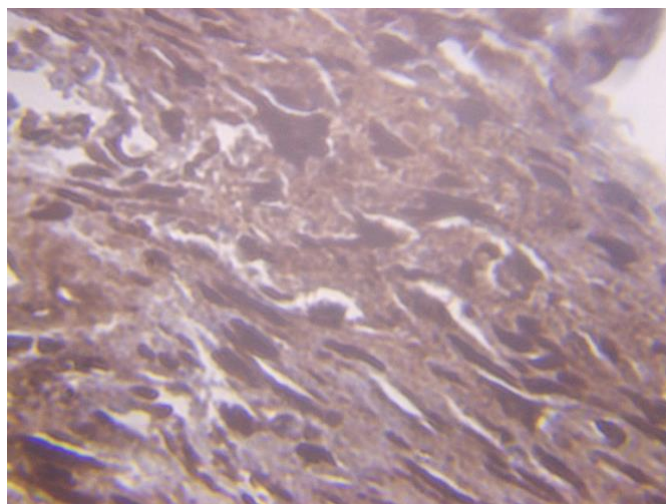
Результаты иммуногистохимического исследования образцов от четырех животных опытной группы через три месяца после операции показывают вокруг всех частей ложа, прилегающих к виткам установленного имплантата умеренную и выраженную экспрессию SPARC (остеонектин) во внеклеточном матриксе, выраженную в остеобластах и остеоцитах (рисунок 66), что указывает на активно протекающие процессы формирования и созревания костного матрикса.



Увеличение x100



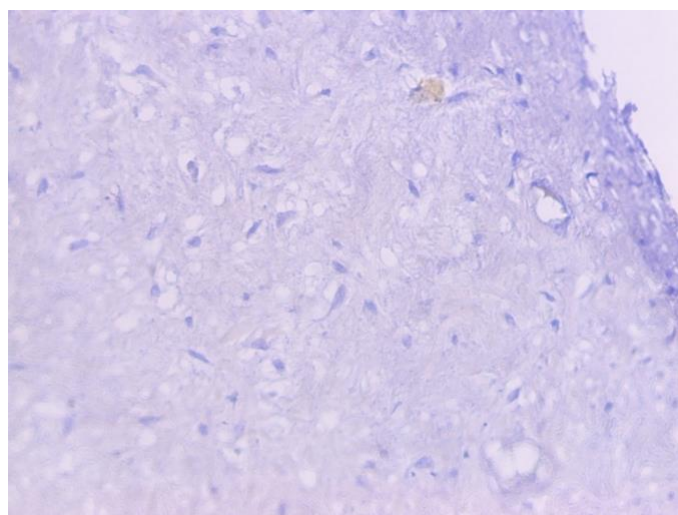
Увеличение x400



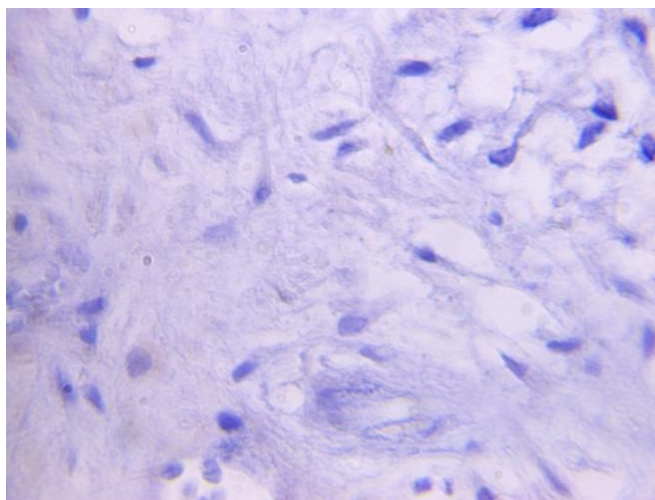
Увеличение x1000

Рисунок 66 – Экспрессия SPARC (остеонектин) через 3 месяца после операции в опытной группе.

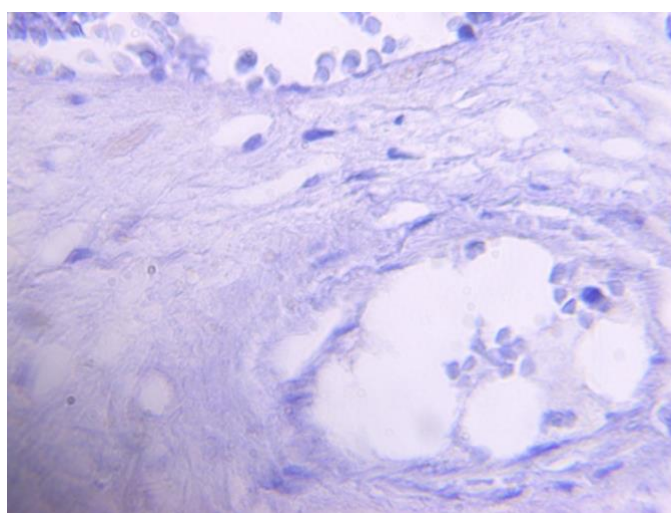
При оценке экспрессии остеопонтинина в аналогичных сроках наблюдения у животных опытной группы выявлялась преимущественно умеренная иммунопозитивная реакция в остеобластах и остеоцитах периимплантатной зоны (рис. 67). Данные изменения указывают на начальную стадию ремоделирования костной ткани, сопровождающуюся активацией клеточной миграции, формированием остеоида и началом процессов минерализации.



Увеличение x400



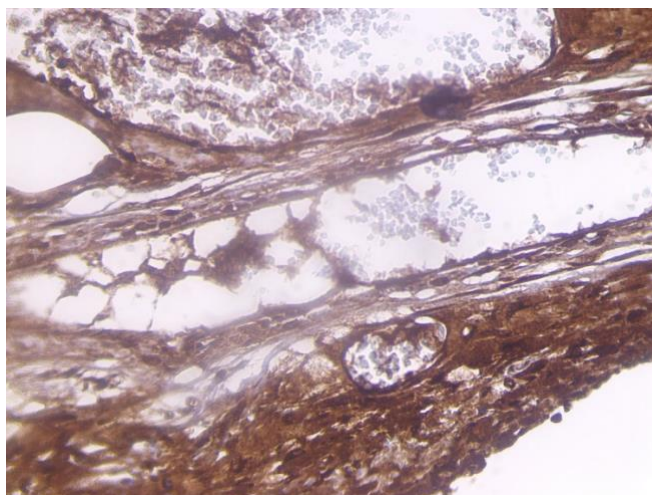
Увеличение x1000



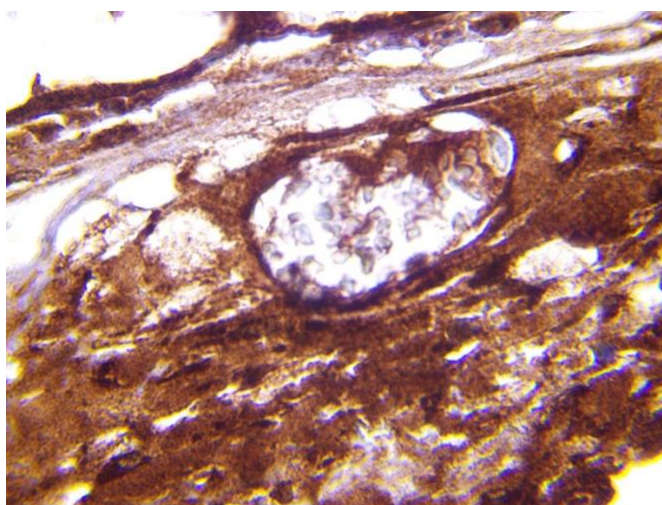
Увеличение x1000

Рисунок 67 – Экспрессия остеопонтина через 3 месяца после операции в опытной группе.

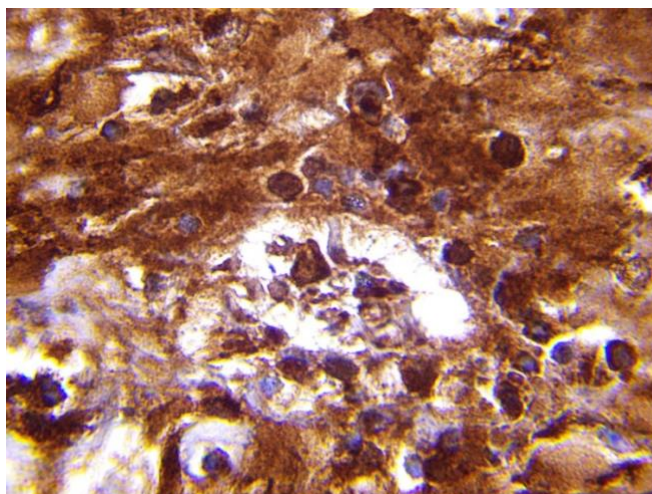
Результаты иммуногистохимического исследования образцов от четырех животных опытной группы через пять месяцев после операции показывают вокруг всех частей ложа, прилегающих к виткам установленного имплантата, выраженную экспрессию SPARC (остеонектин) во внеклеточном матриксе, выраженную в остеобластах и остеоцитах (рисунок 68), что указывает на активно протекающие процессы формирования и созревания костного матрикса.



Увеличение x400



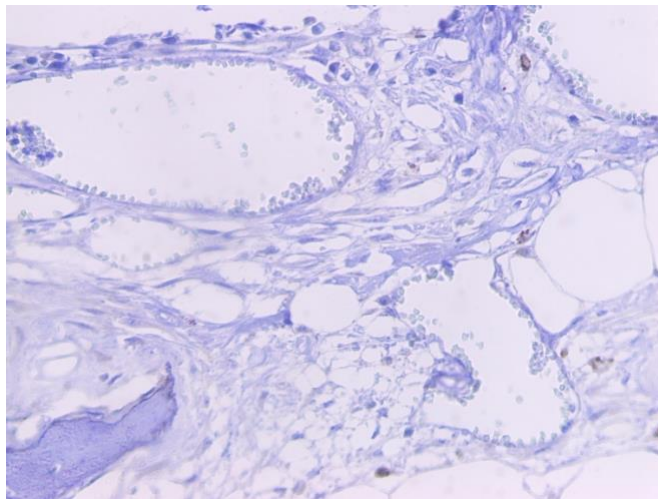
Увеличение x1000



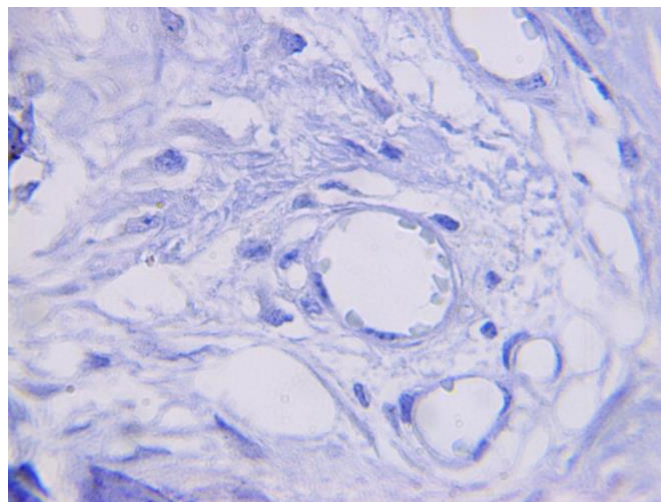
Увеличение x1000

Рисунок 68 – Экспрессия SPARC (остеонектин) через 5 месяцев после операции в опытной группе.

При исследовании экспрессии остеопонтина вокруг всех частей ложа, прилегающих к виткам установленного имплантата, образцов от четырех животных опытной группы через пять месяцев после операции показали умеренную и выраженную экспрессию остеопонтина в остеобластах и остеоцитах (рисунок 69), что указывает на активно выраженную фазу костного ремоделирования, хемотаксиса клеток и процесса минерализации новообразованного остеоида.



Увеличение x400



Увеличение x1000

Рисунок 69 – Экспрессия SPARC (остеонектин) через 5 месяцев после операции в опытной группе.

Таким образом, экспрессия SPARC (остеонектин) и остеопонтина вокруг всех частей ложа, прилегающих к виткам установленного имплантата у

животных контрольной группы через три месяца после операции, указывают на слабое формирование и созревание костного матрикса, слабо выраженную фазу костного ремоделирования, хемотаксиса клеток и процесса минерализации новообразованного остеоида. К 5-му месяцу у животных контрольной группы отмечается определённая активация процессов матриксообразования, однако признаки костного ремоделирования и минерализации остаются выраженными в недостаточной степени.

В отличие от этого, у животных опытной группы уже на 3-м месяце после операции регистрируются выраженные признаки активации формирования и созревания костного матрикса, а к 5-му месяцу наблюдается полноценное вовлечение всех ключевых звеньев остеогенеза, включая интенсивное ремоделирование, активный клеточный хемотаксис и прогрессирующую минерализацию новообразованной костной ткани, что указывает на положительное влияние экспериментального покрытия на процессы остеоинтеграции имплантатов.

Обобщенные результаты морфометрического анализа по всем образцам представлены в таблице 7.

3 месяца наблюдений						
Морфометрический показатель	Имплантат, животное					
	1.1	1.2	1.3	2.1	2.2	2.3
S пластинчатой костной ткани (мкм * мкм)	98 253,00	78 111,00	73 080,00	101 113,00	136 928,00	65 264,00
S грубоволокнистой костной ткани (мкм * мкм)	291 360,00	326 817,00	369 725,00	356 394,00	304 277,00	321 942,00
S рыхлой соединительной ткани (мкм * мкм)	67 121,00	33 850,00	9 047,00	29 112,00	21 379,00	21 236,00

количество остеобластов (n)	53,00	39,00	32,00	24,00	13,00	58,00
количество остеоцитов (n)	346,00	345,00	328,00	398,00	346,00	273,00
количество остеокластов (n)		2,00	1,00	3,00		2,00
S сосудов (мкм * мкм)	2 558,00	4 467,00	585,00	2 498,00	879,00	3 042,00
Общий периметр стенки сосудов, мкм	566,00	562,00	167,00	404,00	160,00	458,00
Ср. диаметр сосудов, мкм	57,00	75,00	27,00	56,00	33,00	62,00
5 месяцев наблюдений						
Морфометрический показатель	Имплантат, животное					
	3.1	3.2	3.3	4.1	4.2	4.3
S пластинчатой костной ткани (мкм * мкм)	75 022,00	32 403,00	11 131,00	179 330,00	28 122,00	74 624,00
S грубоволокнистой костной ткани (мкм * мкм)	341 302,00	309 420,00	419 267,00	331 920,00	334 391,00	241 883,00
S рыхлой соединительной ткани (мкм * мкм)	90 554,00	28 025,00	80 132,00	40 823,00	95 200,00	94 217,00
количество остеобластов (n)	54,00	52,00	37,00	16,00	54,00	107,00
количество остеоцитов (n)	297,00	284,00	299,00	344,00	365,00	233,00

количество остеокластов (n)	1,00					
S сосудов (мкм * мкм)	536,00	231,00	272,00	2 888,00	2 860,00	1 672,00
Общий периметр стенки сосудов, мкм	121,00	65,00	83,00	348,00	491,00	326,00
Ср. диаметр сосудов, мкм	26,00	17,00	19,00	61,00	60,00	46,00

4.4 Статистический анализ результатов морфометрического исследования

Для проведения статистических исследований в данном проекте использованы табличный процессор Excel и программное обеспечение RStudio, которое предоставляет мощные инструменты для анализа данных и визуализации. В процессе работы были задействованы различные библиотеки, такие как dplyr для манипуляции данными, ggplot2 для создания графиков и визуализаций, readxl для импорта данных из Excel, а также broom и openxlsx для упрощения работы с результатами статистических моделей и экспорта данных в удобные форматы. Эти инструменты позволяют эффективно обрабатывать, анализировать и интерпретировать морфометрические данные, полученные в ходе исследования.

В результате морфометрического анализа образцов костной ткани получены актуальные сводные показатели, отражающие площадь различных типов тканей, количество клеток и параметры сосудистого русла.

Сводные данные общего статистического анализа приведены в таблице 2.

Таблица 8 – Данные общего статистического анализа выборки в целом

	Min.: Минимальное значение.	1st Qu.: Первый квартиль	Median: Медиана (50-й перцентиль).	Mean: Среднее значение.	3rd Qu.: Третий квартиль	Max.: Максимальное значение.
--	-----------------------------------	--------------------------------	---	-------------------------------	--------------------------------	------------------------------------

		(25-й процентиль).			(75-й процентиль).	
S пластинчатой костной ткани (мкм * мкм)	11611	25017	42943	42847	51942	92523
S грубоволокнистой костной ткани (мкм * мкм)	234155	329180	375711	372169	409714	498592
S рыхлой соединительной ткани (мкм * мкм)	4309	14109	27159	28473	36060	69619
количество остеобластов (n)	10.00	20.25	34.50	34.67	45.50	78.00
количество остеоцитов (n)	293.0	382.2	408.5	439.2	487.5	658.0
S сосудов (мкм * мкм)	282.0	589.8	873.5	1394.2	2036.2	3380.0
Общий периметр стенки сосудов, мкм	88.0	185.8	252.0	254.7	297.5	471.0
Ср. диаметр сосудов, мкм	19.00	27.50	33.00	39.00	50.75	66.00
кортикальная	1175	1652	2028	1952	2270	2600
губчатая - середина	940	1300	1345	1328	1419	1580
губчатая - апекс	850	1144	1255	1326	1560	1885

Ниже — краткая интерпретация представленных сводных статистик (Min / 1st Qu. / Median / Mean / 3rd Qu. / Max) с выводами по каждой переменной и общими замечаниями. Напомню: если $\text{Mean} > \text{Median}$ → правосторонняя скошенность (есть высокие значения); если $\text{Mean} < \text{Median}$ → левосторонняя скошенность (есть низкие значения). Большая разница Q3–Max или Min–Q1 указывает на возможные выбросы и повышенную гетерогенность.

1) S пластинчатой костной ткани (мкм²): 11611 / 25017 / 42943 / 42847 / 51942 / 92523

Mean (42847) $\approx$ Median (42943), слегка меньше → распределение близко к симметричному, с небольшой левой скошенностью.

Q3→Max (51942 → 92523) — большой разрыв → есть образцы с существенно увеличенной площадью пластинчатой ткани (возможные высокие значения).

Вывод: в большинстве образцов умеренная площадь ламеллярной (пластинчатой) ткани; есть небольшая доля образцов с очень высокой площадью — возможно, более выраженное созревание/ремоделирование в отдельных образцах.

2) S грубоволокнистой костной ткани (мкм²): 234155 / 329180 / 375711 / 372169 / 409714 / 498592

Mean (372169) чуть меньше Median (375711) → небольшая левосторонняя скошенность, в целом близко к симметрии.

Все квартили высокие — грубоволокнистая ткань доминирует по площади.

Q3→Max (409714 → 498592) — заметный разрыв → отдельные образцы с очень большой площадью грубоволокнистой ткани.

Вывод: выборка в целом характеризуется преобладанием грубоволокнистой (вовен/незрелой) ткани, но есть существенная вариабельность и несколько образцов с особенно высоким содержанием.

3) S рыхлой соединительной ткани (мкм²): 4309 / 14109 / 27159 / 28473 / 36060 / 69619

Mean (28473) > Median (27159) → правая скошенность.

4) S сосудов (мкм²): 282.0 / 589.8 / 873.5 / 1394.2 / 2036.2 / 3380.0

Mean (1394.2) » Median (873.5) — выраженная правая скошенность.

Значительный рост от Median→Mean→Q3→Max; Q3→Max большой → явные высокие значения у части образцов.

Вывод: выраженная гетерогенность сосудистого русла; у некоторых образцов сильно увеличенная сосудистая площадь (усиленная васкуляризация или сосудистые разрастания).

5) Общий периметр стенки сосудов (мкм): 88.0 / 185.8 / 252.0 / 254.7 / 297.5 / 471.0

Mean (254.7) $\approx$ Median (252.0) — близко к симметрии, небольшая правая скошенность.

Max (471) заметно выше Q3 (297.5) $\rightarrow$ есть образцы с увеличенным периметром стенок (более крупные/численные сосуды).

Вывод: в среднем периметр стенок умеренный, но часть образцов показывает выраженное увеличение.

6) Ср. диаметр сосудов (мкм): 19.00 / 27.50 / 33.00 / 39.00 / 50.75 / 66.00

Mean (39.00) $>$ Median (33.00) $\rightarrow$ правая скошенность.

Q3 $\rightarrow$ Max (50.75 $\rightarrow$ 66) — заметный разрыв $\rightarrow$ в некоторых образцах сосуды крупнее.

Вывод: медианные диаметры умеренные, но есть образцы с явно расширенными сосудами — согласуется с увеличением S сосудов у части образцов.

7) кортикальная: 1175 / 1652 / 2028 / 1952 / 2270 / 2600

Mean (1952) $<$ Median (2028) $\rightarrow$ небольшая левосторонняя скошенность.

Разброс умеренный; Max (2600) $\approx$ Q3+330 — нет экстремально больших выбросов, но есть вариабельность.

Вывод: кортикальные значения в основном в среднем диапазоне; в нескольких образцах чуть меньшие значения тянут среднее вниз.

8) губчатая - середина: 940 / 1300 / 1345 / 1328 / 1419 / 1580

Mean (1328) $<$ Median (1345) $\rightarrow$ слабая левосторонняя скошенность.

Диапазон относительно узкий $\rightarrow$ сравнительно однородные значения в центре.

Вывод: малая вариабельность для этой локализации, распределение компактное.

9) губчатая - апекс: 850 / 1144 / 1255 / 1326 / 1560 / 1885

Mean (1326) $>$ Median (1255) $\rightarrow$ правая скошенность.

Q3 $\rightarrow$ Max (1560 $\rightarrow$ 1885) — заметный высокий хвост.

Вывод: апекс демонстрирует больше вариабельности и встречаются образцы с увеличенными значениями по сравнению с медианой.

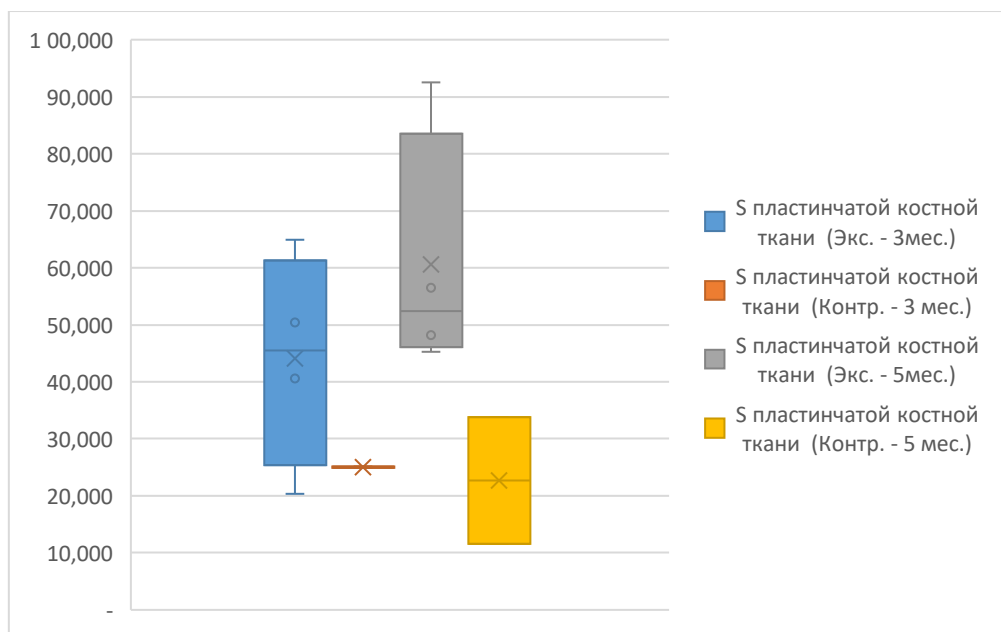
Общие выводы и рекомендации

В выборке доминирует грубоволокнистая (woven) ткань по площади, при этом ламеллярная (пластинчатая) ткань в среднем меньше, чем в некоторых других наборах данных — это указывает на преобладание незрелой/недавно образовавшейся кости в большинстве образцов.

Наблюдается высокая вариабельность сосудистых параметров (S сосудов, диаметр) — выраженная правая скошенность и явные высокие значения у части образцов. Это может отражать различные стадии васкуляризации/заживления между образцами.

Остеоциты демонстрируют правый хвост (высокие значения у части образцов), тогда как остеобласты более равномерно распределены с отдельными пиками активности.

Визуализация данных общих морфометрических показателей, в зависимости от кол-ва месяцев для площадей различных тканей на рисунке 70, в виде боксплотов (ящик с усами)



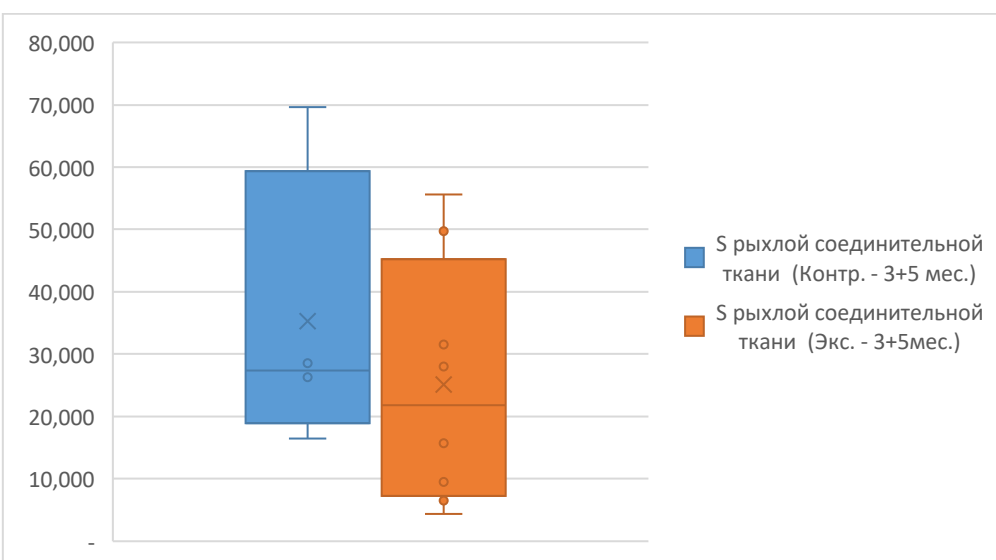
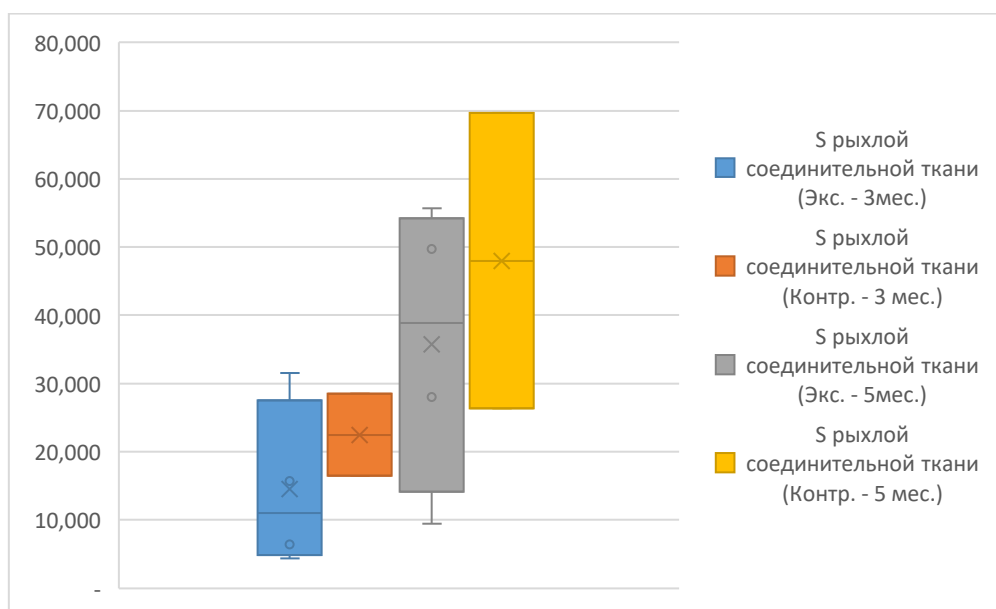
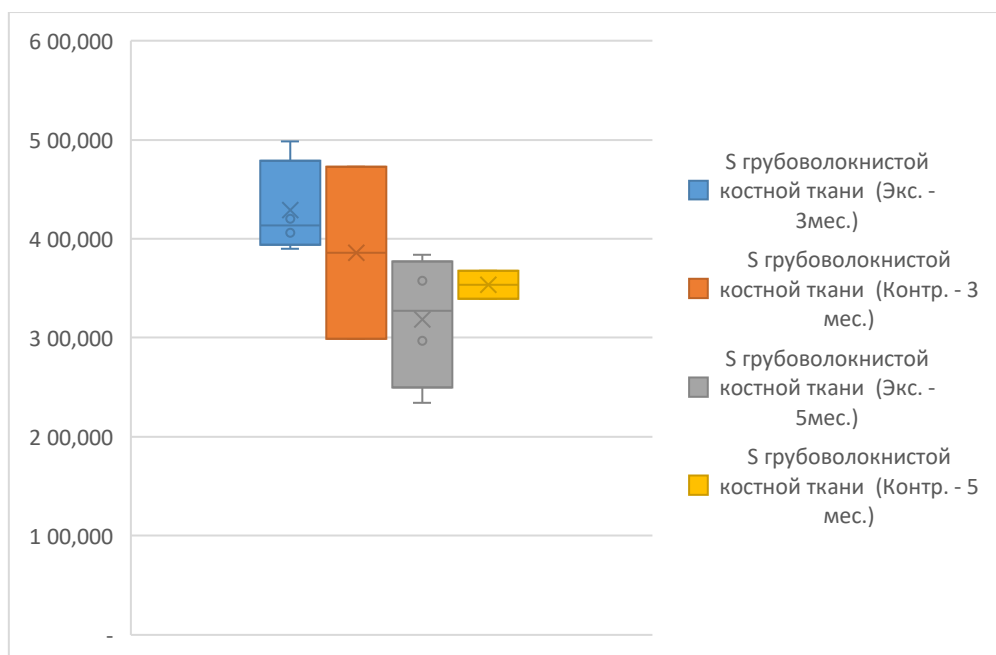
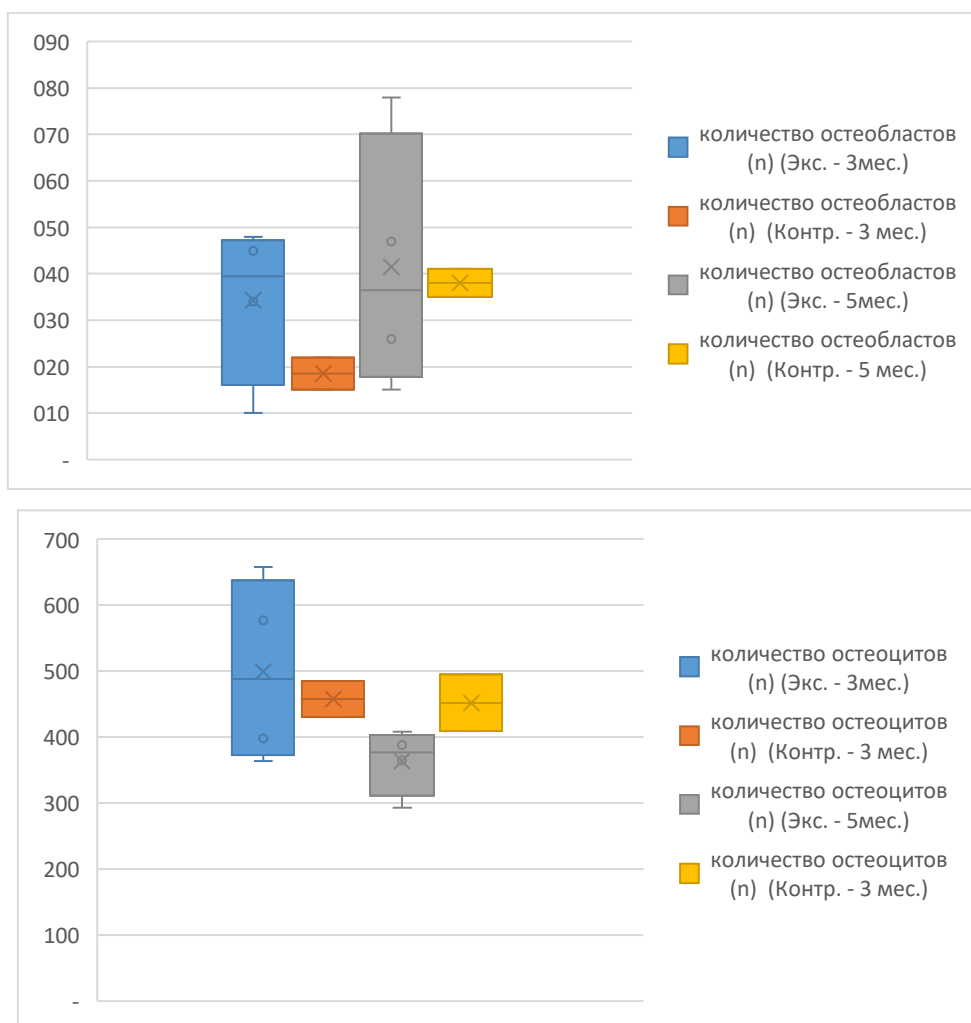
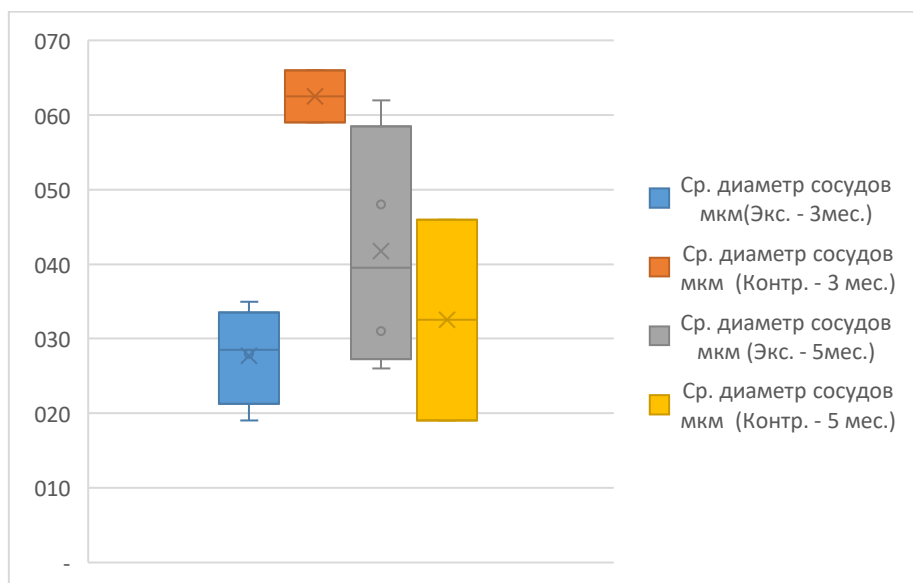
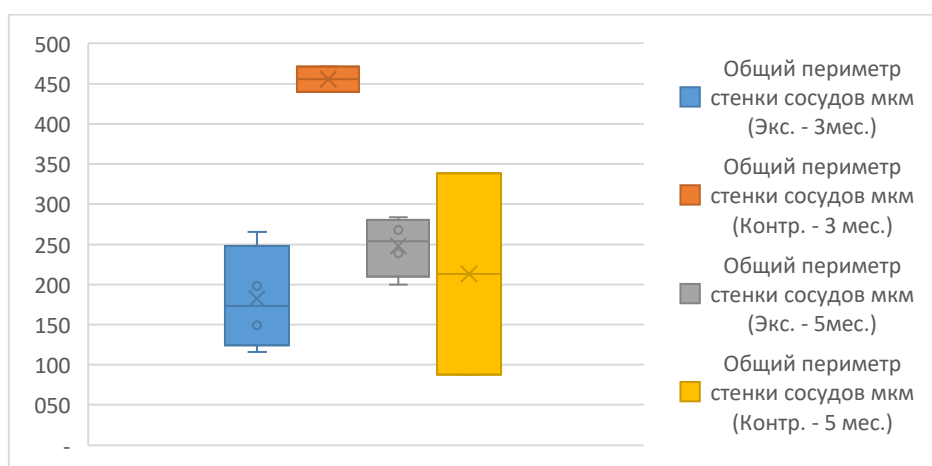
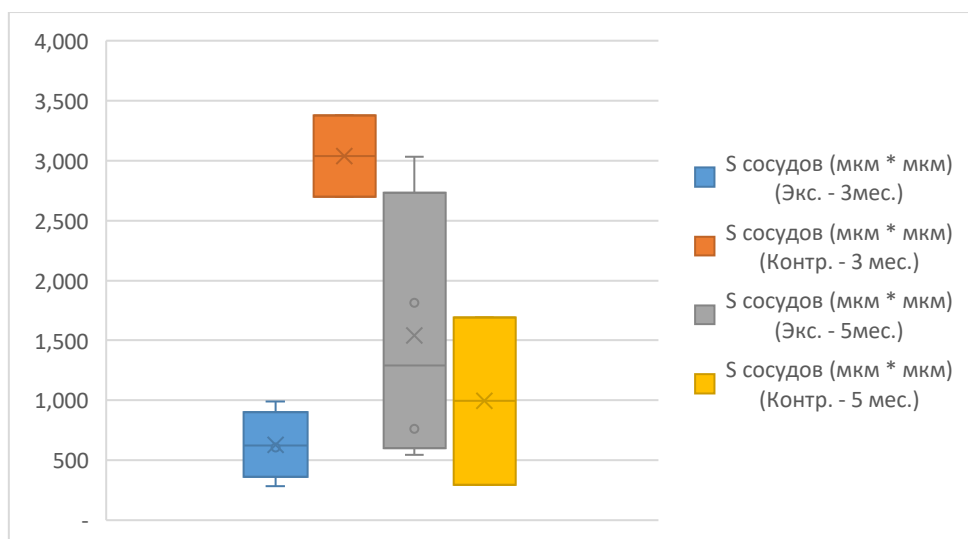


Рисунок 70 – Визуализация общих морфометрических показателей площадей различных типов костных тканей в отношении контрольных проб и из эксперимента в развитии по месяцам.

Визуализация данных общих морфометрических показателей, в зависимости от кол-ва месяцев для различных клеточных структур на рисунке 71, в виде боксплотов (ящик с усами).





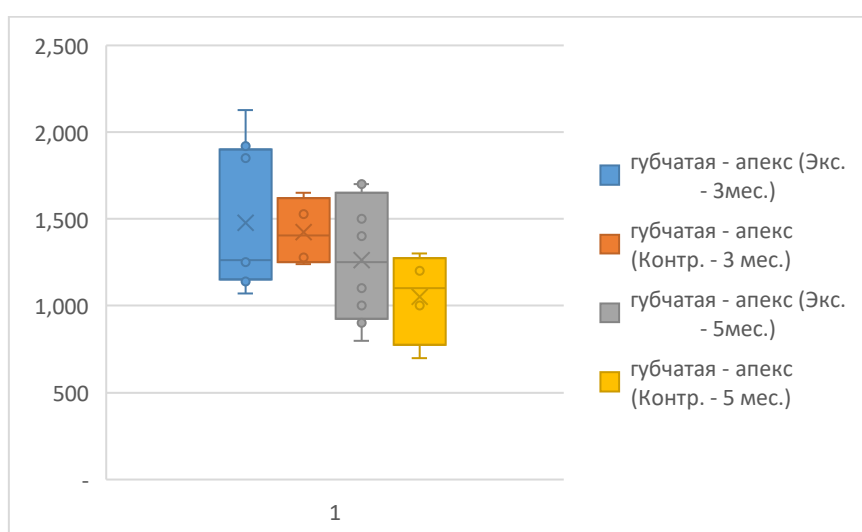
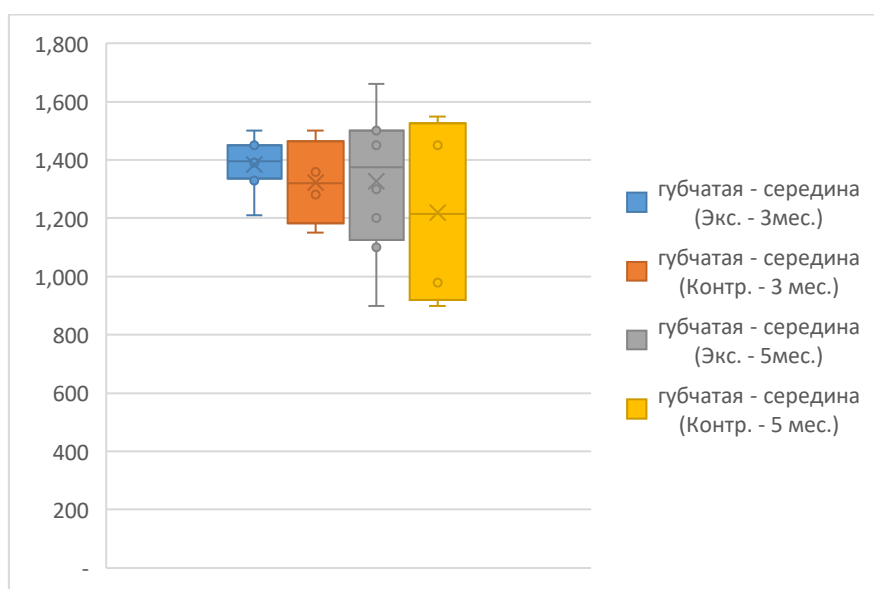
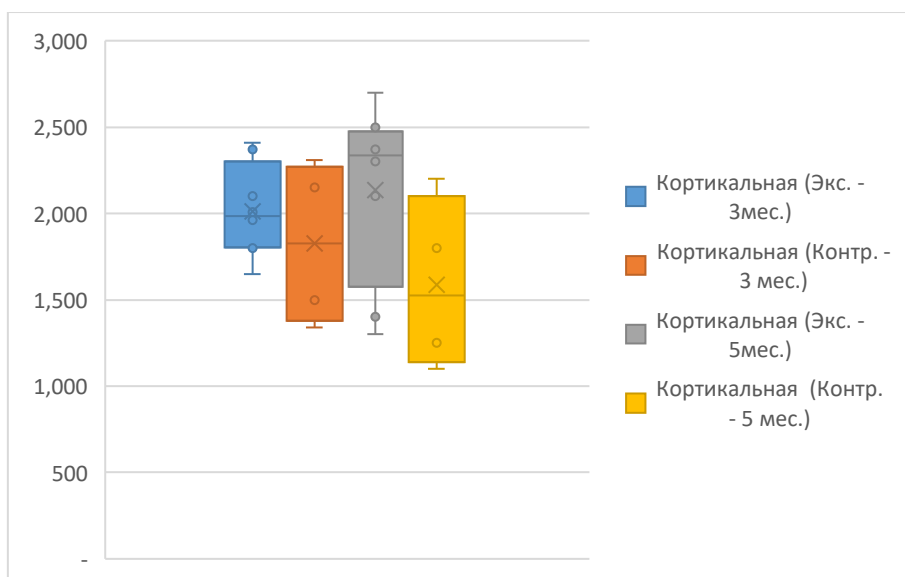


Рисунок 71 – Визуализация общих морфометрических показателей количества различных типов костных клеток. в отношении контрольных проб и из эксперимента в развитии по месяцам

Тест Шапиро-Уилка – проверка нормальности распределения данных в общей выборке

Тест Шапиро-Уилка — это статистический тест, используемый для проверки нормальности распределения данных. Он оценивает, насколько близко распределение выборки к нормальному распределению. Тест возвращает два основных значения: статистику W и p -значение.

Статистика W : Это значение, которое варьируется от 0 до 1. Чем ближе W к 1, тем более вероятно, что данные имеют нормальное распределение.

p -значение: Это значение указывает на вероятность того, что наблюдаемое распределение данных могло возникнуть из нормального распределения. Обычно используется уровень значимости $\alpha = 0.05$.

Если p -значение больше α , то нулевая гипотеза (что данные имеют нормальное распределение) не отвергается. Если p -значение меньше α , то нулевая гипотеза отвергается, и можно сделать вывод о том, что данные не имеют нормального распределения. Результаты теста Шапиро-Уилка приведены в таблице 9.

Таблица 9 – Результаты теста Шапиро-Уилка

Параметр	W	p-value
S_пластинчатой_костной_ткани_(мкм*_мкм)	0,953728811	0,691962887
S_грубоволокнистой_костной_ткани_(мкм*_мкм)	0,983651093	0,994272489
S_рыхлой_соединительной_ткани_(мкм*_мкм)	0,917956834	0,269441492
количество_остеобластов_(n)	0,929790713	0,377898914
количество_остеоцитов_(n)	0,920719216	0,291925165
S_сосудов_(мкм*_мкм)	0,858868772	0,047318755
Общий_периметр_стенки_сосудов,_мкм	0,950870085	0,649738791

Параметр	W	p-value
Ср. _диаметр _сосудов, _мкм	0,906130657	0,190276652
кортикальная	0,949012668	0,62259765
губчатая _середина	0,898904126	0,153536136
губчатая _апекс	0,968885641	0,898785595

Результаты теста Шапиро-Уилка, представленные в таблице, демонстрируют оценку нормальности распределения для различных параметров костной и соединительной тканей. Критерий Шапиро-Уилка оценивает, насколько хорошо данная выборка данных соответствует нормальному распределению. Значение W близкое к 1 указывает на то, что распределение близко к нормальному, в то время как p-value показывает вероятность получения таких или более экстремальных результатов, если данные действительно взяты из нормального распределения.

S_пластинчатой костной ткани: $W = 0.954$, $p = 0.692 \rightarrow p > 0.05$, нет оснований отвергать нормальность. Распределение совместимо с нормальным.

S_грубоволокнистой костной ткани: $W = 0.984$, $p = 0.994 \rightarrow$ явно совместимо с нормальностью.

S_рыхлой соединительной ткани: $W = 0.918$, $p = 0.269 \rightarrow p > 0.05$, нормальность не отвергается.

количество остеобластов: $W = 0.930$, $p = 0.378 \rightarrow$ нормальность не отвергается.

количество остеоцитов: $W = 0.921$, $p = 0.292 \rightarrow$ нормальность не отвергается.

S_сосудов: $W = 0.859$, $p = 0.0473 \rightarrow p < 0.05 \rightarrow$ отвергаем H_0 , статистически значимое отклонение от нормального распределения.

Общий периметр стенки сосудов: $W = 0.951$, $p = 0.650 \rightarrow$ нормальность не отвергается.

Ср. диаметр сосудов: $W = 0.906$, $p = 0.190 \rightarrow$ нормальность не отвергается.

кортикальная: $W = 0.949$, $p = 0.623 \rightarrow$ нормальность не отвергается.

губчатая_середина: $W = 0.899$, $p = 0.154 \rightarrow$ нормальность не отвергается.

губчатая_апекс: $W = 0.969$, $p = 0.899 \rightarrow$ нормальность не отвергается.

Итого: из 11 проверенных переменных только S_сосудов показывает статистически значимое отклонение от нормальности при $\alpha = 0.05$. Для остальных переменных нет оснований отвергать предположение о нормальности выборок.

Однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA)

Для проведения данного анализа было введено обозначение групп: 3 месяца и 5 месяцев. Результаты проведения данного анализа приведены в таблице 9.

Таблица 9 – Результаты однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA)

Параметр	Sum Sq	F value	p-value
s пластинчатой костной ткани мкм мкм	2448660826,1159	8,1804	0,0170
s грубоволокнистой костной ткани мкм мкм	3971666884,4085	0,6917	0,4250
s рыхлой соединительной ткани мкм мкм	14233083,5854	0,0308	0,8642
количество остеобластов n	532,8130	1,5489	0,2417
количество остеоцитов n	11805,0813	1,1913	0,3007
s сосудов мкм мкм	1975240,3984	1,7098	0,2203
общий периметр стенки сосудов мкм	40902,8374	3,6213	0,0862
ср диаметр сосудов мкм	358,5366	1,3282	0,2759
корт	283488,0081	1,4351	0,2586
губчатая середина	3870,7317	0,1109	0,7460
губчатая апекс	707,5203	0,0070	0,9349

Важно помнить, что ANOVA используется для сравнения средних значений в двух или более группах. Значимость различий определяется p-value

– чем оно меньше, тем больше оснований полагать, что между группами есть статистически значимые различия. Обычно пороговое значение p -value составляет 0.05: значения ниже этого порога считаются статистически значимыми.

Анализ результатов:

Интерпретация по переменным

1) с пластинчатой костной ткани (мкм^2)

$\text{Sum Sq} = 2\,448\,660\,826$, $F = 8.1804$, $p = 0.0170$.

Интерпретация: при $\alpha = 0.05$ статистически значимое различие средних между группами по площади пластинчатой ткани. F достаточно велико $\rightarrow$ фактор объясняет заметную часть межгрупповой вариабельности.

Дальше: требуется пост-хок анализ (Tukey HSD или парные t -тесты с поправкой), чтобы определить, какие именно пары групп отличаются. Рекомендуется также оценить эффект (η^2 или ω^2) и визуализировать средние с доверительными интервалами.

Заметка: если применить строгую Bonferroni-поправку для 11 тестов, $p = 0.017 > 0.0045 \Rightarrow$ не будет значимым; потому нужно выбрать стратегию коррекции заранее.

2) с грубоволокнистой костной ткани (мкм^2)

$\text{Sum Sq} = 3\,971\,666\,884$, $F = 0.6917$, $p = 0.4250$.

Интерпретация: нет статистических оснований утверждать различия средних между группами ($p \gg 0.05$). Несмотря на большую абсолютную Sum Sq (которая зависит и от масштаба переменной), внутригрупповая вариабельность велика, поэтому F мал.

Вывод: по этой переменной различия между группами не подтверждены.

3) с рыхлой соединительной ткани (мкм^2)

$\text{Sum Sq} = 14\,233\,083.5854$, $F = 0.0308$, $p = 0.8642$.

Интерпретация: явно нет различий между группами (p высоко). Вариация по группам мала по сравнению с общим разбросом.

4) количество остеобластов (n)

Sum Sq = 532.8130, F = 1.5489, p = 0.2417.

Интерпретация: нет значимых различий при $\alpha = 0.05$. Возможно, наблюдаемая вариабельность между группами недостаточна при данном размере выборки.

5) количество остеоцитов (n)

Sum Sq = 11 805.0813, F = 1.1913, p = 0.3007.

Интерпретация: также нет статистически значимых различий.

6) s сосудов (мкм²)

Sum Sq = 1 975 240.3984, F = 1.7098, p = 0.2203.

Интерпретация: при $\alpha = 0.05$ различия между группами незначимы. Однако ранее для этой переменной был получен результат Шапиро–Уилка с $p \approx 0.047$ (отклонение от нормальности). Нарушение нормальности может снижать корректность стандартного ANOVA — следует проверить остатки и, возможно, использовать преобразование (log) или непараметрический тест (Kruskal–Wallis).

7) общий периметр стенки сосудов (мкм)

Sum Sq = 40 902.8374, F = 3.6213, p = 0.0862.

Интерпретация: $p \sim 0.086$ — «приблизительный» или «тенденционный» эффект (trend), но не достигает стандартного порога 0.05. При более высокой мощности или при менее строгой корректировке множественных сравнений результат может стать значимым. Рекомендуется как минимум дополнительно проверить диагностически и, при интересе, рассмотреть парные сравнения с учётом корректировки.

Корреляционный анализ

Результат расчета корреляционной матрицы приведен в таблице 10 и на рисунке 72.

Таблица 10. Корреляционная матрица

s_пластинчатой_костной_ткани_мкм	s_грубоволокнистой_костной_ткани_мкм	s_рыхлой_соединительной_ткани_мкм	количество_остеообластов_n	количество_остеоцитов_n	s_сосудов_мкм	общий_периметр_стенки_сосудов_мкм	ср_диаметр_сосудов_мкм	корт	губчатая_середина	губчатая_апекс
1,0000	-0,4981	0,1753	-0,2721	-0,4133	-0,2130	-0,1534	-0,1772	0,4706	0,1292	-0,2264
-0,4981	1,0000	-0,6849	0,0693	0,5639	0,0671	-0,0665	0,0376	0,2287	-0,0806	0,7003
0,1753	-0,6849	1,0000	0,0641	-0,2048	-0,0389	0,1364	0,0035	-0,2241	-0,2049	-0,7027
-0,2721	0,0693	0,0641	1,0000	-0,0946	0,0922	-0,1754	0,0975	-0,0603	-0,0067	0,0407
-0,4133	0,5639	-0,2048	-0,0946	1,0000	-0,1438	0,0439	-0,1056	0,2156	0,0842	0,1990
-0,2130	0,0671	-0,0389	0,0922	-0,1438	1,0000	0,8770	0,9907	0,2948	-0,3752	0,1173
-0,1534	-0,0665	0,1364	-0,1754	0,0439	0,8770	1,0000	0,9016	0,2599	-0,3597	-0,1696
-0,1772	0,0376	0,0035	0,0975	-0,1056	0,9907	0,9016	1,0000	0,3534	-0,4265	0,0476
0,4706	0,2287	-0,2241	-0,0603	0,2156	0,2948	0,2599	0,3534	1,0000	-0,1999	0,0996
0,1292	-0,0806	-0,2049	-0,0067	0,0842	-0,3752	-0,3597	-0,4265	-0,1999	1,0000	0,1616
-0,2264	0,7003	-0,7027	0,0407	0,1990	0,1173	-0,1696	0,0476	0,0996	0,1616	1,0000

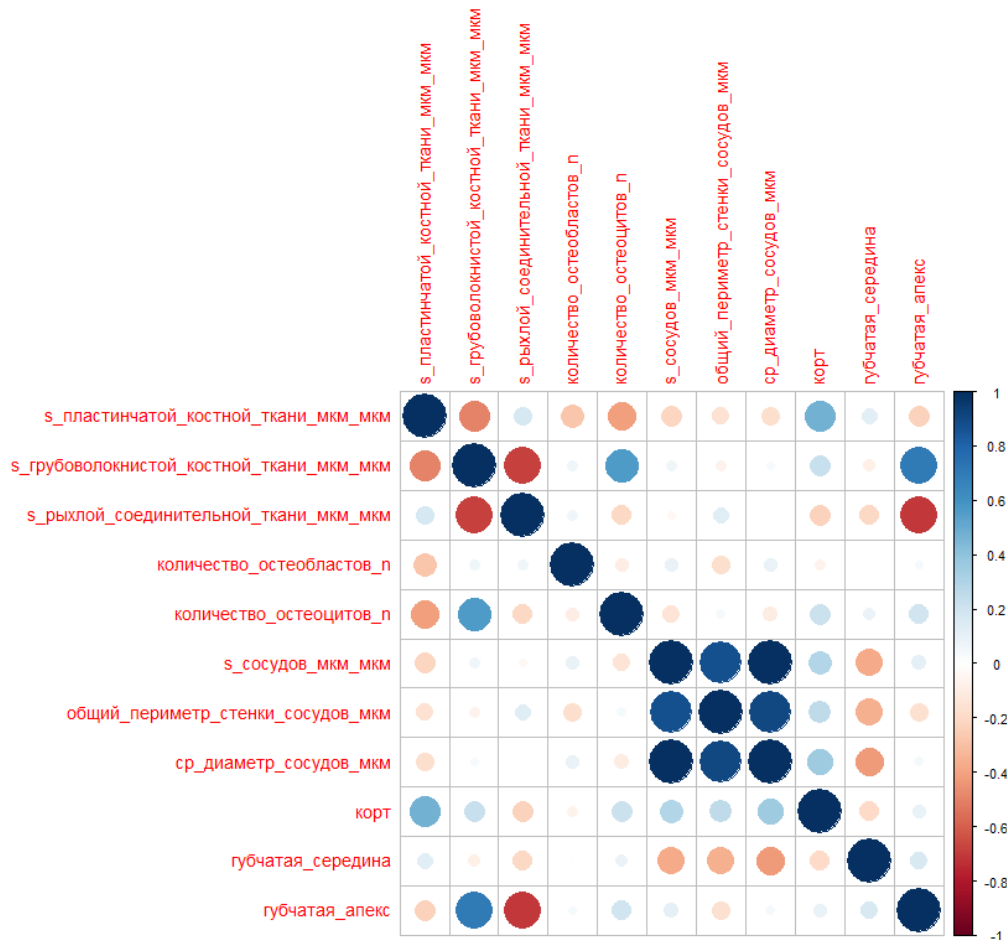


Рисунок 72 – Визуализация корреляционной матрицы.

Корреляция площади сосудов и среднего диаметра составила 0.9907, что соответствует очень высокой положительной связи.

ср_диаметр — общий периметр стенки сосудов: $r = 0.9016$ (очень высокая).

s_сосудов — общий периметр стенки сосудов: $r = 0.8770$ (очень высокая).

Интерпретация: эти три переменные почти дублируют друг друга (площадь/параметры диаметра/периметра сосуда взаимосвязаны по физическому смыслу). Для регрессионных моделей следует оставить одну переменную или объединить (PCA, композитный индекс), иначе возникнет серьёзная мультиколлинеарность (высокие VIF).

Взаимосвязи между видами тканей и областями:

s_грубоволокнистой vs губчатая_апекс: $r = 0.7003$ (очень сильная, положительная). Возможно, грубоволокнистая ткань сконцентрирована в апикальной зоне губчатой части.

s_грубоволокнистой vs s_рыхлой_соединительной: $r = -0.6849$ (очень сильная, отрицательная). Может отражать пространенное или функциональное взаимозамещение: где много грубоволокнистой — мало рыхлой соединительной и наоборот.

s_рыхлой соединительной vs губчатая_апекс: $r = -0.7027$ (очень сильная отрицательная), согласуется с предыдущей связью (рыхлая и грубая ткань — антагонисты по локализации).

s_пластинчатой (пластинчатая костная ткань):

s_пластинчатой vs s_грубоволокнистой: $r = -0.4981$ (умеренно сильная отрицательная) — возможно противопоставление пластинчатой и грубоволокнистой ткани.

s_пластинчатой vs корт (кортикальная): $r = 0.4706$ (умеренная положительная) — больше пластинчатой ткани в кортикальной области, логично биологически.

s_пластинчатой vs количество остеоцитов: $r = -0.4133$ (умеренная отрицательная) — интересный признак: в областях с большей площадью пластинчатой ткани может быть меньше остеоцитов или наоборот (нужна проверка).

2) Другие заметные (умеренные/слабые) связи

количество остеоцитов vs s_грубоволокнистой: $r = 0.5639$ (сильная положительная). В сочетании с предыдущим — остециты чаще ассоциируются с грубоволокнистой тканью, а не с пластинчатой.

s_сосудов vs губчатая_середина: $r = -0.3752$ (умеренная отрицательная) — возможно, плотность/площадь сосудов снижается в средней части губчатой зоны.

губчатаясередина vs срдiameter/периметр сосудов: отрицательные связи (-0.4265 с ср_диаметром и ~ -0.36 с периметром) — укладывается в ту же картину: в средней губчатой области сосудистые параметры меньше.

Биологическая интерпретация (гипотезы)

Данные указывают на пространное/функциональное разделение тканей: грубоволокнистая ткань ассоциируется с апексом губчатой части и большим числом остеоцитов; пластинчатая — с кортикальной областью и меньшим числом остеоцитов. Это может отражать различия в ремоделировании, возраста ткани или локальной микроархитектонике.

Сосудистые параметры сильно взаимосвязаны между собой и имеют отрицательные связи с некоторыми губчатыми зонами, что может сигнализировать о региональных отличиях сосудистого кровоснабжения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках настоящего диссертационного исследования была реализована комплексная лабораторно-экспериментальная программа, включающая теоретический анализ, *in vitro*-исследования, микробиологические тесты и эксперимент *in vivo*. Целью работы являлось повышение остеогенного потенциала дентальных имплантатов путём разработки и лабораторно-экспериментального обоснования применения их покрытия рекомбинантным костным морфогенетическим белком-2 (BMP-2).

На первом этапе исследования был выполнен системный анализ отечественных и зарубежных научных источников, охватывающий период с 1994 по 2024 год. Поиск осуществлялся в базах данных eLIBRARY, PubMed, Scopus, РГБ диссертаций и патентных источниках. Из 181 проанализированного литературного источника 39 соответствовали критериям включения и были подвергнуты углублённому анализу. Полученные данные позволили обосновать выбор рекомбинантного BMP-2 как одного из наиболее изученных и клинически перспективных остеоиндуктивных факторов, обладающего способностью активировать дифференцировку мезенхимальных клеток в остеобластический ряд, усиливать ангиогенез и ускорять формирование зрелого костного матрикса.

Вторая задача исследования была направлена на разработку методики нанесения рекомбинантного BMP-2 на поверхность дентальных имплантатов. В работе использованы имплантаты из коммерчески чистого титана Ti Grade 4 (ASTM F67) с SLA-поверхностью, диаметром 3,5 мм и длиной 10 мм. Получение рекомбинантного BMP-2 и метод его иммобилизации на поверхности имплантатов осуществлялись на основе патентного решения RU 2781921 C1. Расчётная нагрузка белка на поверхность имплантата составила 0,5–2,0 мкг/см², что эквивалентно приблизительно 1–5 мкг BMP-2 на один

имплантат, и соответствует биологически активному диапазону, описанному в литературе, при минимизации риска дозозависимых побочных эффектов.

В рамках лабораторных токсикологических исследований *in vitro* установлено, что имплантаты с покрытием BMP-2 не оказывают цитостатического и цитотоксического воздействия на клетки моноцитарной линии THP-1. По результатам МТТ-теста статистически значимых различий между группами имплантатов с покрытием и без покрытия выявлено не было ($p > 0,05$), тогда как контрольная группа без имплантатов демонстрировала достоверно отличающиеся показатели жизнеспособности клеток. Анализ апоптоза методом проточной цитометрии с окрашиванием пропидиум-йодидом показал отсутствие значимых различий в проценте апоптотических клеток между исследуемыми группами ($p > 0,05$), что свидетельствует о биологической безопасности разработанного покрытия. В то же время отмечено достоверное увеличение доли CD45-положительных клеток в группе имплантатов с покрытием BMP-2 ($p < 0,05$), что может отражать активацию клеточного ответа без признаков повреждения или гибели клеток.

Микробиологические исследования показали, что все тест-микроорганизмы (*E. coli* ATCC 25982, *S. aureus* ATCC 6538, *C. albicans* CTC885-653, *S. mutans* 3003, *S. mitis* NCTC 10712, *P. aeruginosa* B-8243) демонстрировали остаточную адгезию как к контрольным, так и к опытным образцам имплантатов. Максимальные значения индекса остаточной адгезии были характерны для *S. mutans* (74,9–76,9 %) и *S. mitis* (72–75 %), минимальные — для *E. coli* (11,3–13,1 %) и *P. aeruginosa* (15,1–19,8 %). При сравнении опытных и контрольных образцов статистически значимых различий по показателям остаточной адгезии выявлено не было ($p > 0,05$), что указывает на отсутствие проадгезивного эффекта BMP-2 и подтверждает микробиологическую нейтральность покрытия.

Экспериментальные исследования *in vivo* были проведены на модели дентальной имплантации у овец. Всего в эксперименте использовано 4

животных, каждому из которых было установлено по три имплантата (два опытных с покрытием ВМР-2 и один контрольный). Животные выводились из эксперимента через 3 и 5 месяцев после операции. По данным конусно-лучевой компьютерной томографии установлено, что оптическая плотность костной ткани в периимплантатной зоне варьировала в зависимости от зоны измерения и группы. В опытной группе через 3 месяца показатели плотности крестальной кости достигали 2010–2410 HU, апикальной — до 1850–1920 HU, тогда как в контрольной группе соответствующие значения были ниже и составляли 1340–2310 HU и 1140–1650 HU соответственно. Через 5 месяцев в опытной группе отмечено дальнейшее увеличение плотности крестальной кости до 2500–2700 HU, тогда как в контрольных образцах сохранялась выраженная вариабельность и более низкие средние значения.

Гистологические и морфометрические исследования подтвердили рентгенологические данные. В контрольной группе на сроках 3 и 5 месяцев преобладала грубоволокнистая костная ткань (до 91–92 % площади), с ограниченными участками пластинчатой кости (3–8 %) и сохраняющимися зонами рыхлой соединительной ткани. В опытной группе доля пластинчатой костной ткани была выше и достигала 9–14 % через 3 месяца и до 24 % через 5 месяцев, при одновременном снижении доли рыхлой соединительной ткани до 1–7 %. Морфометрические данные также указывали на более высокую плотность сосудистого русла и увеличение среднего диаметра сосудов в опытной группе, что свидетельствует об активизации ангиогенеза.

Иммуногистохимическое исследование показало, что экспрессия SPARC (остеонектина) и остеопонтина в опытной группе была умеренной и выраженной уже через 3 месяца, а через 5 месяцев приобретала ярко выраженный характер, локализуясь в остеобластах, остеоцитах и внеклеточном матриксе. В контрольной группе экспрессия указанных маркеров оставалась слабой или умеренной и свидетельствовала о замедленном формировании и созревании костного матрикса.

По результатам конусно-лучевой компьютерной томографии, гистологического исследования, морфометрического анализа и на основе статистического анализа, можно заключить, что остеоинтеграция вокруг всех частей ложа имплантата в образцах контрольных животных на протяжении всего времени эксперимента (3 и 5 месяцев) проходила неравномерно. Новообразованная костная ткань в большей степени выражена обширными участками грубоволокнистой костной ткани, небольшими участками пластинчатой костной ткани и рыхлой соединительной ткани, что указывает на активно протекающие процессы остеогенеза вплоть до 5 месяцев эксперимента. Вместе с тем выявленная гистологическая картина указывает на протекание еще не завершенных процессов остеогенеза, что также подтверждается морфометрическими исследованиями и наличием остеобластов и большого числа остеоцитов с выраженными отростками в канальцах в формирующихся остеонах и балках грубоволокнистой соединительной ткани. Также встречаются небольшие очаги рыхлой соединительной ткани, обширные участки грубоволокнистой костной ткани, представленной молодыми коллагеновыми волокнами.

По результаты иммуногистохимического исследования экспрессия SPARC (остеонектин) и остепонтина вокруг всех частей ложа, прилегающих к виткам установленного имплантата у животных контрольной группы через три месяца после операции, указывают на слабое формирование и созревание костного матрикса, слабо выраженную фазу костного ремоделирования, хемотаксиса клеток и процесса минерализации новообразованного остеоида. Через пять месяцев после операции активируются процессы формирования костного матрикса, но вместе с тем выявлены вяло протекающие процессы костного ремоделирования, хемотаксиса клеток и минерализации новообразованного остеоида.

Результаты конусно-лучевой компьютерной томографии, гистологического исследования, морфометрического анализа и

статистического анализа показывают, что остеоинтеграция вокруг всех частей ложа имплантата в опытных образцах на протяжении всего времени эксперимента (3 и 5 месяцев) также проходила неравномерно. Новообразованная костная ткань в большей степени выражена обширными участками грубоволокнистой костной ткани, небольшими участками пластинчатой костной ткани и рыхлой соединительной ткани. Однако следует отметить увеличение процента пластинчатой костной ткани по сравнению с контрольными образцами, уплотнение коллагеновых волокон в грубоволокнистой костной ткани и образующихся костных балках. У животных опытной группы остеоинтеграция проходила более активно по сравнению с контрольными животными, наиболее часто массив новообразованной костной ткани заполнял промежутки между выступающими частями имплантата. Вместе с тем процесс остеоинтеграции достаточно далек от завершения в течение 5 месяцев эксперимента.

По результатам иммуногистохимического исследования экспрессия SPARC (остеонектин) и остепонтина вокруг всех частей ложа, прилегающих к виткам установленного имплантата у животных опытной группы через три месяца после операции, указывают на активно протекающие процессы формирования и созревания костного матрикса, слабо выраженную фазу костного ремоделирования, хемотаксиса клеток и процесса минерализации новообразованного остеоида. Через пять месяцев после операции активно протекают процессы формирования костного матрикса, костного ремоделирования, хемотаксиса клеток и процесса минерализации новообразованного остеоида.

Таким образом, сопоставление результатов всех этапов исследования позволяет сделать вывод о том, что разработанное покрытие дентальных имплантатов рекомбинантным BMP-2 является биологически безопасным, не усиливает микробную адгезию и достоверно способствует активации остеогенеза, ангиогенеза и процессов костного ремоделирования. Несмотря на

то что процессы остеоинтеграции в экспериментальных условиях не были полностью завершены в течение 5 месяцев, в опытной группе они протекали более интенсивно и организованно по сравнению с контрольными образцами.

Применение биоактивного покрытия дентальных имплантатов на основе рекомбинантного BMP-2 повышает остеогенный потенциал периимплантатной костной ткани, улучшает структурную организацию и минерализацию костного матрикса и может рассматриваться как перспективное направление повышения эффективности дентальной имплантации, особенно в условиях сниженного остеогенного потенциала.

ВЫВОДЫ:

1. В результате анализа научных источников установлено, что рекомбинантный человеческий BMP-2 (rhBMP-2) является оптимальным остеоиндуктивным фактором для модификации поверхности дентальных имплантатов, поскольку при локальной низкодозированной фиксации на SLA-поверхности (0,5–2,0 мкг/см²) он обеспечивает достоверное повышение показателей остеоинтеграции при сохранении биологической безопасности, что обосновывает целесообразность его применения в составе покрытий дентальных имплантатов.

2. Имплантаты с покрытием рекомбинантным BMP-2 не проявляют цитотоксического и проапоптотического действия *in vitro* и характеризуются высокой биосовместимостью.

3. Индексы остаточной адгезии микроорганизмов на имплантатах с покрытием BMP-2 находились в пределах 11,34 % для штамма *Escherichia coli*, 75,0 % для *Streptococcus mitis* NCTC 10712 и *Streptococcus mutans* 3003, тогда как на контрольных образцах без покрытия данный показатель составлял от 13,1 % до 76,9 % соответственно, при отсутствии статистически значимых различий между группами ($p > 0,05$).

4. В эксперименте *in vivo* показано, что дентальные имплантаты с экспериментальным покрытием обеспечивают формирование костной ткани вокруг имплантатов с более высокой степенью структурной организации с увеличением объема пластинчатой костной ткани до 11–24 % на сроках 3 и 5 месяцев против 5–8 % в группе без покрытия ($p < 0,05–0,01$).

5. Иммуногистохимически показано, что в тканях вокруг имплантатов с экспериментальным покрытием отмечается более ранняя и интенсивная экспрессия SPARC и остеопонтинина на сроках 3 и 5 месяцев, достоверно превышающая контрольные показатели ($p < 0,05–0,01$), что отражает активацию процессов формирования, ремоделирования и минерализации костного матрикса.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ:

1. Дентальные имплантаты с экспериментальным биоактивным покрытием целесообразно рекомендовать для применения в клинической практике у пациентов с пониженным остеогенным потенциалом, включая лиц с остеопенией, возрастными изменениями костной ткани и метаболическими нарушениями.
2. Использование имплантатов с экспериментальным покрытием рекомендуется при проведении дентальной имплантации в условиях сниженной минеральной плотности костной ткани (типы D3–D4 по Misch) с целью повышения качества и предсказуемости остеоинтеграции.
3. Для объективной оценки эффективности остеоинтеграции имплантатов с биоактивным покрытием целесообразно включать в протокол наблюдения методы конусно-лучевой компьютерной томографии с количественной оценкой плотности костной ткани в периимплантатной зоне.
4. При научных и экспериментальных исследованиях остеоинтеграции дентальных имплантатов рекомендуется использовать комплексный подход, включающий морфологические, морфометрические и иммуногистохимические методы, позволяющие объективно оценить динамику костного ремоделирования.
5. Полученные экспериментальные данные целесообразно учитывать при разработке и оптимизации новых биоактивных покрытий дентальных имплантатов, направленных на стимуляцию остеогенеза и ускорение процессов остеоинтеграции.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ACS** — абсорбируемая коллагеновая губка (Absorbable Collagen Sponge)
- ALP** — щелочная фосфатаза (Alkaline Phosphatase)
- BMP** — костный морфогенетический белок (Bone Morphogenetic Protein)
- BMP-2 (BMP-2)** — костный морфогенетический белок 2
- BMP-7 (BMP-7)** — костный морфогенетический белок 7
- BIC** — контакт кость–имплантат (Bone–Implant Contact)
- CDC** — Центры по контролю и профилактике заболеваний США (Centers for Disease Control and Prevention)
- CPC** — кальций-фосфатный цемент (Calcium Phosphate Cement)
- FGF** — фактор роста фибробластов (Fibroblast Growth Factor)
- FGF-2** — фактор роста фибробластов 2
- GAP** — гидроксиапатит
- HA/TCP** — гидроксиапатит / трикальцийфосфат
- IGF** — инсулиноподобный фактор роста (Insulin-like Growth Factor)
- IGF-I, IGF-II** — инсулиноподобные факторы роста I и II
- IL-6, IL-10** — интерлейкины 6 и 10
- MMCK** — мезенхимальные мультипотентные стволовые клетки
- PDGF** — тромбоцитарный фактор роста (Platelet-Derived Growth Factor)
- PEG** — полиэтиленгликоль
- PLGA** — полимолочная-ко-гликолевая кислота
- PRP** — плазма, обогащённая тромбоцитами (Platelet-Rich Plasma)
- RGD** — аргинин-глицин-аспарагиновая пептидная последовательность
- rhBMP-2** — рекомбинантный костный морфогенетический белок 2 человека
- Runx-2** — транскрипционный фактор остеогенной дифференцировки
- SDCEP** — Шотландская программа клинической эффективности стоматологии
- TGF- β** — трансформирующий фактор роста β
- TNF- α** — фактор некроза опухоли α

VEGF — сосудистый эндотелиальный фактор роста

ВНЧС — височно-нижнечелюстной сустав

ВОЗ — Всемирная организация здравоохранения

ЗЧС — зубочелюстная система

КМБ — костный морфогенетический белок

ЦНС — центральная нервная система

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аккужин И.М., Амхадова М.А., Хамраев Т.К. Планирование дентальной имплантации в условиях дефицита костной ткани и профилактика послеоперационных осложнений (обзор литературы) // Медицинский алфавит. 2020. № 23. С. 9-15.
2. Алейникова Е.В., Шабанович А.Б. Современная концепция остеointеграции дентальных имплантантов // Мед. журн. 2006. № 4. С. 26–28.
3. Асфаров Т.Ф.о. Разработка остеопластического биоматериала с остеоиндуктивными свойствами для замещения костных дефектов челюстей: экспериментальное исследование: дисс. ... канд. мед. наук: 3.1.7. – Москва, 2024. – 111 с.
4. Бардонова Л.А., Белых Е.Г., Giers M.B., и др. Пролиферативная активность здоровых и дегенерированных клеток межпозвонкового диска *in vitro* при воздействии костных морфогенетических протеинов: возможности для клеточной терапии // Соврем. технол. мед. 2018. №2. С. 76-82.
5. Бартов М.С. Новые биотехнологические подходы к созданию остеоиндуктивных материалов на основе белка rhBMP-2, полученного микробиологическим синтезом в *Escherichia coli*: дисс. ... канд. биолог. наук: 03.01.06. – Москва, 2015. – 138 с.
6. Бозо И.Я. Разработка и применение ген-активированного остеопластического материала для замещения костных дефектов: дисс. ... канд. мед. наук: 03.03.04, 14.01.14. – Москва, 2017. – 191 с.
7. Бозо И.Я., Рожков С.И., Комлев В.С., Воложин Г.А., и др. Сравнительная оценка биологической активности генактивированных остеопластических материалов из октакальциевого фосфата и плазмидных ДНК, несущих гены VEGF и SDF: часть 2 - *in vivo* // Гены и клетки. 2017. Т. 12. №4. С.39-46.
8. Бозо, И.Я., Юрьева К., Дробышев А.Ю., Рожков С.И. Сравнительная оценка биологической активности генактивированных остеопластических

материалов из октакальциевого фосфата и плазмидных ДНК, несущих гены VEGF и SDF: часть 1 - *in vitro* // Гены и клетки. 2016. Т. 11. №4. С. 34-42.

9. Болтаев К.Ж., Мадарипова Д.А. Возрастные аспекты метаболизма микроэлементов у лиц старческого и пожилого возраста (обзор литературы) // Вестник науки и образования. 2020. №24-2 (102). С. 48-57.

10. Василевский С.А. Профилактика патологических окклюзионных взаимоотношений зубных рядов у пациентов, находящихся на ортодонтическом лечении: дисс. ... канд. мед. наук: 14.01.14. – Смоленск, 2011. – 85 с.

11. Ваулина Д.С. Возможности и ограничения применения хирургических шаблонов для дентальной имплантации: дисс. ... канд. мед. наук: 3.1.7. – Москва, 2024. – 170 с.

12. Волков А.В. Морфология репаративного остеогенеза и остеointеграции в челюстно-лицевой хирургии: дисс. ... докт. мед. наук: 14.03.02. – Москва, 2018. – 261 с.

13. Воложин Г.А. Разработка и внедрение комплексного тканеинженерного и биотехнологического подхода для реконструкции костной ткани челюстей дисс. ... докт. мед. наук: 3.1.7. – Москва, 2023. – 237 с.

14. Гайфуллин Н.М., Карягина А.С., Громов А.В., и др. Морфологические особенности остеointеграции после установки титановых имплантатов с биоактивным покрытием и рекомбинантным костным морфогенетическим белком // Морфология. 2016. № 149(1). С. 77-84.

15. Григорьян А.С., Топоркова А.К. Проблемы интеграции имплантатов в костную ткань [теоретические аспекты]. – М.: Техносфера, 2007. – 128 с.

16. Гусева В.М., Яковлев О.Г., Захарова Н.О., Курмаев Д.П. Нарушения минерального обмена и артериальная ригидность у пациентов

старческого возраста с хронической болезнью почек в сочетании с сердечно-сосудистой патологией // СМЖ. 2013. №2. С. 82-87.

17. Давыдова М.М., Плахтий Л.Я., Царев В.Н. Экспериментальные методы изучения адгезии микроорганизмов к стоматологическим материалам. Микробиология, вирусология и иммунология полости рта. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013; Микробиология, вирусология и иммунология полости рта : учеб. / [Царев В. Н. и др.] ; под ред. В. Н. Царева. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. - 576 с.

18. Давыдова М.М., Плахтий Л.Я., Царев В.Н. Экспериментальные методы изучения адгезии микроорганизмов к стоматологическим материалам. Микробиология, вирусология и иммунология полости рта. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013.

19. Дорофейчик-Дрыгина Н.А., Дрыгина Л.Б. Снижение минеральной плотности костной ткани и состояние зубочелюстной системы: клинические параллели // Медицинский алфавит. 2018. № 2(31). С. 50-53.

20. Драгунова С.Г. Клинико-экспериментальное исследование физиологических аспектов стрессовых реакций при проведении синус-лифтинга и дентальной имплантации: дисс. ... канд. мед. наук: 3.1.7. – Москва, 2024. – 133 с.

21. Дьячкова Е.Ю. Реабилитация пациентов с потерей зубов на фоне нарушений минерального обмена при дефиците витамина D3 посредством протезирования с опорой на дентальные имплантаты: дисс. ... канд. мед. наук: 3.1.7., 3.1.19. – Москва, 2024. – 199 с.

22. Дьячкова Е.Ю. Реабилитация пациентов с потерей зубов на фоне нарушений минерального обмена при дефиците витамина D3 посредством протезирования с опорой на дентальные имплантаты: автореф. к дисс. ... канд. мед. наук: 3.1.7., 3.1.19. – Москва, 2025. – 48 с.

23. Дьячкова Е.Ю., Трифонова Д. О., Ибадулаева М. О., и др. Влияние дефицита витамина d на состояние зубочелюстной системы: обзорная статья // Остеопороз и остеопатии. 2021. №1. С. 19-25.
24. Злокачественные новообразования в России... (Заболеваемость и смертность), [Стат. сб.]. ...в 2016 году. – М.: Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ "НМИЦ радиологии" Минздрава России, 2018. – 249 с.
25. Иванов А.С. Основы дентальной имплантологии: учебное пособие. — 2-е изд., стер. – СПб.: СпецЛит, 2013. – 63 с.
26. Иванов П.В., Макарова Н.И., Булкина Н.В., Зюлькина Л.А. Современные представления об остеоинтеграции дентальных имплантатов (обзор литературы) // Известия вузов. Поволжский регион. Медицинские науки. 2018. №4 (48). С. 191-202.
27. Иващенко С.В., Альбисса Д. Способы улучшения остеоинтеграции дентальных имплантатов // Военная медицина. 2018. № 1(46). С. 89-94.
28. Казиева И.К. Клинико-экспериментальное обоснование к использованию ингибитора резорбции костной ткани на основе растительных флавоноидов при дентальной имплантации: дисс. ... канд. мед. наук: 14.01.14. – Волгоград, 2014. – 97 с.
29. Кирилова И.А., Майбородин И.В., Майбородина В.И., и др. Морфологические результаты внутрикостной остеоинтеграции титановых имплантатов с Ag- И Zn – содержащими кальцийфосфатными покрытиями // Травматология и ортопедия России. 2025. Т. 31. №1. С. 1-13.
30. Конев В.А., Лабутин Д.В., Божкова С.А. Экспериментальное обоснование клинического применения стимуляторов остеогенеза в травматологии и ортопедии (обзор литературы) // Сибирское медицинское обозрение. 2021. № 4. С. 5-17.

31. Котенко М. В. Особенности морфологии периимплантатных тканей при имплантации дентальных устройств в лунку удаленного зуба // Сибирский медицинский журнал. 2010. № 2. С. 53–56.
32. Кузнецова В.С., Васильев А.В., Бухарова Т.Б. и др. Безопасность и эффективность применения морфогенетических белков кости 2 и 7 в стоматологии // Стоматология. 2019. Т. 98, № 1. С. 64-69.
33. Кулаков А.А., Каспаров А.С., Порфенчук Д.А. Факторы, влияющие на остеоинтеграцию и применение ранней функциональной нагрузки для сокращения сроков лечения при дентальной имплантации // Стоматология. 2019. № 98(4). С. 107-115.
34. Майбородин И.В., Шевела А.А., Тодер М.С., Шевела А.И. Современные тенденции выбора и обработки материалов для дентальной имплантации // Стоматология. 2018. № 97(4). С. 68-76.
35. Майка О.Ю., Кавалерова Д.А., Букатин М.В. Морфологические особенности остеоинтеграции титановых имплантатов с биологическим покрытием и факторами роста // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2012. № 1. С. 116-117
36. Монаков Д.В. Клинико-функциональное обоснование применения дентального внутрикостно-накостного имплантата в условиях дефицита костной ткани челюстей: дисс. ... канд. мед. наук: 14.01.14. – Самара, 2018. – 157 с.
37. Муминов А.М. Технологические преимущества параллелофрезера в современной дентальной имплантологии // Universum: медицина и фармакология. 2024. №9 (114). С. 8-12.
38. Мураев А. А., Мурзабеков А. И., Иванов С. Ю. и др. Модификация поверхности дентальных имплантатов с помощью плазменного электролитического оксидирования // Современные технологии в медицине. 2023. Т. 15, № 3. С. 18-25.

39. Мурзабеков А.И., Мураев А.А., Мухаметшин Р.Ф., и др. Результаты применения дентальных имплантатов ИРИС с поверхностью, модифицированной методом плазменного электролитического оксидирования // Медицинский алфавит. 2024. № 1. С. 77-82.
40. Мухаметов У.Ф. Люлин С.В., Борзунов Д.Ю. и др. Клиническое применение костных морфогенетических белков BMP-2 и BMP-7: анализ текущих клинических испытаний // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. 2023. Т. 15, № 1. С. 5-20
41. Омаров Т.В., Жусев А.И., Ломакин М.В. Результаты клинического использования дентальных имплантатов с модифицированной биоактивной поверхностью // Российская стоматология. 2018. № 11(3). С. 13-17.
42. Осидак К.О. Контролируемое высвобождение фактора роста костной ткани rhBMP-2 из коллагенсодержащего имплантируемого материала и его влияние на иммунную систему: дисс. ... канд. биолог. наук: 14.03.09, 03.01.02 / Осидак Егор Олегович – Москва, 2014. – 127 с.
43. Павлова Л.А. Павлова Т.В., Нестеров А.В. Современное представление об остеоиндуктивных механизмах регенерации костной ткани. Обзор состояния проблемы // Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация. 2010. № 10 (81). С. 1-7.
44. Параскевич В.Л. Дентальная имплантология: Основы теории и практики. – 2-е изд. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2011. – 400 с.
45. Поройский С. В., Михальченко Д.В., Ярыгина Е. Н., и др. К вопросу об остеоинтеграции дентальных имплантатов и способах ее стимуляции // Вестник ВолГМУ. 2015. №3 (55). С. 6-9
46. Рожинская Л.Я. Концепция качества кости: влияние на параметры качества кости антирезорбтивных препаратов // Остеопороз и остеопатии. 2003. №3. С. 25-29.

47. Рошин Е.М. Остеоинтеграция дентальных имплантатов при системных нарушениях минерального обмена: мультидисциплинарный подход // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и Технические Науки. 2024. №09. С. 197-201.

48. Рыбалко А.С. Патолофизиологическое обоснование прогноза исхода дентальной имплантации на основании оценки цитологического статуса прилежащих тканей: дисс. ... канд. мед. наук: 3.3.3.; 3.1.7. – Москва, 2023. – 120 с.

49. Садилина С.В. Обоснование различных методов костной пластики альвеолярного отростка верхней челюсти и альвеолярной части нижней челюсти при подготовке к протезированию зубов: дисс. ... канд. мед. наук: 14.01.14. – Санкт-Петербург, 2019. – 194 с.

50. Семенов П.С. Использование костного морфогенетического белка 2 для стимуляции остеорегенерации // Вестник ВолГУ. Серия 9: Исследования молодых ученых. 2013. №11. С. 81-83.

51. Сергеев Ю.А. Обоснование биотехнических характеристик конусного дентального имплантата из высоколегированного сплава титана: экспериментальное исследование: автореф. дисс. ... канд. мед. наук: 3.1.7. – Москва, 2023. – 25 с.

52. Старикова С.Л. Влияние анодного окисления на пассивацию имплантата и протеза // Вестник проблем биологии и медицины. 2013. № 2(1). С. 297-299.

53. Степанов А. Г., Апресян С. В., Начарьян Э. Г., Копылов М. В., Маркин В. А. Влияние покрытия костным морфогенетическим белком 2 поверхности дентального имплантата на его остеогенерацию . Проблемы стоматологии. 2025; 1: 142-147. DOI: 10.18481/2077-7566-2025-21-1-142-147.

54. Степанов А.Г., Апресян С.В., Гизингер О.А., Начарьян Э.Г., Копылов М.В. Оценка микробной адгезии тест-культур на поверхности образцов конструкционного материала для производства дентальных

имплантатов с нанесенным покрытием костного морфогенетического белка-2. Проблемы стоматологии. 2025; 2: 113-117. DOI: 10.18481/2077-7566-2025-21-2-113-117.

55. Степанов А.Г., Апресян С.В., Начарьян Э.Г., Копылов М.В., Казарян Г.Г., Джуманиязова Э.Д., Карягина В.Е. Оценка цитотоксичности ВМР-2 в составе покрытия дентальных имплантатов в эксперименте *in vitro* // Российский стоматологический журнал. - 2025. - Т. 29. - №3. - С. 210-218. doi: [10.17816/dent654080](https://doi.org/10.17816/dent654080)

56. Сучков Д.И. Морфологические особенности остеогенеза при использовании гранул скелета натурального коралла в эксперименте: дисс. ... канд. мед. наук: 03.03.04. – Москва, 2019. – 144 с.

57. Тарба И.И. Замещение костных дефектов челюстных костей посредством применения разработанной тканеинженерной конструкции. Клинико-экспериментальное исследование: автореф. дисс. ... канд. мед. наук: 3.1.7. – Москва, 2023. – 24 с.

58. Усатов Д.А. Экспериментальное обоснование применения материалов из сверхэластичного никелид титана для заполнения остаточных костных полостей в челюстно-лицевой хирургии: дисс. ... канд. мед. наук: 14.01.14. – Москва, 2018. – 109 с.

59. Ущаповская Н.К., Приходько К.В., Остапович А.А. Методы стимуляции остеоинтеграции дентальных имплантов // Вектор молодежной медицинской науки. 2024. № 2. С. 141-147.

60. Федорова М.З., Надеждин С.В., Семихин А.С., и др. Экспериментальная оценка композиционного материала на основе белково-минеральных компонентов и рекомбинантного костного морфогенетического белка-2 в качестве покрытия титановых имплантатов // Травматология и ортопедия России. 2011. №2. С. 101-106.

61. Фирсова И. В., Поройский С. В., Македонова Ю. А., и др. Сравнительный анализ краевой проницаемости материалов для фиксации эндосистем // Эндодонтия Today. 2015. № 1. С. 39-41.
62. Хафизов Р.Г., Азизова Д.А., Житко А.К., Житко Р.К. Дентальная имплантология: основы: учебно-методическое пособие. – Казань: Казанский федеральный университет, 2021. – 57 с.
63. Хоббек Дж.А. Руководство по дентальной имплантологии / Хоббек Дж.А., Уотсон Р.М., Сизн Л.Дж.Дж.; пер. с англ.; под общ. ред. М.З. Миргазизова. – М.: МЕД-прессинформ, 2007. – 224 с.
64. Чеканов А.В., Фадеева И.С., Акатов В.С., и др. Количественный эффект повышения остеоиндуктивности материала за счет включения в него рекомбинантного морфогенетического белка кости rhvmp!2 // Гены и клетки. 2012. №2. С. 75-81.
65. Шаймарданов Т.Н. Оптимизация остеоинтеграции при дентальной имплантации у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом: дисс. ... канд. мед. наук: 14.01.14. – Уфа, 2018. – 158 с.
66. Щербаковских А.Е. Обоснование применения модифицированных дентальных имплантов на основе нетканого титанового материала со сквозной пористостью (клинико-экспериментальное исследование): дисс. ... канд. мед. наук: 14.01.14. – Самара, 2017. – 169 с.
67. Abdalla H., Allison P.J., Madathil S.A. et al. Caries lesions progression in adults: A prospective 2-year cohort study // Community Dent Oral Epidemiol. 2024 Aug 19.
68. Aguilera-Correa J.J., Garcia-Casas A., Mediero A, et al. A new antibiotic-loaded sol-gel can prevent bacterial prosthetic joint infection: From in vitro studies to an in vivo model // Front Microbiol. 2020. Vol. 10. P. 2935.
69. Ahmadi A., Mazloomnejad R., Kasravi M. et al. Recent advances on small molecules in osteogenic differentiation of stem cells and the underlying signaling pathways // Stem Cell Res Ther. 2022. Vol. 13. P. 518.

70. Albertini M., Fernandez-Yague M., Lázaro P., et al. Advances in surfaces and osseointegration in implantology. Biomimetic surfaces // *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2015 May 1;20(3). P. e316-25.
71. Albrektsson T., Brånemark P.I., Hansson H.A., Lindström J. Osseointegrated titanium implants: requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man // *Acta Orthopaedica Scandinavica*. 1981 Jan 1. Vol. 52(2). P. 155–70
72. Alenezi A., Chrcanovic B., Wennerberg A. Effects of local drug and chemical compound delivery on bone regeneration around dental implants in animal models: a systematic review and meta-analysis // *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2018. Vol. 33(1). P. e1-e18.
73. Alibrahim A., Al Saliati H., Alrawashdeh M., et al. Patterns and predictors of tooth loss among partially dentate individuals in Jordan: A cross-sectional study // *Saudi Dent J*. 2024 Mar. Vol. 36(3). P. 486-491.
74. Alt V., Bitschnau A., Osterling J., et al. The effects of combined gentamicin-hydroxyapatite coating for cementless joint prostheses on the reduction of infection rates in a rabbit infection prophylaxis model // *Biomaterials*. 2006. Vol. 27(26). P. 4627-34.
75. Amini A.R., Laurencin C.T., Nukavarapu S.P. Bone tissue engineering: recent advances and challenges // *Crit Rev Biomed Eng*. 2012. Vol. 40(5). P. 363-408.
76. Anta M.A., Novák, P. Advances in Osseointegration for Dental Implants: Influencing Factors and Measuring Methods. *Archive of Orofacial Data Science*. 2025. Vol. 2. P. 1-19.
77. Atluri K., Seabold D., Hong L., Elangovan S., Salem A.K. Nanoplex-Mediated Codelivery of Fibroblast Growth Factor and Bone Morphogenetic Protein Genes Promotes Osteogenesis in Human Adipocyte-Derived Mesenchymal Stem Cells // *Molecular pharmaceutics*. 2015. Vol.12[8]. P.3032- 3042

78. Awawdeh M., Alotaibi M.B., Alharbi A.H., et al. A Systematic Review of Patient Satisfaction with Removable Partial Dentures (RPDs) // *Cureus*. 2024 Jan 7. Vol. 16(1). P. e51793
79. Bae E.B., Yoo J.H., Jeong S.I., et al. Effect of Titanium implants coated with Radiation-Crosslinked Collagen on Stability and Osseointegration in Rat Tibia // *Mater (Basel)*. 2018. Vol. 11(12). P. 2520.
80. Bohara S., Suthakorn J. Surface coating of orthopedic implant to enhance the osseointegration and reduction of bacterial colonization: a review // *Biomater Res*. 2022. Vol. 26. P. 26.
81. Bormann K.H., Gellrich N.C., Kniha H. et al. A prospective clinical study to evaluate the performance of zirconium dioxide dental implants in single-tooth edentulous area: 3-year follow-up // *BMC Oral Health*. 2018. Vol. 18. P. 181.
82. Boyne P.J., Marx R.E., Nevins M., et al. A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge for maxillary sinus floor augmentation // *Int. J. Periodontics Restor. Dent*. 1997. Vol. 17. P. 11-25.
83. Boyne Ph.J., Lilly L.C., Marx R.E., et al. De novo bone induction by recombinant human bone morphogenetic Protein-2 (rhbmp-2) in maxillary sinus floor augmentation // *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2005. Vol. 63(12). P. 1693-1707.
84. Boyne Ph.J., Lilly L.C., Marx R.E., et al. De novo bone induction by recombinant human bone morphogenetic Protein-2 (rhbmp-2) in maxillary sinus floor augmentation // *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2005. Vol. 63(12). P. 1693-1707.
85. Bozo I.Y., Deev R.V., Drobyshev A.Y., et al. World's First Clinical Case of Gene-Activated Bone Substitute Application // *Case Rep Dent*. 2016. Vol. 2016. P. 8648949.
86. Buijs J.T., van der Horst G., van den Hoogen C., et al. The BMP2/7 heterodimer inhibits the human breast cancer stem cell subpopulation and bone metastases formation // *Oncogene*. 2012. Vol. 31(17). P. 2164-2174.

87. Bumgardner J.D, Wiser R., Gerard P.D., et al. Chitosan: potential use as a bioactive coating for orthopaedic and craniofacial/dental implants // *J Biomater Sci Polym Ed.* 2003. Vol. 14(5). P. 423-38.
88. Cardaropoli D. Vertical ridge augmentation with the use of recombinant human plateletderived growth factor-BB and bovine bone mineral: a case report // *Int. J. Periodontics Restorative Dent.* 2009, Jun. V. 29 (3). P. 289-295.
89. Cardoso M.V., de Rycker J., Chaudhari A., et al. Titanium implant functionalization with phosphate-containing polymers may favour in vivo osseointegration // *J Clin Periodontol.* 2017. 44(9). P. 950-960.
90. Carragee E.J., Hurwitz E.L., Weiner B.K. A Critical Review of Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 Trials in Spinal Surgery: Emerging Safety Concerns and Lessons Learned // *The Spine Journal.* 2011. Vol. 11(6). P. 471-491.
91. Cecconi S., Mattioli-Belmonte M., Manzotti S., et al. Bone-derived titanium coating improves in vivo implant osseointegration in an experimental animal model // *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2014. Vol. 102(2). P. 303-310.
92. Centers for Disease Control and Prevention. Oral Health Surveillance Report: Trends in Dental Caries and Sealants, Tooth Retention, and Edentulism, United States, 1999-2004 to 2011-2016. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention, U.S. Dept of Health and Human Services, 2019. 68 p.
93. Centers for Disease Control and Prevention. Oral Health Surveillance Report: Dental Caries, Tooth Retention, and Edentulism, United States, 2017 – March 2020. U.S. Dept of Health and Human Services, 2024. – 28 p.
94. Cesana B., Cochet C., Filhol O. New players in the landscape of renal cell carcinoma bone metastasis and therapeutic opportunities // *Int J Cancer.* 2025 Feb 1. Vol. 156(3). P. 475-487.
95. Chalub L.L.F.H, Ferreira R.C., Vargas A.M.D. Influence of functional dentition on satisfaction with oral health and impacts on daily performance among

Brazilian adults: a population-based cross-sectional study // BMC Oral Health. 2017. Vol. 17. P. 112.

96. Chaturvedi T.P., Upadhayay S.N. An overview of orthodontic material degradation in oral cavity // Indian J Dent Res. 2010. Vol. 21. № 2. P. 275-84.

97. Chaudhary N.K., Sunuwar D.R., Sapkota M.R. et al. Prevalence of osteoporosis and associated factors among people aged 50 years and older in the Madhesh province of Nepal: a community-based cross-sectional study // J Health Popul Nutr. 2020. Vol. 43. P. 100.

98. Cho W.T., Kim S.Y., Jung S.I., et al. Effects of Gamma Radiation-Induced Crosslinking of collagen type I coated Dental Titanium implants on Osseointegration and Bone Regeneration // Mater (Basel). 2021. Vol. 14(12). P. 3268.

99. Cho Y.C., Peng P.W., Ou Y.S., et al. An Innovative Design to Enhance Osteoinductive Efficacy and Biomechanical Behavior of a Titanium Dental Implant // Materials (Basel). 2024 May 11. Vol. 17(10). P. 2276.

100. Choi W., Kim B.S., Cho W.T., et al. Efficacy and safety of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) combined with autologous bone for the treatment of long bone nonunion: A report of a prospective case series // Injury. 2024 Oct. Vol. 55(10). P. 111711.

101. Chopra D., Gulati K., Ivanovski S. Understanding and optimizing the antibacterial functions of anodized nano-engineered titanium implants // Acta Biomater. 2021. Vol. 127. P. 80-101.

102. Chopra D., Gulati K., Ivanovski S. Understanding and optimizing the antibacterial functions of anodized nano-engineered titanium implants // Acta Biomater. 2021. Vol. 127. P. 80-101.

103. Civantos A., Martínez-Campos E., Ramos V., et al. Titanium coatings and surface modifications: toward clinically useful bioactive implants // ACS Biomater Sci Eng. 2017. Vol. 3(7). P. 1245-1261.

104. Cochran D.L., Jones A.A., Lilly L.C., et al. Evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in oral applications including the use of endosseous implants: 3-year results of a pilot study in humans // *J Periodontol*. 2000. Vol. 71. P. 1241-1257.
105. Coelho P.G., Jimbo R., Tovar N., Bonfante E.A. Osseointegration: hierarchical designing encompassing the macrometer, micrometer, and nanometer length scales // *Dent Mater*. 2015. 31(1). P. 37-52.
106. Cooper L.F., Shirazi S. Osseointegration – the biological reality of successful dental implant therapy: a narrative review // *Frontiers of Oral and Maxillofacial Medicine*. 2022. Vol. 4. P. 39.
107. D'Ambrosio F., Amato A., Chiacchio A., et al. Do Systemic Diseases and Medications Influence Dental Implant Osseointegration and Dental Implant Health? An Umbrella Review // *Dent J (Basel)*. 2023 Jun 5. Vol. 11(6). P. 146.
108. Dave M., Tattar, R., Patel, N. Medical considerations in the ageing implant patient // *Oral Surgery*. 2023. Vol. 17/ Article 1.
109. De Meo D., Calogero V., Are L, et al. Antibiotic-Loaded Hydrogel Coating to Reduce Early Postsurgical Infections in Aseptic Hip Revision Surgery: A Retrospective, Matched Case-Control Study // *Microorganisms*. 2020. Vol. 8(4). P. 571.
110. de Queiroz Fernandes J., de Lima V.N., Bonardi J.P., et al. Bone regeneration with recombinant human bone morphogenetic protein 2: a systematic review // *J Maxillofac Oral Surg*. 2018 Mar. Vol. 17(1). P. 13-18.
111. Dong H., Liu H., Zhou N., Li Q., et al. Surface modified techniques and emerging functional coating of Dental implants // *Coatings*. 2020. Vol. 10. P. 1012.
112. Dutta S.R., Passi D., Singh P., et al. Risks and complications associated with dental implant failure: Critical update // *Natl J Maxillofac Surg*. 2020 Jan-Jun. Vol. 11(1). P. 14-19.

113. Edelmayer M., Wehner C., Ulm C., et al. Which Substances Loaded onto Collagen Scaffolds Influence Oral Tissue Regeneration? – An Overview of the Last 15 Years. *Clin Oral Investig.* 2020. Vol. 24. P. 3363-3394
114. Ehata S., Miyazono K. Bone Morphogenetic Protein Signaling in Cancer; Some Topics in the Recent 10 Years // *Front Cell Dev Biol.* 2022 May 25. Vol. 10. P. 883523.
115. Esposito M., Felice P., Barausse C. et al. Immediately loaded machined versus rough surface dental implants in edentulous jaws: One-year postloading results of a pilot randomised controlled trial // *Eur J Oral Implantol.* 2015. 8(4). P. 387-96 p.
116. Fan Y., Li Q., Liu Y., et al. Sex- and Age-Specific Prevalence of Osteopenia and Osteoporosis: Sampling Survey // *JMIR Public Health Surveill.* 2024 Apr 5. Vol. 10. P. e48947.
117. Felsenberg D., Boonen S. The bone quality framework: determinants of bone strength and their interrelationships, and implications for osteoporosis management // *Clin Ther.* 2005 Jan. Vol. 27(1). P. 1-11.
118. Fiorellini J.P., Howell T.H., Cochran D., et al. Randomized study evaluating recombinant human bone morphogenetic protein-2 for extraction socket augmentation // *J. Periodontol.* 2005. Vol. 76. P. 605-613.
119. Fiorellini J.P., Howell T.H., Cochran D., et al. Randomized study evaluating recombinant human bone morphogenetic protein-2 for extraction socket augmentation // *J Periodontol.* 2005. Vol. 76. P. 605-613.
120. Fyhrie D.P. Summary-measuring “bone quality” // *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2005. Vol. 5:318-20.
121. Garg P., Ghalaut P., Dahiya K., et al. Comparative evaluation of crestal bone level in patients having low level of Vitamin D treated with dental implant with or without Vitamin D3 supplements // *Natl J Maxillofac Surg.* 2020 Jul-Dec. Vol. 11(2). P. 199-206.

122. Ge Z., Yang L., Xiao F., et al. Graphene Family Nanomaterials: Properties and Potential Applications in Dentistry // *Int J Biomater*. 2018 Dec 9. Vol. 2018. P. 1539678; Barbieri M. Graphene and Its Derivatives in Dental Implants: A Patent Landscape Study // *Materials Proceedings*. 2024. Vol. 19(1). P. 2.
123. Geritz E., Kucharíková S., Van Dijck P, et al. Antibacterial activity of a new broad-spectrum antibiotic covalently bound to titanium surfaces. *Journal of orthopaedic research* // Official publication of the Orthopaedic Research Society. 2016. Vol. 34(12). P. 2191-8.
124. Gkiliopoulos D., Tsamesidis I., Theocharidou A., et al. SBA-15 Mesoporous Silica as Delivery Vehicle for rhBMP-2 Bone Morphogenic Protein for Dental Applications // *Nanomaterials (Basel)*. 2022 Feb 28. Vol. 12(5). P. 822.
125. Go H., Jung H.I., Ahn S.V., et al. Trend in the Incidence of Severe Partial Edentulism among Adults Using the Korean National Health Insurance Service Claim Data, 2014-2018 // *Yonsei Med J*. 2024 Apr. Vol. 65(4). P. 234-240.
126. Grzelak A., Hnydka A., Higuchi J., et al. Recent Achievements in the Development of Biomaterials Improved with Platelet Concentrates for Soft and Hard Tissue Engineering Applications // *International Journal of Molecular Sciences*. 2024. Vol. 25(3). P. 1525.
127. Gulati K., Maher S., Findlay D.M, Losic D Titania nanotubes for orchestrating osteogenesis at the bone-implant interface // *Nanomed (Lond)*. 2016. Vol. 11(14). P. 1847-1864.
128. Gunatillake P.A., Adhikari R. Biodegradable synthetic polymers for tissue engineering // *Eur Cell Mater*. 2003 May 20. Vol. 5. P. 1-16.
129. Han J.J., Yang H.J., Hang S.J. Enhanced Bone Regeneration by Bone Morphogenetic Protein-2 after Pretreatment with Low-Intensity Pulsed Ultrasound in Distraction Osteogenesis // *Tissue Eng Regen Med*. 2022 Aug. Vol. 19(4). P. 871-886.
130. Hanawa T. Zirconia versus titanium in dentistry: A review // *Dent Mater J*. 2020 Jan 31. Vol. 39(1). P. 24-36.

131. Haugejorden O., Klock K S., Trovik T.A. Incidence and predictors of self-reported tooth loss in a representative sample of Norwegian adults // Community Dentistry and Oral Epidemiology. 2003. Vol. 31. No. 4. P. 261-268.
132. Hirakawa Y., Jimbo R., Shibata Y., et al. Accelerated bone formation on photo-induced hydrophilic titanium implants: an experimental study in the dog mandible // Clin Oral Implants Res. 2013. Vol. 24 Suppl A100. P. 139-144.
133. Hobbins S., Chapple I.L, Sapey E., Stockley R.A. Is periodontitis a comorbidity of COPD or can associations be explained by shared risk factors/behaviors? // Int J Chron Obstruct Pulmon Dis. 2017. Vol. 12. P. 1339-49.
134. Hong M.H., Lee J.H., Jung H.S. et al. Biomineralization of bone tissue: calcium phosphate-based inorganics in collagen fibrillar organic matrices // Biomater Res. 2022. Vol. 26. P. 42.
135. Huang G., Cao G., Liu J., Liu M. Global trends in incidence of caries in permanent teeth of children aged 5 through 14 years, 1990 through 2019 // J Am Dent Assoc. 2024 Aug. Vol. 155(8). P. 667-678.e21.
136. Huang H., Feng J., Wismeijer D., et al. Hyaluronic Acid Promotes the Osteogenesis of BMP-2 in an Absorbable Collagen Sponge // Polymers. 2017. Vol. 9(8). P. 339.
137. Huang Y.C., Huang Y.C., Ding S.J. Primary stability of implant placement and loading related to dental implant materials and designs: A literature review // J Dent Sci. 2023 Oct. Vol. 18(4). P. 1467-1476.
138. Huh J-B., Yang J-J., Choi K-H., Bae J., et al. Effect of RhBMP-2 Immobilized Anorganic Bovine Bone Matrix on Bone Regeneration. Int J Mol Sci. 2015. Vol. 16. P. 16034-16052.
139. Hutchings G., Moncrieff L., Dompe C., et al. Bone Regeneration, Reconstruction and Use of Osteogenic Cells; from Basic Knowledge, Animal Models to Clinical Trials // J Clin Med. 2020 Jan 4. Vol. 9(1). P. 139.

140. James A.W., LaChaud G., Shen J., et al. A Review of the Clinical Side Effects of Bone Morphogenetic Protein-2. *Tissue Eng Part B Rev.* 2016 Aug. Vol. 22(4). P. 284-97.
141. Javed F., Malmstrom H., Kellesarian S.V., et al. Efficacy of Vitamin D3 Supplementation on Osseointegration of Implants. *Implant Dent.* 2016 Apr. Vol. 25(2). P. 281-7.
142. Jeong J., Kim J.H., Shim J.H. et al. Bioactive calcium phosphate materials and applications in bone regeneration // *Biomater Res.* 2019. Vol. 23. P. 4.
143. Jimbo R., Coelho P.G., Bryington M., et al. Nano hydroxyapatite-coated implants improve bone nanomechanical properties // *J Dent Res.* 2012. Vol. 91(12). P. 1172-1177.
144. Jose B., Antoci V. Jr., Zeiger A.R., et al. Vancomycin covalently bonded to titanium beads kills *Staphylococcus aureus*. *Chem Biol.* 2005. Vol. 12(9). P. 1041-8.
145. Kaneko S., Yamamoto Y., Wada K. et al. Ultraviolet irradiation improves the hydrophilicity and osteo-conduction of hydroxyapatite // *J Orthop Surg Res.* 2020. Vol. 15. P. 425.
146. Kassebaum N.J., Smith A.G.C., Bernabé E., et al. Global, regional, and national prevalence, incidence, and disability-adjusted life years for oral conditions for 195 countries, 1990–2015: A systematic analysis for the global burden of diseases, injuries, and risk factors // *Journal of Dental Research.* 2017. Vol. 96. No. 4. P. 380-387.
147. Kazek-Kesik A., Nosol A., Plonka J, et al. PLGA-amoxicillin-loaded layer formed on anodized Ti alloy as a hybrid material for dental implant applications // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2019. Vol. 94. P. 998-1008.
148. Ke C-L., Deng F-S., Chuang C-Y., Lin C-H. Antimicrobial Actions and Applications of Chitosan // *Polymers.* 2021. Vol. 13(6). P. 904.
149. Kessler P.D. Podsakoff G.M., Chen X., et al. Gene delivery to skeletal muscle results in sustained expression and systemic delivery of a therapeutic protein

// Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1996. Vol.93[24]. P.14082–14087.

150. Kim C.M., Lee J.B., Um H.S., Lee J.K. Risk factors for the failure of re-implanted dental implants: A 20-year retrospective study // J Periodontol. 2025 Feb. Vol. 96(2). P. 140-150.

151. Kim J.Y., Lim S., Lim H.S., et al. Bone morphogenetic protein-2 as a novel biomarker for refractory chronic rhinosinusitis with nasal polyps // J Allergy Clin Immunol. 2021 Aug. Vol. 148(2). P. 461-472.e13.

152. Kochar S.P., Reche A., Paul P. The Etiology and Management of Dental Implant Failure: A Review // Cureus. 2022 Oct 19. Vol. 14(10). P. e30455.

153. Kunrath M.F., Vargas A.L.M., Sesterheim P., et al. Extension of hydrophilicity stability by reactive plasma treatment and wet storage on TiO₂ nanotube surfaces for biomedical implant applications // J R Soc Interface. 2020. Vol. 17(170). P. 20200650.

154. Kunrath M.F., Garaicoa-Pazmino C., Giraldo-Osorno P.M., et al. Implant surface modifications and their impact on osseointegration and peri-implant diseases through epigenetic changes: A scoping review // J Periodontal Res. 2024 Dec. Vol. 59(6). P. 1095-1114.

155. Kunrath M.F., Rubensam G., Rodrigues F.V.F., et al. Nano-scaled surfaces and sustainable-antibiotic-release from polymeric coating for application on intra-osseous implants and trans-mucosal abutments // Colloids Surf B Biointerfaces. 2023. Vol. 228. P. 113417.

156. Kupka J.R., König J., Al-Nawas B., et al. How far can we go? A 20-year meta-analysis of dental implant survival rates // Clin Oral Investig. 2024 Sep 21. Vol. 28(10). P. 541.

157. Kurup A., Dhattrak, P., Khasnis N. Surface modification techniques of titanium and titanium alloys for biomedical dental applications: A review // Mater. Today Proc. 2021. Vol. 39. P. 84-90.

158. Kuznetsova V.S., Vasilyev A.V., Bukharova T.B., et al. Application of BMP-2 and its gene delivery vehicles in dentistry // *Saudi Dent J.* 2024 Jun. Vol. 36(6). P. 855-862.
159. Langenfeld E.M. The Mature Bone Morphogenetic Protein-2 Is Aberrantly Expressed in Non-Small Cell Lung Carcinomas and Stimulates Tumor Growth of A549 Cells // *Carcinogenesis.* 2017. Vol. 24(9). P. 1445-1454.
160. Langenfeld E.M. The Mature Bone Morphogenetic Protein-2 Is Aberrantly Expressed in Non-Small Cell Lung Carcinomas and Stimulates Tumor Growth of A549 Cells // *Carcinogenesis.* 2017. Vol.24(9). P. 1445-1454.
161. Langenfeld E.M., Kong Y., Langenfeld J. Bone morphogenetic protein-2-induced transformation involves the activation of mammalian target of rapamycin // *Mol Cancer Res.* 2005 Dec. Vol. 3(12). P. 679-84.
162. Le Guéhennec L., Soueidan A., Layeolle P., Amourin Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration // *Dent. Mater.* 2007. Vol. 23. P. 844-854.
163. Lee J.H., Kwon, Y.H., Herr, Y., et al. Effect of Erbium-Doped: Yttrium, Aluminium and Garnet Laser Irradiation on the Surface Microstructure and Roughness of Sand-Blasted, Large Grit, Acid-Etched Implants // *J. Periodontal Implant. Sci.* 2011. Vol. 41. P. 135-142.
164. Lee J.H., Yi S.K., Kim S.Y., et al. Factors related to the number of existing teeth among Korean adults aged 55-79 years // *Int J Environ Res Public Health.* 2019. Vol. 16. P. 3927.
165. Leon J. de, Romanos G.E. The use of bioactive proteins and peptides to promote osseointegration and success of dental implants: a narrative review // *Front Oral Maxillofac Med* 2025. Vol. 7. P. 18.
166. Li J., Jansen J.A., Walboomers X.F., van den Beucken J.J. Mechanical aspects of dental implants and osseointegration: A narrative review // *J Mech Behav Biomed Mater.* 2020 Mar. Vol. 103. P. 103574.

167. Links between oral health and general health: the case for action. – Carlton: Dental Health Services Victoria, 2011. – 18 p.
168. Liu P., Zhang Y., Ma Y., et al. Application of dental pulp stem cells in oral maxillofacial tissue engineering // *Int J Med Sci* 2022. Vol. 19(2). P. 310-320.
169. Liu T., Zheng Y., Wu G., et al. BMP2-coprecipitated calcium phosphate granules enhance osteoinductivity of deproteinized bovine bone, and bone formation during critical-sized bone defect healing // *Sci Rep*. 2017. Vol. 7. P. 418.
170. López-Valverde N., Flores-Fraile J., Ramírez J.M., et al. Conventional Surfaces in Titanium Dental Implants: A Comparative Systematic Review // *Journal of Clinical Medicine*. 2020. Vol. 9(7). P. 2047.
171. Łosiewicz B., Osak P., Nowińska D., Maszybrocka J. Developments in Dental Implant Surface Modification // *Coatings*. 2025; 15(1):109.
172. Ma Y., Yan J., Yan T. et al. Biological properties of Cu-bearing and Ag-bearing titanium-based alloys and their surface modifications: A review of antibacterial aspect // *Frontiers in Materials*. 2022. Vol. 9.
173. Maher N., Mahmood A., Fareed M.A., et al. An updated review and recent advancements in carbon-based bioactive coatings for dental implant applications // *J Adv Res*. 2024 Jul. Vol. 20. P. S2090-1232(24)00300-X.
174. Malizos K., Blauth M., Danita A., et al. Fast-resorbable antibiotic-loaded hydrogel coating to reduce post-surgical infection after internal osteosynthesis: a multicenter randomized controlled trial. *Journal of orthopaedics and traumatology* // *Official journal of the Italian Society of Orthopaedics and Traumatology*. 2017. Vol. 18(2). P. 159-69.
175. Marco C., Scott A., Cicciù D. et al. Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 Promote and Stabilize Hard and Soft Tissue Healing for Large Mandibular New Bone Reconstruction Defects // *Journal of Craniofacial Surgery*. 2014. Vol. 25(3). P. 860-862.
176. Martel-Pelletier J., Barr A.J., Cicuttini F.M, et al. Osteoarthritis // *Nature Reviews Disease Primers*. 2016. Vol. 2(1). P. 16072.

177. Matsumoto G., Ueda T., Sugita Y., et al. Polyhedral microcrystals encapsulating bone morphogenetic protein 2 improve healing in the alveolar ridge // J Biomater Appl. 2015 Aug;30(2). P. 193-200.
178. Meng H.W., Chien E.Y. Chien H.H. Dental implant bioactive surface modifications and their effects on osseointegration: a review // Biomark Res. 2016. Vol. 4. P. 24.
179. Meyer U., Joos U., Mythili J., et al. Ultrastructural characterization of the implant/bone interface of immediately loaded dental implants // Biomaterials. 2007. Vol. 25. P 1959-1967.
180. Minisola S., Colangelo L, Pepe J., et al. Osteomalacia and vitamin D status: a clinical update 2020 // JBMR Plus. 2021. Vol. 5(1). P. e10447.
181. Misch C.E., Perel M.L., Wang H.L., et al. Implant success, survival, and failure – the International Congress of Oral Implantologists (ICOI) Pisa Consensus Conference // Implant Dent. 2008. Vol. 17. № 1. P. 5-15.
182. Mishra S.K., Kumar M.A., Chowdhary R. Anodized dental implant surface // Indian J Dent Res Publ Indian Soc Dent Res. 2017. P. 28(1). P. 76-99.
183. Morena D., Leitão-Almeida B., Pereira M., et al. Comparative Clinical Behavior of Zirconia versus Titanium Dental Implants: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials // Journal of Clinical Medicine. 2024. Vol. 13(15). P. 4488.
184. Morimoto T., Kaito T., Matsuo Y., et al. The bone morphogenetic protein-2/7 heterodimer is a stronger inducer of bone regeneration than the individual homodimers in a rat spinal fusion model // The spine journal: official journal of the North American Spine Society. 2015. Vol. 15. No. 6. P. 1379-90.
185. Mouhibi A., Maftouh B., Amesghar F.Z., et al. Advantages and Limits of Implant-Supported Fixed Partial Dentures with Extension // Oral Health Dental Sci. 2022. Vol. 6(2). P. 1-5.
186. Mouzoura P., Marazioti A., Gkartziou F., et al. Potential of Liposomal FTY720 for Bone Regeneration: Proliferative, Osteoinductive, Chemoattractive,

and Angiogenic Properties Compared to Free Bioactive Lipid // *Int J Nanomedicine*. 2025 Jan 7. Vol. 20. P. 239-265.

187. Muhammed H.A., Mahmoud, E.M., Fahmy A.E., Nasr D.M. The effect of sandblasting versus acid etching on the surface roughness and biaxial flexural strength of CAD/CAM resin-matrix ceramics (In vitro study) // *BMC Oral Health* 2023. Vol. 23. P. 169.

188. Mühl A., Szabó P., Krafcsik O., et al. Comparison of surface aspects of turned and anodized titanium dental implant, or abutment material for an optimal soft tissue integration // *Heliyon* 2022. Vol. 8. P. e10263.

189. Naso C.M., Lin S.Y., Song G. et al. Time trend analysis of osteoporosis prevalence among adults 50 years of age and older in the USA, 2005-2018 // *Osteoporos Int*. 2025. Vol. 28.

190. Nevins M.L., Camelo M., Schupbach P., et al. Minimally invasive alveolar ridge augmentation procedure (tunneling technique) using rhPDGF-BB in combination with three matrices: a case series // *Int. J. Periodontics Restorative Dent*. 2009, Aug. V. 29 (4). P. 371–383.

191. Nguyen N.H., Lu Z., Elbourne A., Vasilev K., et al. Engineering antibacterial bioceramics: Design principles and mechanisms of action // *Mater Today Bio*. 2024 Apr 27. Vol. 26. P. 101069.

192. On S-W., Park S-Y., Yi S-M., et al. Current Status of Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 (rhBMP-2) in Maxillofacial Surgery: Should It Be Continued? // *Bioengineering*. 2023. Vol. 10(9). P. 1005.

193. Padhye N.M., Calciolari E., Zuercher A.N., et al. Survival and success of zirconia compared with titanium implants: a systematic review and meta-analysis // *Clin Oral Investig*. 2023 Nov. Vol. 27(11). P. 6279-6290.

194. Palmquist A. A multiscale analytical approach to evaluate osseointegration // *J Mater Sci Mater Med*. 2018. Vol. 29, № 5. P. 60.

195. Pang K., Seo Y.K., Lee J.H. Effects of the combination of bone morphogenetic protein-2 and nano-hydroxyapatite on the osseointegration of dental implants // J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg. 2021. Vol. 47(6). P. 454-464.
196. Park H.E., Song H.Y., Han K., et al. Number of remaining teeth and health-related quality of life: the Korean national health and nutrition examination survey 2010-2012 // Health Qual Life Outcomes. 2019. Vol. 17. P. 5.
197. Park J-C., Bae E-B., Kim S-E., et al. Effects of BMP-2 Delivery in Calcium Phosphate Bone Graft Materials with Different Compositions on Bone Regeneration. Materials. 2016. Vol. 9. P. 954.
198. Park K., Kang N.G., Lee J.H., Srinivasan M. Removable complete denture with a metal base: Integration of digital design and conventional fabrication techniques // J Esthet Restor Dent. 2024 Feb. Vol. 36(2). P. 255-262.
199. Patcas R., Zinelis S., Eliades G., Eliades T. Surface and interfacial analysis of sandblasted and acid-etched enamel for bonding orthodontic adhesives // Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop. 2015. Vol. 147 (Suppl. 4). P. 64-75.
200. Peng Z., Ao H., Wang L., et al. Quaternised chitosan coating on titanium provides a self-protective surface that prevents bacterial colonisation and implant-associated infections // RSC Adv. 2015. Vol. 5(67). P. 54304-11.
201. Pimenta J., Szmukler-Moncler S., Raigrodski A.J. Physical characterization of 3 implant systems made of distinct materials with distinct surfaces // J Prosthet Dent. 2022 Jul. Vol. 128(1). P. 63-72.
202. Ramly E.P., Alfonso A.R., Kantar R.S., et al. Safety and Efficacy of Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 (rhBMP-2) in Craniofacial Surgery // Plast Reconstr Surg Glob Open. 2019 Aug 19. Vol. 7(8). P. e2347.
203. Ramly E.P., Alfonso A.R., Kantar RS, et al. Safety and Efficacy of Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein-2 (RhBMP-2) in Craniofacial Surgery // Plast Reconstr Surg – Glob Open. 2019. Vol. 7. P. e2347.

204. Rayannavar S., Mv S.K., Kamath V., et al. Osseointegrative and antimicrobial properties of graphene oxide nano coated dental implants: A systematic review // F1000Res. 2024 Aug 9. Vol. 13.P. 281.
205. Raza F.B., Vijayaragavalu S., Vaidyanathan A.K. Bone Morphogenetic Protein as Bone Additive around Dental Implant and its Impact on Osseointegration: a Systematic Review // J Dent (Shiraz). 2022 Sep. Vol. 23(2 Suppl). P. 336-348.
206. Renvert S., Berglund J.S., Persson G.R. et al. The association between rheumatoid arthritis and periodontal disease in a population-based cross-sectional case-control study .. BMC Rheumatology 2020. Vol. 4. P. 31.
207. Rizzo P. A review on the latest advancements in the non-invasive evaluation/monitoring of dental and trans-femoral implants // Biomed Eng Lett. 2019 Aug 8. Vol. 10(1). P. 83-102.
208. Romero-Ruiz M.M., Gil-Mur F.J., Ríos-Santos J.V., et al. Influence of a Novel Surface of Bioactive Implants on Osseointegration: A Comparative and Histomorfometric Correlation and Implant Stability Study in Minipigs // Int. J. Mol. Sci. 2019. Vol. 20. P. E2307.
209. Rupp F., Scheideler L., Olshanska N., et al. Enhancing surface free energy and hydrophilicity through chemical modification of microstructured titanium implant surfaces // J Biomed Mater Res A. 2006. Vol. 76(2). P. 323-334.
210. Schonberger S., Kadry R., Shapira Y., Finkelstein T. Permanent Tooth Agensis and Associated Dental Anomalies among Orthodontically Treated Children // Children (Basel). 2023. Vol. 10(3). P. 596.
211. Scottish Dental Clinical Effectiveness Programme. Management of dental patients taking anticoagulants or antiplatelet drugs [Online]. – United Kingdom: SDCEP; 2022. – 58 p.
212. Shayeb M.A., Elfadil S., Abutayyem H., et al. Bioactive surface modifications on dental implants: a systematic review and meta-analysis of osseointegration and longevity // Clin Oral Investig. 2024 Oct 11. Vol. 28(11). P. 592.

213. Sheehy C., Gaffney K., Mukhtyar C. Standardized grip strength as an outcome measure in early rheumatoid arthritis // *Scand J Rheumatol*. 2013. Vol. 42(4). P. 289-93.
214. Shin Y.C., Bae J.H., Lee J.H. et al. Enhanced osseointegration of dental implants with reduced graphene oxide coating. *Biomater Res*. 2022. Vol. 26. P. 11.
215. Shoaee S., Ghasemi E., Sofi-Mahmudi A. et al. Global, regional, and national burden and quality of care index (QCI) of oral disorders: a systematic analysis of the global burden of disease study 1990-2017 // *BMC Oral Health*. 2024 Jan 20. Vol. 24(1). P. 116.
216. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer Statistics, 2017 // *CA Cancer J Clin*. 2017 Jan. Vol. 67(1). P. 7-30.
217. Silva G.A. Introduction to nanotechnology and its applications to medicine // *Surg Neurol*. 2004. Vol. 61(3). P. 216-220.
218. Simchi A., Tamjid E., Pishbin F., Boccaccini A. Recent progress in inorganic and composite coatings with bactericidal capability for orthopaedic applications // *Nanomed. Nanotechnol. Boil. Med*. 2011. Vol. 7. P. 22-39.
219. Sindi A.M. Applications of graphene oxide and reduced graphene oxide in advanced dental materials and therapies // *J Taibah Univ Med Sci*. 2024 Feb 18. Vol. 19(2). P. 403-421.
220. Singh V., Joung D., Zhai L., et al. Graphene based materials: past, present and future // *Prog Mater Sci*. 2011. Vol. 56(8). P. 1178-271.
221. Skovrlj B., Koehler S.M., Anderson P.A., et al. Association Between BMP-2 and Carcinogenicity // *Spine (Phila Pa 1976)*. 2015 Dec. Vol. 40(23). P. 1862-71.
222. Skovrlj B., Koehler S.M., Anderson P.A., et al. Association Between BMP-2 and Carcinogenicity // *Spine (Phila Pa 1976)*. 2015 Dec. Vol. 40(23). P. 1862-71.

223. Stigter M., Bezemer J., de Groot K., Layrolle P. Incorporation of different antibiotics into carbonated hydroxyapatite coatings on titanium implants, release and antibiotic efficacy // *J Control Release*. 2004. Vol. 99(1). P. 127–37.
224. Sun R., Xu X., Dong Y. et al. Global and regional trends in prevalence of untreated caries in permanent teeth: Age-period-cohort analysis from 1990 to 2019 and projections until 2049 // *J Dent*. 2024 Aug. Vol. 147. P. 105122
225. Szwed-Georgiou A., Płociński P., Kupikowska-Stobba B., et al. Bioactive Materials for Bone Regeneration: Biomolecules and Delivery Systems // *ACS Biomater Sci Eng*. 2023 Sep 11. Vol. 9(9). P. 5222-5254.
226. Tallon E., Macedo J.P., Faria A., et al. Can Vitamin D Levels Influence Bone Metabolism and Osseointegration of Dental Implants? // *An Umbrella Review. Healthcare*. 2024. Vol. 12(18). P. 1867.
227. Tannoury C.A., An H.S. Complications with the use of bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) in spine surgery // *Spine J*. 2014 Mar 1. Vol. 14(3). P. 552-9.
228. Teshaboev M.G., Yuldoshev A. A., Umarkhojaeva M. Evaluation of Chewing Efficiency of Prosthetics in the Complete Absence of Teeth with Removable Protheses Based on Dental Implants // *Miasto Przyszłości Kielce*. 2023. Vo. 35. P. 98-101.
229. Toffoli A., Parisi L., Tatti R., et al. Thermal-induced hydrophilicity enhancement of titanium dental implant surfaces. *J Oral Sci*. 2020. Vol. 62(2). P. 217-221.
230. Tong X., Chen J., Wang R., et al. The Paracrine Effect of Hyaluronic Acid-Treated Endothelial Cells Promotes BMP-2-Mediated Osteogenesis // *Bioengineering*. 2023. Vol. 10(10). P. 1227.
231. Topsakal A., Ekren N., Kilic O., et al. Synthesis and characterization of antibacterial drug loaded β -tricalcium phosphate powders for bone engineering applications // *J Mater Sci – Mater Med*. 2020. Vol. 31(2). P. 1-17.

232. Torrejon-Moya A., Izquierdo-Gómez K., Pérez-Sayáns M, et al. Patients with thyroid disorder, a contraindication for dental implants? A systematic review // J Clin Med. 2022. Vol. 11(9).
233. Triplett R.G., Nevins M., Marx R.E., et al. Pivotal, randomized, parallel evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein-2/absorbable collagen sponge and autogenous bone graft for maxillary sinus floor augmentation // J Oral Maxillofac Surg. 2009. Vol. 67. P. 1947-1960.
234. Tuikampee S., Chaijareenont P., Rungsiyakull P., Yavirach A. Titanium Surface Modification Techniques to Enhance Osteoblasts and Bone Formation for Dental Implants: A Narrative Review on Current Advances // Metals. 2024. Vol. 14(5). P. 515.
235. Tuikampee S., Chaijareenont P., Rungsiyakull P., Yavirach A. Titanium Surface Modification Techniques to Enhance Osteoblasts and Bone Formation for Dental Implants: A Narrative Review on Current Advances // Metals. 2024. Vol. 14(5). P. 515.
236. Tun Naing S., Kanazawa M., Hada T. et al. In vitro study of the effect of implant position and attachment type on stress distribution of implant-assisted removable partial dentures // J Dent Sci. 2022 Oct. Vol. 17(4). P. 1697-1703.
237. Tupe A., Patole V., Ingavle G., et al. Recent Advances in Biomaterial-Based Scaffolds for Guided Bone Tissue Engineering: Challenges and Future Directions // Polymers for Advanced Technologies. 2024. Vol. 35. No. 11.
238. Vasilyev A.V., Kuznetsova V.S., Bukharova T.B., et al. Osteoinductive Potential of Highly Porous Polylactide Granules and Bio-Oss Impregnated with Low Doses of BMP-2 // IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci. 2020. Vol. 421. P. 052035.
239. Wang L., Park P., Zhang H., et al. BMP-2 inhibits tumor growth of human renal cell carcinoma and induces bone formation // Int J Cancer. 2012 Oct 15. Vol. 131(8). P. 1941-50.
240. Wang M., Xu C., Zheng Y. et al. In vivo validation of osteoinductivity and biocompatibility of BMP-2 enriched calcium phosphate cement alongside

retrospective description of its clinical adverse events // *Int J Implant Dent*. 2024. Vol. 10. P. 47.

241. Wegner N., Wait R., Sroka A., et al. Peptidylarginine deiminase from *Porphyromonas gingivalis* citrullinates human fibrinogen and α -enolase: implications for autoimmunity in rheumatoid arthritis // *Arthritis Rheum*. 2010. Vol. 62(9). P. 2662-72.

242. Wennerberg A., Galli S., Albrektsson T. Current knowledge about the hydrophilic and nanostructured SLActive surface // *Clin. Cosmet. Investig. Dent*. 2011. Vol. 3. P. 59-67.

243. West J.D., Oates T.W. Identification of stability changes for immediately placed dental implants // *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2007 Jul-Aug. Vol. 22(4). P. 623-30.

244. World Health Organization. Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) [Online]. – Geneva, Switzerland: WHO; 2022.

245. Wu C.K., Wei M.T., Wu H.C. et al. BMP2 promotes lung adenocarcinoma metastasis through BMP receptor 2-mediated SMAD1/5 activation // *Sci Rep*. 2022. Vol. 12. P. 16310.

246. Wu H., Chen X., Kong L, Liu P. Mechanical and Biological Properties of Titanium and Its Alloys for Oral Implant with Preparation Techniques: A Review // *Materials*. 2023. Vol. 16(21). P. 6860.

247. Wu X., Al-Abedalla K., Rastikerdar E., et al. Selective serotonin reuptake inhibitors and the risk of osseointegrated implant failure: a cohort study // *J Dent Res*. 2014 Nov. Vol. 93(11). P. 1054-61.

248. Wu Y., Tao Z., Qiao Y., et al. Prevalence and characteristics of somatic symptom disorder in the elderly in a community-based population: a large-scale cross-sectional study in China // *BMC Psychiatry*. 2022 Apr 12. Vol. 22(1). P. 257.

249. Xiong C., Daubs M.D., Montgomery S.R., et al. BMP-2 adverse reactions treated with human dose equivalent dexamethasone in a rodent model of

soft-tissue inflammation // *Spine (Phila Pa 1976)*. 2013 Sep 1. Vol. 38(19). P. 1640-7.

250. Yamamoto W.R., Bone R.N., Sohn P., et al. Endoplasmic reticulum stress alters ryanodine receptor function in the murine pancreatic β cell // *J Biol Chem*. 2019. Vol. 294(1). P. 168-81.

251. Yan D., Li Y., Liu Y., Li N., Zhang X., Yan C. Antimicrobial Properties of Chitosan and Chitosan Derivatives in the Treatment of Enteric Infections // *Molecules*. 2021. Vol. 26(23). P. 7136.

252. Yasuda K., Okada S., Okazaki Y. et al. Bone turnover markers to assess jawbone quality prior to dental implant treatment: a case-control study // *Int J Implant Dent*. 2020. Vol. 6. P. 67.

253. Yazdanyar A., Newman A.B. The burden of cardiovascular disease in the elderly: morbidity, mortality, and costs // *Clin Geriatr Med*. 2009. Vol. 25(4). P. 563-77.

254. Yilmaz Atay H. Antibacterial Activity of Chitosan-Based Systems // *Functional Chitosan*. 2020 Mar. Vol. 6. P. 457-89.

255. Yoo D., Tovar N., Jimbo R., et al. Increased osseointegration effect of bone morphogenetic protein 2 on dental implants: an in vivo study. *J Biomed Mater Res A*. 2014 Jun. Vol. 102(6). P. 1921-7.

256. Yoo S.Y., Kim S.K., Heo S.J., et al. Biochemical Responses of Anodized Titanium Implants with a Poly(lactide-co-glycolide)/Bone Morphogenetic Protein-2 Submicron Particle Coating. Part 2: An In Vivo Study // *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2015. Jul-Aug. Vol. 30(4). P. 754-60

257. Zhang L., Yan J., Yin Z., et al. Electrospun vancomycin-loaded coating on titanium implants for the prevention of implant-associated infections. *Int J Nanomedicine*. 2014. Vol. 9. P. 3027-36.

258. Zhang Y., Fan Z., Xing Y., et al. Effect of microtopography on osseointegration of implantable biomaterials and its modification strategies // *Front Bioeng Biotechnol*. 2022 Sep 26. Vol. 10. P. 981062.

259. Zhao L., Chu P.K., Zhang Y., Wu Z. Antibacterial coatings on titanium implants // *J. Biomed. Mater. Res // Part B Appl. Biomater.* 2009. Vol. 91. P. 470-480.
260. Zheng Y., Wu G., Zhao J., et al. rhBMP2/7 heterodimer: an osteoblastogenesis inducer of not higher potency but lower effective concentration compared with rhBMP2 and rhBMP7 homodimers // *Tissue Eng Part A.* 2010 Mar. Vol. 16(3). P. 879-87.
261. Zhu G., Wang G., Li J.J. Advances in implant surface modifications to improve osseointegration // *Materials Advances.* 2021. Vol. 2. No. 21. P. 6901-6927.
262. Zöllner A., Ganeles J., Korostoff J., et al. Immediate and early non-occlusal loading of Straumann implants with a chemically modified surface (SLActive) in the posterior mandible and maxilla: interim results from a prospective multicenter randomized-controlled study // *Clin Oral Implants Res.* 2008. Vol. 19(5). P. 442-450.