

На правах рукописи

НАЧАРЬЯН Эдуард Георгиевич

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

3.1.7. Стоматология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва, 2026

Работа выполнена в Институте цифровой стоматологии Медицинского института федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Научный руководитель:

Копылов Максим Валерьевич, кандидат медицинских наук, доцент института цифровой стоматологии МИ РУДН.

Официальные оппоненты:

Розов Роман Александрович — доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры ортопедической стоматологии и материаловедения с курсом ортодонтии взрослых ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Бадалян Вардигер Агабековна — доктор медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник ФГБУ НМИЦ «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «25» ноября 2026 г. в 9:00 часов на заседании постоянно действующего диссертационного совета ПДС 0300.028 при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

С диссертацией можно ознакомиться в читальном зале УНИБЦ (Научная библиотека) ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6) и на сайте <https://www.rudn.ru/science/diss/sovets/dissertacionnye-sovety/pds-0300028>

Автореферат разослан

Ученый секретарь

Диссертационного совета ПДС 0300.028

кандидат медицинских наук

Салех К.М.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности исследуемой темы

Дентальная имплантация является высокоэффективным методом реабилитации пациентов с вторичной адентией. По данным ВОЗ, утрата зубов приводит к выраженным функциональным и психоэмоциональным нарушениям (Chalub L.L. et al., 2017; Go H.J. et al., 2024). Эпидемиологические исследования указывают на тенденцию к омоложению вторичной адентии и росту потребности в имплантационном лечении, что обуславливает актуальность совершенствования его технологий (Park J.H. et al., 2019; Lee J.H. et al., 2019; Schonberger T. et al., 2023; Alibrahim M. et al., 2024). Несмотря на высокую клиническую эффективность, ключевым фактором, определяющим результаты имплантации, остается качество остеоинтеграции (Albrektsson T. et al., 1981; Albertini M. et al., 2015; Antal M., Novák P., 2025). Снижение остеогенного потенциала костной ткани существенно повышает риск потери имплантатов, особенно у пациентов с системными метаболическими нарушениями и возрастными изменениями костного обмена (Дьячкова А.А., 2024; Fan Y. et al., 2024; Chaudhary N.K. et al., 2024; Naso C.M. et al., 2025). В связи с этим приоритетной задачей является поиск методов повышения остеогенного потенциала имплантатов путем модификации их поверхности (Григорьян А.С., Топоркова Л.А., 2007; Кулаков А.А. и соавт., 2019; Kunrath M.F. et al., 2024; Maher S. et al., 2024). Особый интерес представляет биологическая функционализация поверхности с использованием костного морфогенетического белка 2 (BMP-2) — ключевого регулятора остеогенеза, стимулирующего дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток в остеобласты (Семёнов П.С., 2013; Бартов М.С., 2015; de Queiroz Fernandes J. et al., 2018; Kuznetsova V.S. et al., 2024). Локальное применение рекомбинантного BMP-2 ускоряет репаративный остеогенез и увеличивает площадь костно-имплантатного контакта (Yoo D. et al., 2014; Cardoso M.V. et al., 2017; Pang K. et al., 2021; Cho Y.C. et al., 2024). При этом эффективность белка зависит от способа его доставки и дозировки, что требует разработки оптимальных технологий нанесения (Huh J.B. et al., 2015; Park J.W. et al., 2016; Raza F.B. et al., 2022). Наряду с остеоиндуктивным потенциалом, обсуждаются вопросы биологической безопасности BMP-2, включая возможные цитотоксические эффекты и влияние на микробную адгезию (Boyne P.J. et al., 2005; Carragee E.J. et al., 2011; James A.W. et al., 2016; On S.W. et al., 2023). В этой связи особую актуальность приобретает лабораторно-экспериментальная оценка цитобиологической безопасности имплантатов с покрытием из BMP-2 и изучение первичной адгезии кариесогенных и пародонтопатогенных микроорганизмов, поскольку микробная колонизация является фактором риска периимплантита (Zhao G. et al., 2009; Jeong R. et al., 2019; Shayeb M.A. et al., 2024). Таким образом, сохраняется необходимость комплексного лабораторно-экспериментального исследования, направленного на разработку методики нанесения

рекомбинантного BMP-2 на дентальные имплантаты, оценку его безопасности, микробиологической устойчивости и остеоиндуктивного потенциала в условиях *in vitro* и *in vivo*. Это позволит научно обосновать применение BMP-2-содержащих покрытий и сформировать предпосылки для создания имплантатов нового поколения для 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

1. 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% ($p < 0,05$).

2. 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.

3. 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.

4. 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 ($p < 0,05$).

5. 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.

Методология и методы 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.

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».

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.

Степень достоверности результатов и апробация работы

Достоверность полученных результатов обеспечивалась достаточным объемом 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 $p < 0,05$.

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.

Публикации

По материалам исследования опубликовано 4 печатные работы, из них 1 включены в международные базы цитирования WoS и Scopus, 1 работа в RSCI и 2 в журналах, рекомендованных Перечнями РУДН/ВАК.

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, а также в подготовке текста диссертационной работы и публикаций по теме исследования.

Структура и объем 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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Для достижения цели диссертационного исследования были сформулированы задачи, включающие проведение теоретического, лабораторно-экспериментального и экспериментального этапов. На первом этапе выполнено теоретическое обоснование выбора рекомбинантного костного морфогенетического белка-2 (BMP-2) для модификации поверхности дентальных имплантатов.

Поиск литературы осуществлялся в электронных базах eLIBRARY, PubMed, Scopus, Web of Science, фондах Российской государственной библиотеки диссертаций, профильных печатных изданиях и патентных базах. Анализ охватывал период с 1995 по 2024 год. В качестве критериев включения использовали оригинальные экспериментальные исследования *in vitro* и *in vivo*, рандомизированные клинические исследования, систематические обзоры и метаанализы, оценивающие роль костных морфогенетических белков в процессах остеогенеза, остеоиндукции и остеоинтеграции. Всего было проанализировано 164 литературных источника, из которых для углублённого анализа отобрано 42 публикации.

Проведённый анализ позволил обосновать выбор BMP-2 как наиболее перспективного остеоиндуктивного фактора для локальной модификации поверхности имплантатов. Учитывались его способность стимулировать дифференцировку мезенхимальных клеток в остеобластическом направлении, усиливать формирование костного матрикса, повышать минерализацию костной ткани и ускорять процессы костно-имплантатного контакта. На основании полученных данных был разработан общий дизайн исследования, включающий лабораторную оценку безопасности покрытия, микробиологическое исследование и экспериментальную проверку остеоинтеграции *in vivo*.

В качестве биоактивного компонента покрытия был выбран рекомбинантный костный морфогенетический белок-2 человеческого происхождения. Его получение осуществлялось на основе патентного решения RU 2781921 C1 с использованием бактериальной экспрессионной системы, многостадийной очистки и последующего контролируемого рефолдинга белка. После получения белка тельца включения многократно отмывали буферными растворами, затем проводили солюбилизацию в присутствии 8 М мочевины. Очистку денатурированного белка выполняли методом металл-хелатной хроматографии на Ni-NTA-сорбенте. Для восстановления

нативной структуры ВМР-2 проводили контролируемый рефолдинг в восстановительно-окислительном буфере. Дополнительную очистку функционально активных форм белка осуществляли с применением гепарин-сефарозной хроматографии. Чистоту и молекулярную массу контролировали методом электрофореза в полиакриламидном геле, концентрацию определяли спектрофотометрически. Затем белок диализовали против фосфатного буфера и стерильно фильтровали через мембранные фильтры с размером пор 0,20 мкм.

В исследовании использовали дентальные имплантаты Snucone AF+II диаметром 3,5 мм и длиной 10 мм, изготовленные из коммерчески чистого титана Ti Grade 4 с SLA-поверхностью. Перед нанесением ВМР-2 имплантаты подвергали стандартной лабораторной подготовке: промывали стерильными растворами и высушивали в асептических условиях. Иммобилизацию белка выполняли методом инкубационной адсорбции. Для этого имплантаты помещали в стерильный раствор рекомбинантного ВМР-2 в 10 мМ натрий-фосфатном буфере с pH 4,5–5,5 и инкубировали в течение 3 часов. Расчётная нагрузка белка на поверхность имплантата составляла 0,5–2,0 мкг/см², что соответствовало приблизительно 1–5 мкг ВМР-2 на один имплантат.

Лабораторный этап был направлен на оценку биологической безопасности и микробиологических свойств имплантатов с экспериментальным покрытием. Токсикологические исследования проводили с использованием МТТ-теста, основанного на определении метаболической активности клеток по способности митохондриальных дегидрогеназ восстанавливать тетразолиевую соль до формазана. В исследовании использовали клеточные культуры, контактировавшие с образцами имплантатов с покрытием ВМР-2 и без него. Оценка жизнеспособности клеток проводили спектрофотометрически по оптической плотности, что позволяло количественно определить уровень клеточной пролиферации и возможный цитостатический эффект.

Микробиологические исследования были направлены на изучение первичной адгезии микроорганизмов к поверхности имплантатов. В качестве тест-культур использовали представителей кариесогенной и пародонтопатогенной микрофлоры полости рта: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Образцы имплантатов инкубировали в микробной суспензии при стандартных условиях, после чего оценивали степень бактериальной адгезии. Количественную характеристику проводили по числу колониеобразующих единиц после смыва микроорганизмов с поверхности образцов с последующим высевом на питательные среды.

Экспериментальная часть исследования выполнена *in vivo* на базе вивария опытной станции Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства — филиала ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр». В эксперимент были включены четыре клинически здоровые овцы Северо-Кавказской мясошерстной породы в

возрасте 1,5–2 лет с массой тела 35–40 кг. Животные содержались в стандартных условиях, получали полноценное кормление и находились под постоянным ветеринарным наблюдением.

Хирургический этап выполняли под общей анестезией с соблюдением правил асептики и антисептики. В подчелюстной области проводили разрез мягких тканей с последующим обнажением нижнего края нижней челюсти. Формирование имплантационных лож осуществляли с использованием стандартного хирургического протокола и физиодиспенсера с водяным охлаждением. Каждому животному устанавливали три дентальных имплантата: один контрольный со стандартной поверхностью и два экспериментальных с биоактивным покрытием ВМР-2 (рисунок 1). Всего было установлено 12 имплантатов: 4 контрольных и 8 экспериментальных. Послеоперационное ведение животных осуществлялось в стандартных условиях. Выведение животных из эксперимента проводили поэтапно: через 3 и 5 месяцев после имплантации, что соответствовало различным стадиям остеоинтеграции. После эвтаназии выполняли забор костных блоков нижней челюсти с установленными имплантатами для последующего исследования (рисунок 2). Оценка процессов остеоинтеграции проводилась с использованием комплекса методов.



Рисунок 1 – Установка дентального имплантата экспериментальному животному

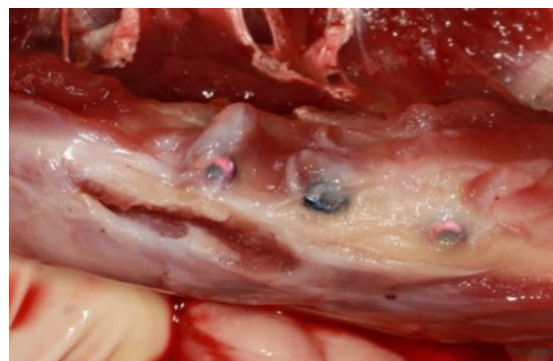


Рисунок 2 – Скелетированный фрагмент челюсти овцы с установленными имплантатами перед выведением животного из эксперимента

Рентгенологическое исследование выполняли методом конусно-лучевой компьютерной томографии для определения оптической плотности костной ткани в периимплантатной зоне (рисунок 3).

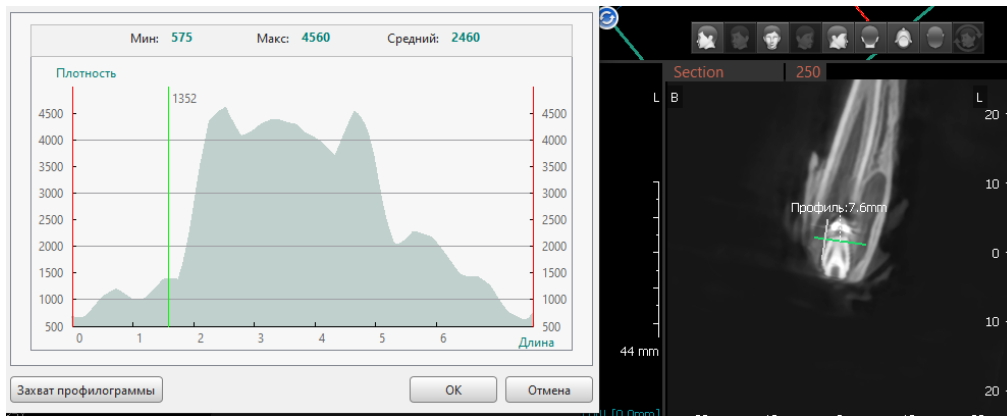


Рисунок 3 – Томограмма имплантата с измерением оптической плотности костной ткани на уровне средней трети имплантата

Морфологический и морфометрический анализ проводили на гистологических препаратах с оценкой структуры костной ткани, степени её зрелости, 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

Статистическую обработку данных проводили с использованием методов вариационной статистики. Проверку нормальности распределения выполняли с применением стандартных критериев, межгрупповые различия оценивали с использованием параметрических и непараметрических методов анализа. Различия считались статистически значимыми при уровне $p < 0,05$. Применённый комплекс методов позволил всесторонне оценить биологическую безопасность, микробиологические свойства и остеоинтеграционный потенциал дентальных имплантатов с биоактивным покрытием BMP-2.

Результаты собственных лабораторно-экспериментальных исследований

Лабораторно-экспериментальный этап был направлен на оценку биологической безопасности и микробиологических свойств дентальных имплантатов с покрытием рекомбинантным BMP-2. По результатам МТТ-теста установлено, что достоверных различий между образцами с покрытием BMP-2 и образцами без покрытия не выявлено. Среднее значение оптической плотности OD540 составило $1,19 \pm 0,37$ для имплантатов без покрытия и $1,0382 \pm 0,34$ для имплантатов с покрытием. Контрольная среда без имплантата имела более высокие значения — $1,92 \pm 0,52$, что указывает на влияние самого присутствия имплантационного материала на клеточную культуру, но не подтверждает дополнительного цитостатического действия покрытия BMP-2. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – 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».

Микробиологическое исследование показало, что все изученные тест-культуры сохраняли способность к первичной адгезии на поверхности имплантационного материала. В исследовании использовали *E. coli* ATCC 25982, *S. aureus* ATCC 6538, *C. albicans* CTC885-653, *S. mutans* 3003, *S. mitis* NCTC 10712 и *P. aeruginosa* B-8243. На опытных образцах с BMP-2 наибольшая остаточная адгезия отмечена у *S. mutans* 3003 и *S. mitis* NCTC 10712 — 74,9% и 75% соответственно; минимальные значения выявлены у *E. coli* ATCC 25922 — 11,34% и *P. aeruginosa* B-8243 — 19,83%. Эти данные отражены на рисунке 4.

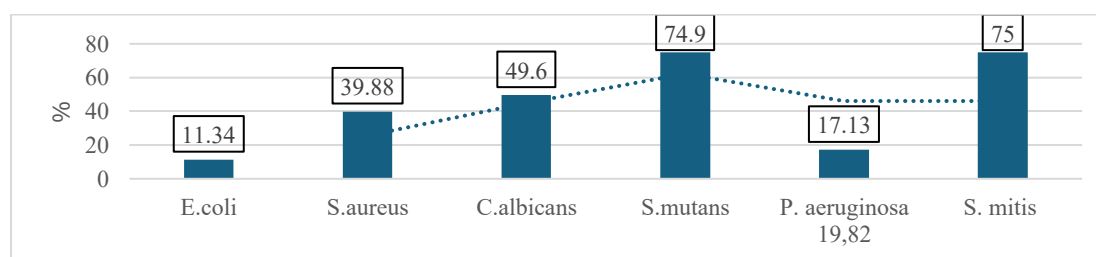


Рисунок 4 – Остаточная адгезия штаммов *E. coli* ATCC 25982, *S. aureus* ATCC 6538, *C. albicans* NoCTC885-653, *S. mutans* – 3003, *S. mitis* NCTC 10712, *P. aeruginosa* B-8243 (Biovitrum, СПб, Россия) к опытному образцу, площадь 0,45см²

На контрольных образцах без покрытия также наиболее выраженную адгезию продемонстрировали представители стрептококковой флоры: *S. mutans* 3003 — 76,9% и *S. mitis* NCTC 10712 — 72%. Минимальные показатели были зарегистрированы у *E. coli* ATCC 25922 — 13,1% и *P. aeruginosa* B-8243 — 15,12%; умеренные значения отмечены у *S. aureus* ATCC 6538 и *C. albicans* CTC885-653. Результаты представлены на рисунке 5.

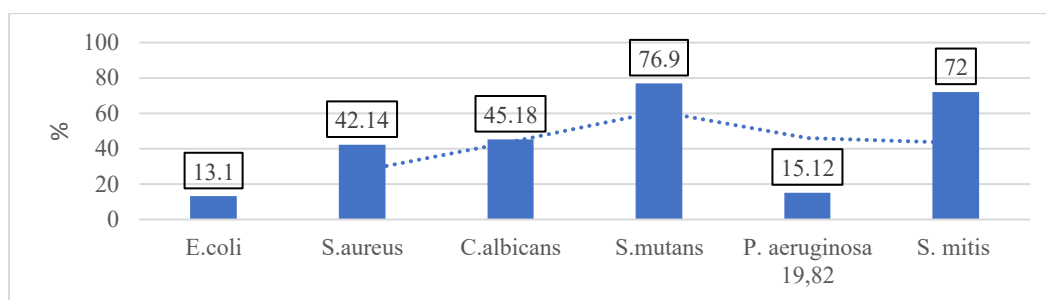


Рисунок 5 – Остаточная адгезия штаммов *E. coli* ATCC 25982, *S. aureus* ATCC 6538, *C. albicans* NoCTC885-653, *S. mutans* – 3003, *S. mitis* NCTC 10712, *P. aeruginosa* B-8243 (Biovitrum, СПб, Россия) к контрольному образцу, площадь 0,45см²

Сравнение опытных и контрольных образцов не выявило статистически значимых различий по уровню остаточной микробной адгезии, что свидетельствует о том, что покрытие ВМР-2 не усиливает микробную колонизацию поверхности имплантата.

Результаты собственных экспериментальных исследований

Экспериментальное исследование *in vivo* было направлено на оценку остеоинтеграции имплантатов с биоактивным покрытием ВМР-2 в сравнении с контрольными образцами. По данным конусно-лучевой компьютерной томографии через 3 месяца после операции вокруг опытных имплантатов определялась неоднородная, но активно формирующаяся костная ткань. На примере имплантата 1.1 плотность крестальной кости составляла 2370–2410 HU, в средней трети — 1450–1500 HU, в апикальной зоне — 1069–1176 HU.

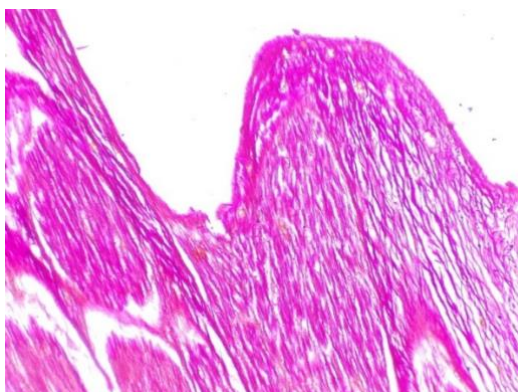
Через 5 месяцев наблюдения у части опытных образцов регистрировались более высокие показатели минерализации в крестальной зоне. Так, у имплантата 4.3 плотность кортикальной кости достигала 2100–2300 HU, в средней трети составляла 1100–1500 HU, а в апикальной области — 1400–1700 HU. Обобщённые показатели плотности костной ткани по данным КЛКТ приведены в таблице 2.

Таблица 2 – 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

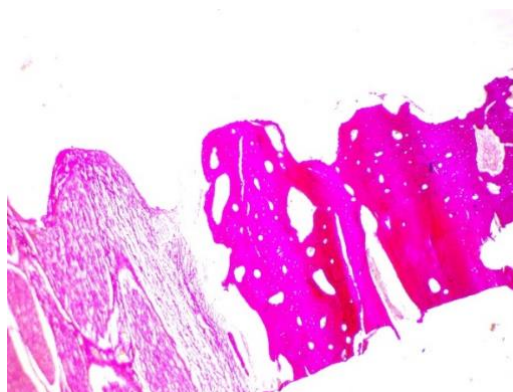
5 месяцев наблюдений							
Костная ткань		Имплантат, животное					
		1,3	2,3	3,3	1,4	2,4	3,4
Кортикальная		2370- 2410	1100- 1250	1300- 1400	2500- 2700	1800- 2200	2100- 2300
Губчатая	Середина	1500- 1660	1450- 1550	1300- 1450	900- 1200	900-980	1100- 1500
	Апекс	900- 1100	1200- 1300	800- 1500	1000- 1700	700- 1000	1400- 1700

Морфологическое и морфометрическое исследование подтвердило, что применение покрытия ВМР-2 сопровождалось более активным формированием костного регенерата. Через 3 месяца в периимплантантной зоне определялись участки грубоволокнистой и пластинчатой костной ткани, признаки ангиогенеза и клеточной перестройки. Через 5 месяцев у опытных образцов отмечались признаки большей зрелости костной ткани: увеличение доли пластинчатой кости, снижение выраженности рыхлой соединительной ткани и более организованное строение костного матрикса (рисунок 6).



Увеличение 40х

А

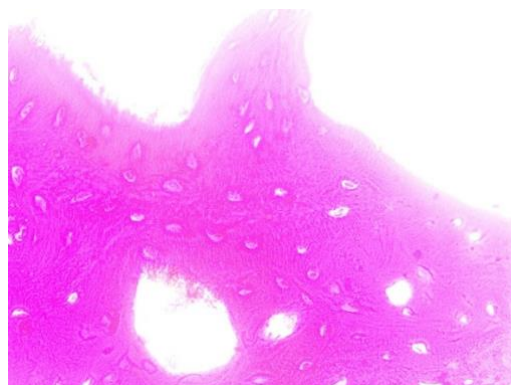


Увеличение 40х

Б



Увеличение 100х



Увеличение 400х

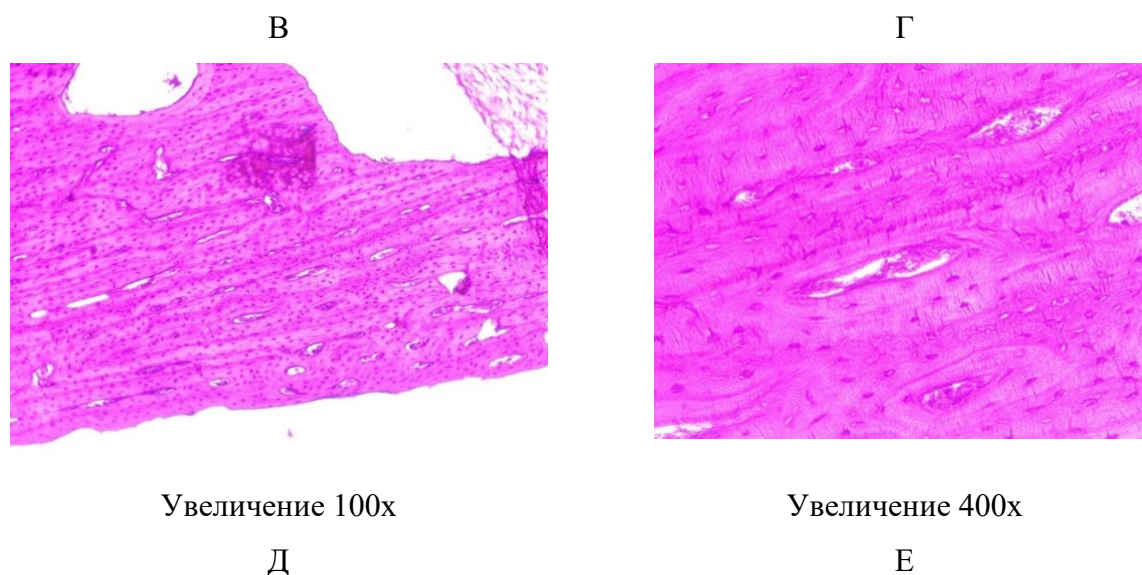


Рисунок 6 – Фрагменты декальцированного среза по ходу ложа от установленного имплантата у животных опытной группы. Окраска Д, Е – гематоксилин-эозин; А, Б, В, Г - пикрофуксин по Ван-Гизону

Обобщённые морфометрические данные представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Обобщенные результаты морфометрического анализа по всем образцам

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

Иммуногистохимическое исследование показало различия в активности остеогенеза между контрольной и опытной группами. В опытной группе с покрытием BMP-2 через 3 месяца отмечалась умеренная и выраженная экспрессия SPARC в остеобластах, остеоцитах и внеклеточном матриксе, что свидетельствовало о более активном формировании и созревании костного матрикса (рисунок 7). К 5-му месяцу у животных опытной группы 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 остеointegrации имплантатов (рисунок 8).

В контрольной группе через 3 месяца выявлялась слабая и умеренная экспрессия SPARC (остеонектин) и умеренная экспрессия остеопонтина, что представлено на рисунке 9. Через 5 месяцев экспрессия SPARC и остеопонтина в контрольной группе оставалась умеренной, что отражено на рисунке 10.

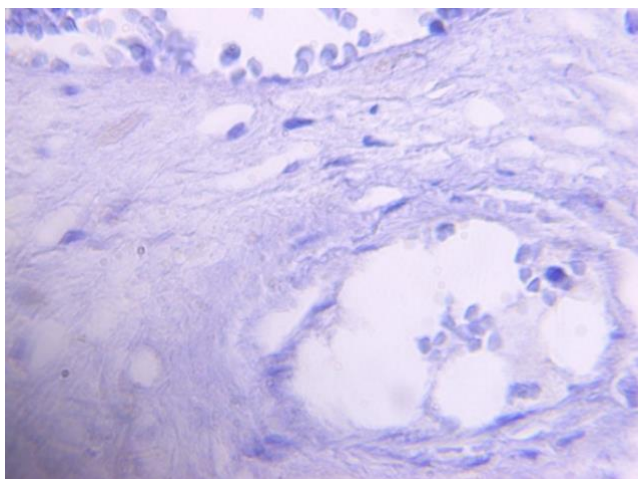


Рисунок 7 – Экспрессия остеопонтина через 3 месяца после операции в опытной группе

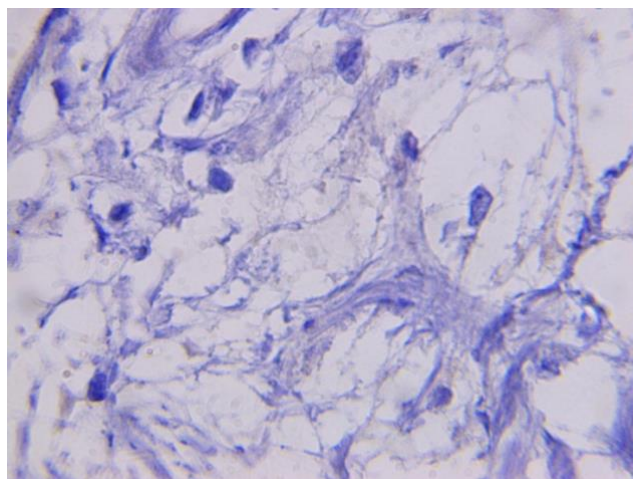


Рисунок 9 – Экспрессия остеопонтина через 3 месяца после операции в контрольной группе

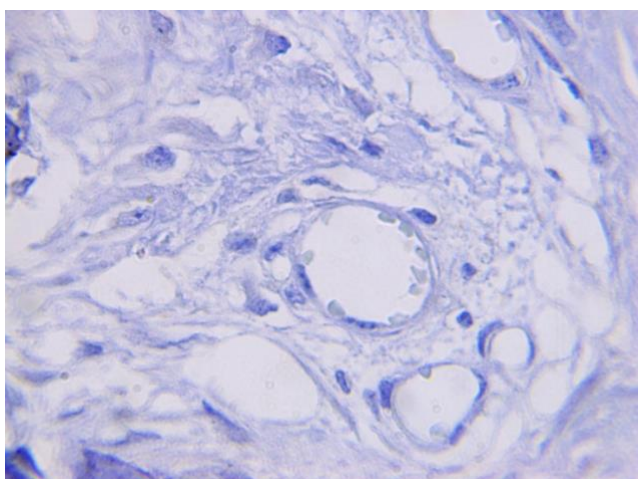


Рисунок 8 – Экспрессия остеопонтина через 5 месяцев после операции в опытной группе

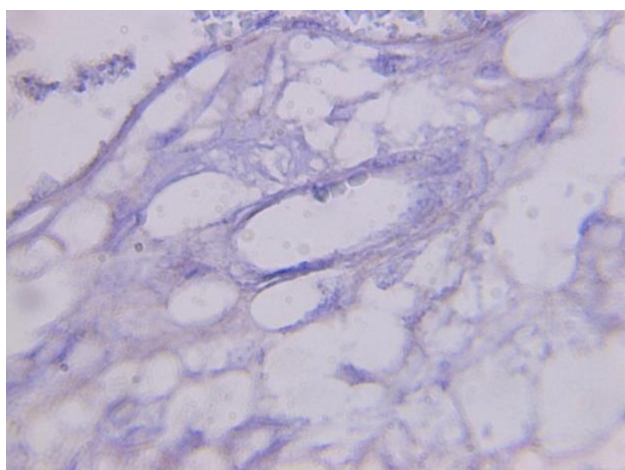


Рисунок 10 – Экспрессия остеопонтина через 3 месяца после операции в контрольной группе

В совокупности данные КЛКТ, морфологии, морфометрии и иммуногистохимии подтверждают, что покрытие ВМР-2 способствует более выраженной минерализации, усилению костного ремоделирования и улучшению качества остеоинтеграции дентальных имплантатов

Статистическая обработка результатов морфометрического исследования позволила выявить закономерности, характеризующие различия между контрольной и опытной группами по ключевым параметрам остеоинтеграции.

Сводные показатели вариационного анализа представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Сводные показатели вариационного анализа морфометрических параметров

	Min.: Минимальное значение.	1st Qu.: Первый квартиль (25- й процентиль).	Median: Медиана (50- й процентиль).	Mean: Среднее значение.	3rd Qu.: Третий квартиль (75-й процентиль).	Max.: Максимальное значение.
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

Анализ распределения количественных признаков выявил биологическую вариабельность процессов регенерации, однако в опытной группе медианные и квартильные значения достоверно смещались в сторону показателей, характеризующих зрелость костной ткани. В частности, отмечалось увеличение площади пластинчатой и снижение — грубоволокнистой костной ткани, что указывает на более интенсивное формирование зрелого матрикса. Клеточный состав отражал переход регенерации в стадию ремоделирования: на фоне стабилизации числа остеобластов и низкой остеокластической активности увеличивалось количество остеоцитов. Особое значение имело усиление ангиогенеза: в опытной группе достоверно ($p < 0,05$) возрастали площадь сосудов, их периметр и средний диаметр, что свидетельствует об улучшении кровоснабжения регенерирующей ткани. Применение параметрических и непараметрических

критериев подтвердило достоверность межгрупповых различий ($p < 0,05$). Таким образом, статистический анализ доказывает, что биоактивное покрытие оптимизирует процессы остеointеграции, обеспечивая более высокую степень зрелости формирующейся костной ткани.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Перспективы дальнейшей разработки темы

Результаты исследования могут быть использованы в дальнейших научных разработках, направленных на создание дентальных имплантатов с биоактивной поверхностью. Полученные данные подтверждают перспективность применения рекомбинантного BMP-2 в составе покрытия имплантатов для усиления остеогенеза, улучшения минерализации костной ткани и повышения качества остеointеграции у пациентов с низким остеогенным потенциалом.

Разработанный лабораторно-экспериментальный подход может служить основой для последующего изучения различных способов фиксации BMP-2 на поверхности имплантатов, подбора оптимальной дозировки и оценки контролируемого высвобождения белка в периимплантатной зоне. Это позволит совершенствовать конструкции имплантатов нового поколения и адаптировать их для клинических ситуаций, связанных с остеопорозом, возрастными изменениями костной ткани, дефицитом витамина D и другими состояниями, снижающими регенераторные возможности кости.

Перспективным направлением является проведение дальнейших доклинических и клинических исследований, направленных на оценку безопасности, эффективности и отдалённых результатов применения BMP-2-содержащих покрытий в имплантологической практике. Такой подход может способствовать повышению предсказуемости дентальной имплантации и расширению возможностей лечения пациентов группы риска.

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 ($0,5\text{--}2,0$ мкг/см²) он обеспечивает достоверное повышение показателей остеointеграции 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 остеопонтина 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

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 BMP-2 в составе покрытия дентальных

имплантатов в эксперименте *in vitro* // Российский стоматологический журнал. - 2025. - Т. 29. - №3. - С. 210-218.

Публикации в научных журналах, включённых в базу данных RSCI

2. 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.

Публикации в изданиях, рекомендованных Перечнями РУДН/ВАК

3. 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.

4. 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.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

КЛКТ — конусно-лучевая компьютерная томография

МТТ-тест — метод оценки метаболической активности клеток (от англ. 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)

BMP-2 — костный морфогенетический белок 2 (от англ. Bone Morphogenetic Protein-2)

HU — единицы Хаунсфилда (от англ. Hounsfield Units) *in vitro* — в пробирке, в лабораторных условиях (лат.) *in vivo* — в живом организме, в эксперименте на животных (лат.)

OD — оптическая плотность (от англ. Optical Density)

p — уровень статистической значимости различий

SLA — тип поверхности имплантата: пескоструйная обработка крупнозернистым абразивом и травление кислотой (от англ. Sandblasted, Large-grit, Acid-etched)

SPARC — остеоонектин, неколлагеновый белок костного матрикса (от англ. Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine)

Начарьян Э.Г.

«Лабораторно-экспериментальное обоснование применения костного морфогенетического белка 2 при дентальной имплантации»

В рамках исследования изучена возможность применения рекомбинантного костного морфогенетического белка-2 в составе биоактивного покрытия дентальных имплантатов для повышения их остеогенного потенциала. Проведён анализ научных данных, выполнены токсикологические и микробиологические исследования, а также экспериментальная оценка

процессов остеоинтеграции *in vivo*. Определены цитостатические свойства имплантатов с покрытием BMP-2 и изучена первичная адгезия кариесогенной и пародонтопатогенной микрофлоры к их поверхности. В эксперименте проведена рентгенологическая, морфологическая, морфометрическая и иммуногистохимическая оценка тканей периимплантатной зоны на различных сроках наблюдения. Полученные результаты подтвердили, что покрытие дентальных имплантатов рекомбинантным BMP-2 способствует более выраженному формированию зрелой костной ткани, повышению оптической плотности кости, усилению экспрессии остеогенных маркеров и улучшению качества остеоинтеграции. Это обосновывает перспективность применения биоактивных BMP-2-содержащих покрытий при разработке имплантатов нового поколения для пациентов с низким остеогенным потенциалом.

Nacharyan E.G.

“Laboratory and Experimental Rationale for the Use of Bone Morphogenetic Protein-2 in Dental Implantation”

The study investigates the potential use of recombinant bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) as a component of a bioactive coating for dental implants to enhance their osteogenic potential. A comprehensive analysis of scientific data was conducted, including toxicological and microbiological studies, as well as an experimental evaluation of osseointegration processes *in vivo*. The cytostatic properties of BMP-2-coated implants were assessed, and the primary adhesion of cariogenic and periodontopathogenic microflora to their surface was studied. The experiment included radiological, morphological, morphometric, and immunohistochemical evaluation of peri-implant tissues at different observation periods. The results demonstrated that coating dental implants with recombinant BMP-2 promotes more pronounced formation of mature bone tissue, increases bone density, enhances the expression of osteogenic markers, and improves the quality of osseointegration. These findings substantiate the перспективность (feasibility/potential) of using BMP-2-based bioactive coatings in the development of next-generation dental implants for patients with low osteogenic potential.