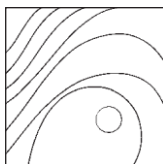


Оценка регенеративных свойств двух неорганических трансплантатов InterOss и Bio-Oss из бычьей кости в области дефекта альвеолярного гребня



Дэвид М. Ким, доктор стоматологии, доктор медицинских наук¹.

Хизер Вонг, доктор стоматологии²

Джерри Чин-И Лин, доктор

стоматологии, доктор

медицинских наук³ Майрон

Невинс, доктор

стоматологии⁴

Документальное исследование было проведено для лечения 54 случаев критического дефекта альвеолярного отростка нижней челюсти у 27 собак. Каждую нижнюю челюсть лечили двумя различными неорганическими костными трансплантатами из крупного рогатого скота (группа А = InterOSS [компания Sigma Graft]; группа В = Bio-Oss [компания Geistlich]) или не совершали никаких манипуляций (группа С = без закладки костного трансплантата), за которым следовал 4-, 8- или 12-недельный период наблюдения. Компьютерная микрофотография, гистология, гистопатология и гистоморфометрические анализы были выполнены для оценки безопасности и эффективности этих процедур. По всем параметрам, оцениваемым в данном исследовании, биосовместимость и заживление дефектов подвергнутых лечению в группе А были неотличимы от группы В. Рентгенографическое сравнение резорбции трансплантата и целостности кости показало аналогичные средние баллы для обеих подопытных групп. Аналогичным образом, статистически различий между этими двумя группами в отношении доли минерализованного объема и плотности не наблюдалось. По сравнению с группой, которой не закладывали материал в область дефекта критического размера обе группы, лечение которых проводили с использованием материалов, показали статистически большее количество костного материала в месте дефекта, и, по-видимому, это помогло сохранить мезиальную и периферийные стенки альвеолярного отростка в месте дефекта. Гистоморфометрия также подтвердила эффективность лечения обеих подопытных групп, поскольку статически значимых различий в отношении доли костной ткани, доли остаточного имплантата и количества костного мозга не наблюдалось. Хотя группы не отличались статистически, в среднем группа А имела более чем в два раза большее количество костной ткани, присутствовавшее на 8 и 12 неделе исследования по сравнению с группой В. В целом, группа А имела положительный результат рекомендуются клинические исследования.

Международный журнал пародонтологии и восстановительной стоматологии 2017; 37:с 234–с244. doi: 10.11607/prd.3305

¹Доцент, отделение пародонтологии, кафедра стоматологии, инфектологии и иммунологии, отделение пародонтологии, Гарвардская школа стоматологической медицины, Бостон, Массачусетс, США.

²Отделение пародонтологии, кафедра стоматологии, инфектологии и иммунологии, отделение пародонтологии, Гарвардская школа стоматологической медицины, Бостон, Массачусетс, США.

³Отделение пародонтологии, кафедра стоматологии, инфектологии и иммунологии, отделение пародонтологии, Гарвардская школа стоматологической медицины, Бостон, Массачусетс, США.

⁴Доцент, по совместительству, Отделение пародонтологии, кафедра стоматологии, инфектологии и иммунологии, отделение пародонтологии, Гарвардская школа стоматологической медицины, Бостон, Массачусетс, США.

Письма направлять: д-ру Дэвиду М. Ким, Гарвардская школа стоматологической медицины, кафедра стоматологии, инфектологии и иммунологии, 188 Longwood Avenue, Бостон, МА 02115, США. Факс: 617-432-1897. Эл, почта: dskim@hsdm.harvard.edu

©2017 - издательство Quintessence Publishing Co Inc.

Применение заменителя костного трансплантата, такого как неорганический костный трансплантат из костей коров (АВВ), позволяет лечащим врачам предсказуемым образом производить процедуры восстановления тканей пародонта и подготовку места для установки импланта. Например, эффективность неорганического костного трансплантата в форме твердых частиц или блоков была широко продемонстрирована в регенерации пародонта, аугментации лунки, горизонтальной и вертикальной аугментациях, синус лифтинге и лечении периимплантного остеопороза^{1–12}.

Документальное исследование позволит исследователям и лечащим врачам сравнивать различные типы костных трансплантатов в условиях эксперимента. InterOss (компания Sigma Graft) является природным гидроксиапатитным костным трансплантационным материалом из костей коров. Этот высокоочищенный, остеокондуктивный материал производится из натуральной кости с помощью многоступенчатого процесса очистки, в том числе с применением гамма-облучения, что делает его химически и структурно сопоставимым с минерализованной человеческой костью. Структура пор и взаимосвязанная система пор InterOSS позволяют трансплантационному материалу выступать в качестве матрицы для жидкостей организма, роста кости, кровеносных сосудов, костного мозга и костных клеток.

Это документальное исследование было выполнено для исследования безопасности и эффективности двух схожих неорганических костных трансплантатов на основе кости коров, которые доступны лечащим врачам для лечения дефектов альвеолярного отростка критического размера.

Материалы и методы

Исследование животных и биоматериалов

Это доклиническое исследование было проведено в соответствии с нормами и правилами надлежащей лабораторной практики управления по надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов Соединенных Штатов. В общей сложности 27 самцов биглей (в возрасте от 17 до 23 месяцев и весом от 8 до 18,5 кг), выведенных исключительно для биомедицинских исследовательских целей, были получены у лицензированного поставщика. Они были акклиматизированы перед началом исследований. Питание собак обеспечивалось в соответствии с диетой с неограниченным доступом к питьевой воде. Биоматериалы, использованные для этого исследования, были неорганическими костными трансплантатами из коров от двух производителей (Inter-Oss компании Sigma Graft и Bio-Oss компании Geistlich). Три случайным образом отобранные группы (количество подопытных животных на группу $n = 9$) подвергались хирургическим вмешательствам с применением одного из двух неорганических костных трансплантатов из коров или без подсадки данных материалов.

Дефекты альвеолярного отростка критического размера

(мезиодистальные размером около 6 мм и апикально-корональные размером около 6 мм; двустенные дефекты, отсутствующие буккальные и лингвальные пластины) были сделаны в правой и левой нижнечелюстной премолярной области (P3 и P4) сразу после удаления временных интервала оценки были выбраны для проведения эксперимента (4, 8 и 12 недель). Таким образом, были доступны шесть выборочных участков для всех трех групп (от А до С) на каждом временном интервале.

Группа А получила от 250 до 1000 мкм материала InterOss на шести участках для оценки на 4, 8 и 12 неделе эксперимента. Группа В получила от 250 до 1000 мкм материала Bio-Oss на шести участках для оценки на 4, 8 и 12 неделе эксперимента. В группе С подсадка трансплантационного материала не производилась. Шесть участков подсадки были оценены после 4 недель эксперимента, шесть участков подсадки после 8 недель и шесть участков - после 12 недель. Во всех подопытных группах не использовали барьерные мембраны.

Общая и местная анестезия

Все хирургические процедуры проводились под общей и местной анестезией в стерильных условиях. Ротовые полости животных были промыты 0,12% раствором хлоргексидина перед операцией. Инфузия лактированного раствора Рингера проводилась во время операции с помощью катетера, введенного в пригодную для этого вену. За 1 день до операции вводили предоперационный клавомокс (250 мг, перорально, дважды за день). В день операции подкожно вводили Ацепромазин малеат (0,1 мг/кг) и атропин сульфат (0,05 мг/кг), а затем пропофол (6,0 мг/кг, в/в), изофлуран (для эффекта, через ингаляцию) и цефазоин (25 мг/кг, в/в). Местную анестезию (2% лидокаина с 1:100 000 эpineфрина) ставили в зонах хирургических вмешательств.

Процедура создания хирургических дефектов и аугментации альвеолярного отростка

Первоначальные разрезы были выполнены в десневой борозде третьего (P₃) и четвертого (P₄) нижнечелюстного премоляра, а лоскут был поднят, чтобы освободить доступ к нижнечелюстной кости. Был произведен разрез зубов на отдельные корневые сегменты с последующим их извлечением. Двусторонние дефекты альвеолярного отростка

размером около 6 мм мезиодистально и 6 мм апикально-коронально были созданы путем удаления буккальных и лингвальных пластин, образуя таким образом дефект двух стенок.

Процедура аугментации альвеолярного отростка

Каждая нижняя челюсть была выбрана случайным образом для подсадки двух различных костных трансплантационных материалов (группы А и В) или включена в группу в которой подсадку не производили (группа С). Суспензия трансплантационных материалов в стерильном физиологическом растворе была приготовлена и применена в области дефектов, в соответствии с случайным распределением. Для покрытия обработанных или необработанных участков не применялась барьерная мембрана. Лоскуты были уложены на место надкостного надреза, чтобы обеспечить первичное закрытие раны без натяжения, матрацными и узловыми швами (с применением Викрила и шовного материала Ethicon).

Обезболивание достигалось с помощью мелоксикама (0,2 мг/кг, подкожно), гидроморфона (0,05 мг/кг, внутривенно) и препаратом рекувира (1,5-2,7 мг/кг, местно, после операции). В течение 7 дней после операции производилось обезболивание и профилактика инфекций с применением клавамокса (250 мг, перорально, дважды за день), мелоксикама (0,1 мг/кг, подкожно, раз в день) и ополаскивание ротовой полости 0,12% хлоргексидином. Питание животных производили с соответствии с сертифицированной

диетой для собак (LabDiet) и мягкой диетой (8 недель после операции, LabDiet или Hills Pet Nutrition) в течение всего периода заживления и фазы выздоровления. У всех животных отслеживали заболеваемость, смертность, травмы и наличие пищи и воды до двух раз в день. Детальное клиническое обследование каждого животного проводилось при поступлении, периодически во время акклиматизации, ежедневно в 1 неделю эксперимента и еженедельно после первой недели. Вес всех животных при получении, периодически во время акклиматизации, за день до операции и еженедельно во время лечения устанавливался и регистрировался.

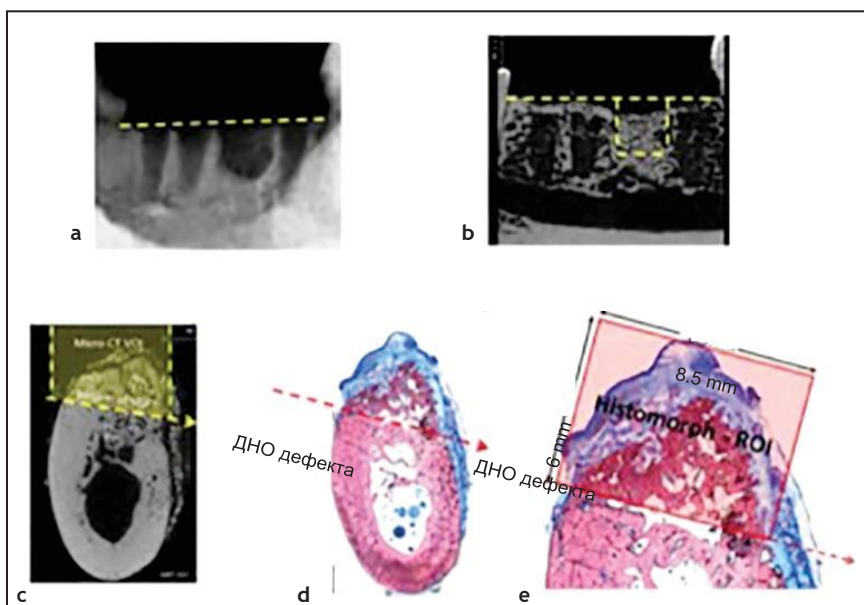


Рис. 1 Демонстрация метода, используемого для определения гистоморфометрической исследуемой области (ROI). а) Установить высоту гребня. б) Переместить гребень на компьютерную томографию и установить исходное положение дефекта для исследуемой области (VOI). с) буккально-лингвальное сечение представляющее дно исследуемой области. d) Перенести местоположение дефекта дна на гистологический срез. е) Определить гистоморфологическую картину исследуемой области.

Умерщвление

Эвтаназия животных проводилась путем передозировки пентобарбиталом внутривенно во временной точке оценки результатов. Полученные нижние челюсти были помещены в 10% нейтральный буферный формалин и отправлены в лабораторию патологической анатомии для гистопатологических и гистоморфометрических исследований. По окончании исследования были получены снимки рентгеновского аппарата Faxitron, а правые и левые нижние челюсти были собраны и исследованы с помощью компьютерной микротомографии (MicroCT), чтобы определить долю минерализованного объема и плотность минерализации образцов. Затем на образцах было произведено гистологическое исследование без предварительной декальцинации и анализ с использованием

полуколичественной оценки гистологических изменений и гистоморфометрии.

Компьютерная микротомография

Мезиальная и дистальная части расщели для облегчения сканирования дефектных мест с помощью сканера Scanco MicroCT 40 с разрешением 36 мкм³. Сканирование выполнялось при среднепиковом анодном напряжении рентгеновской трубки 55 кВп и силе тока 145 мкА. Исследуемую область, с дефектом в центре, который не включал ранее существовавшую кость, определяли с помощью ручной сегментации места дефекта (рис. 1). Исследуемая область была определена как участок размером 6 мм мезиодистально × 6 мм апикально-коронально и охватывала полную высоту нижней челюсти в буккально-лингвальном направлении. Объем кости (BV), остаточный объем трансплантата (RGV) и минимальная плотность костной ткани должны были быть определены для каждого

участка подсадки области исследования, которая охватывала первоначальный дефект. Однако, учитывая, то что плотности керамических компонентов трансплантата и настоящей кости очень похожи, невозможно было точно отличить кость от остаточных трансплантационных материалов. Поэтому, регистрировали общий объем минералов (кость + остаточный трансплантат) и общую минеральную плотность (кость+остаточный трансплантат).

Гистология, гистопатология и гистоморфометрический анализ

Для каждого образца был сделан рентгеновский снимок перед рассечением (при необходимости) и произведено гистологическое исследование без предварительной декальцинации. Каждый образец был погружен в полиметилметакрилат. Два буккально-лингвальных среза толщиной от 50 до 100 мкм были отобраны из центра дефекта, чтобы сохранить трансплантаты и предотвратить отрыв биоматериалов во время выполнения среза. Один срез был окрашен

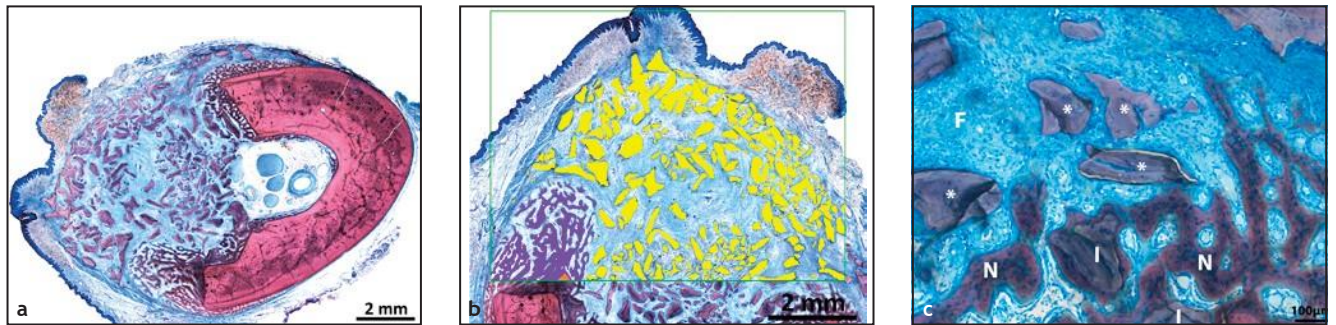


Рис. 2 Группа А к 4 неделе исследования продемонстрировала значительное количество остаточного материала с некоторым образованием незрелой костной ткани (N). Наблюдаются имплантированный трансплантационный материал, который не интегрирован (*) в новый рост костей, и имплантированный трансплантационный материал, интегрированный (I) в новый рост костей. F = грубоволокнистая соединительная ткань.

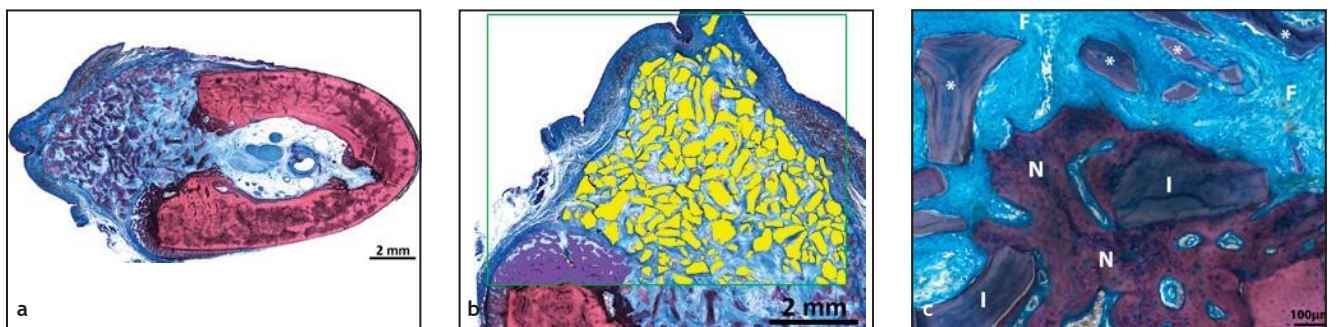


Рис. 3 Группа В к 4 неделе исследования продемонстрировала значительное количество остаточного материала с некоторым образованием незрелой костной ткани (N). Наблюдаются имплантированный трансплантационный материал, который не интегрирован (*) в новый рост костей, и имплантированный трансплантационный материал, интегрированный (I) в новый рост костей. F = грубоволокнистая соединительная ткань.



Рис. 4 Группа С к 4 неделе, продемонстрировала отсутствие остеогенеза (N). Наблюдается толстый слой грубоволокнистой соединительной ткани (F). А = ранее существовавший участок альвеолярного отростка.

синим раствором Стевенеля / раствором ван Гизона, а оставшаяся часть была окрашена гематоксилин-эозином. Срезы были подвергнуты гистопатологической оценке независимым сертифицированным патологоанатомом.

Использовалось компьютерное программное обеспечение (Image-Pro Plus, Media Cybernetics) для количественной оценки костной ткани, костного мозга и остаточного

трансплантата для всех подопытных групп с использованием определенной области исследования. Область исследования для каждого гистоморфометрического микроскопического препарата была определена на основе сопоставления послеоперационных рентгеновских снимков еще живых подопытных животных,

снимков компьютерной микротомографии умерщвленных животных и гистологических микроскопических препаратов. Этот метод определения области исследования был выбран из-за сложности четкого определения исходных пределов дефекта ввиду обширной эрозии костей и перестройки тканей, возникающей в местах дефектов и вокруг них, особенно в

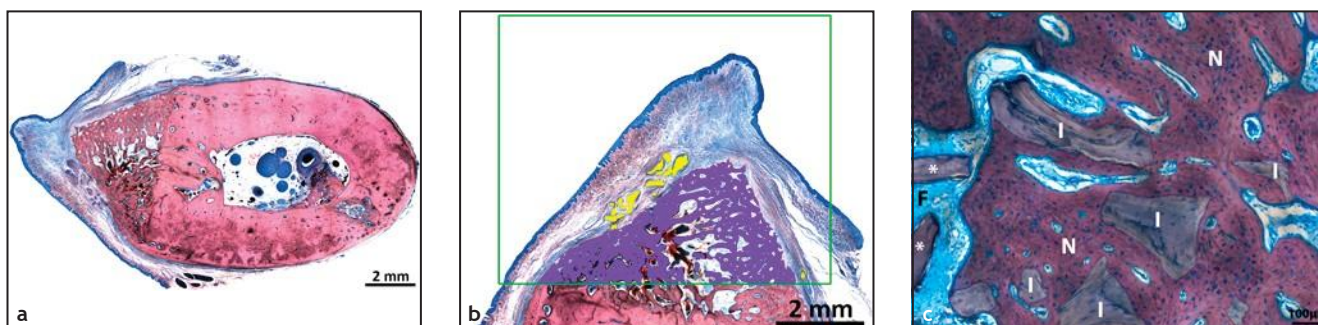


Рис. 5 Группа А к 8 неделе продемонстрировала значительный остеогенез (N). Некоторые имплантированные трансплантационные материалы интегрировались или частично интегрировались в рост костной ткани (I); некоторые из них не интегрировались (*). F = грубоволокнистая соединительная ткань.

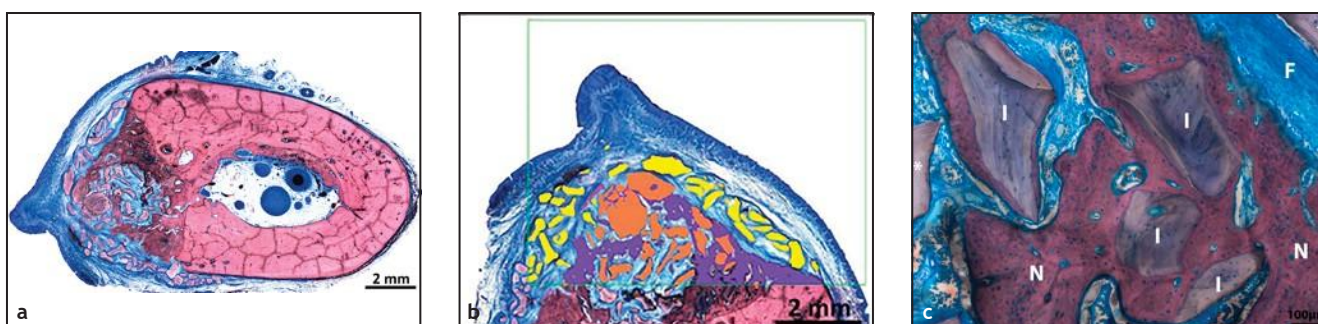


Рис. 6 Группа В к 8 неделе продемонстрировала значительный остеогенез (N). Некоторые имплантированные трансплантационные материалы интегрировались или частично интегрировались в рост костной ткани (I); некоторые из них не интегрировались (*). F = грубоволокнистая соединительная ткань.

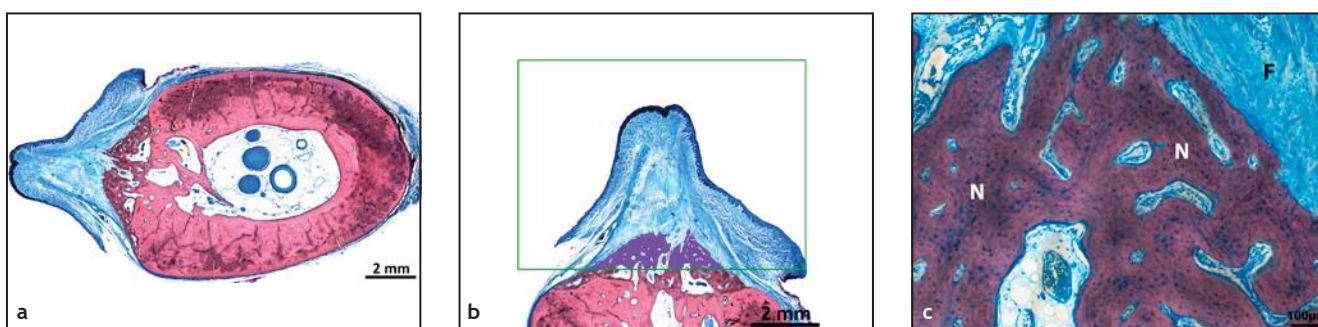


Рис. 7 Группа С к 8 неделе продемонстрировала минимальный остеогенез (N). Наблюдается толстый слой грубоволокнистой соединительной ткани (F), содержащей капилляры.

дефектах, куда не производилась подсадка трансплантационного материала (Рис. 2-10). Иными словами, рентгеновские снимки живых подопытных животных были наложены на мезиодистальный снимок компьютерной микротомографии, сделанный вблизи центра дефекта, а первоначальная высота

альвеолярного отростка и расположение дефекта были перенесены на снимок компьютерной микротомографии с использованием оставшихся молярных и премолярных зубов в качестве ориентиров. Затем это изображение использовалось для определения области исследования при компьютерной микротомографии. Затем был

получен буккально-лингвальный снимок компьютерной микротомографии, который визуально соответствовал или был похож на буккально-лингвальный гистологический срез. Нижняя часть дефекта была перенесена на микроскопический препарат с использованием соответствующих морфологических ориентиров, а верхняя и нижняя части

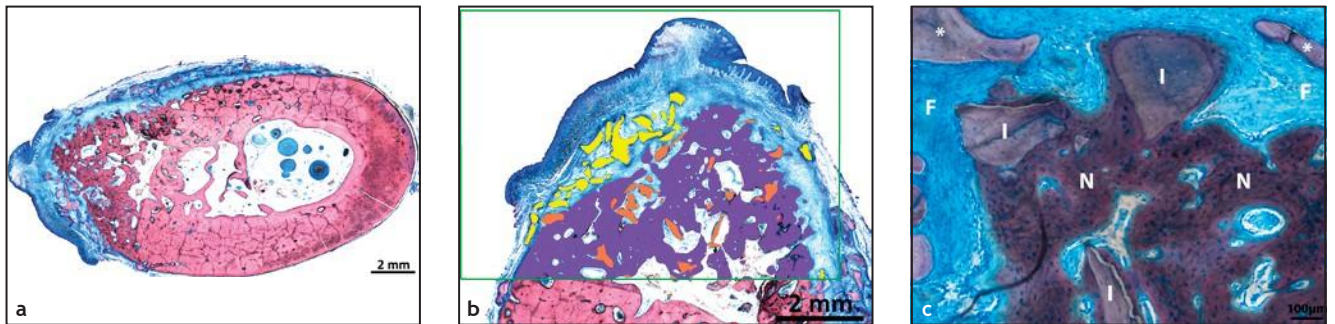


Рис. 8 Группа А к 12 неделе продемонстрировала сочетание зрелой и незрелой костной ткани (N). Некоторые имплантированные трансплантационные материалы интегрировались или частично интегрировались в рост костной ткани (I); некоторые из них не интегрировались (*). F = грубоволокнистая соединительная ткань.

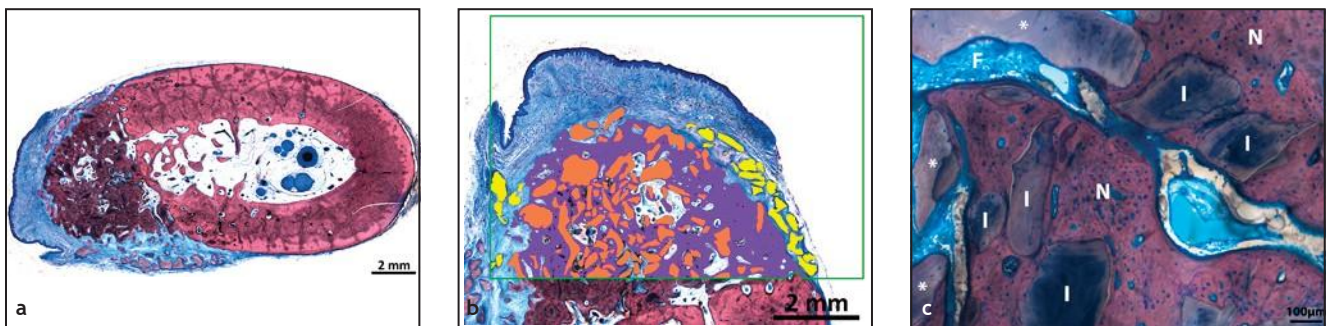


Рис. 9 Группа В к 12 неделе продемонстрировала преимущественно незрелую костную ткань, но по всему образцу наблюдалось сочетание зрелой и незрелой костной ткани (N). Некоторые имплантированные трансплантационные материалы интегрировались или частично интегрировались в рост костной ткани (I); некоторые из них не интегрировались (*). F = грубоволокнистая соединительная ткань.

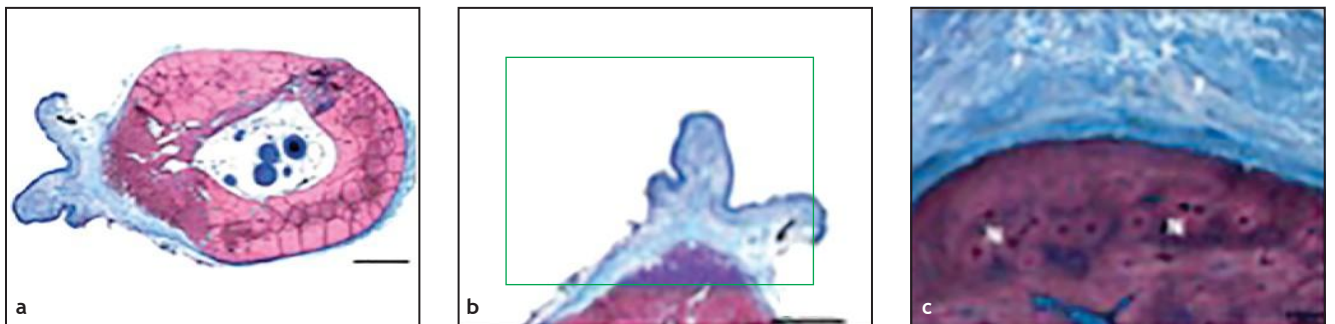


Рис. 10 Группа С к 12 неделе продемонстрировала преимущественно незрелую костную ткань (N) и толстый слой грубоволокнистой соединительной ткани (F), содержащей капилляры.

первоначального дефекта 6 мм глубины были установлены. Далее была определена соответствующая буккально-лингвальная ширина нижней челюсти на основе изображений компьютерной микротомографии и эта ширина использовалась для определения ширины области исследования на гистологическом срезе. Затем этот процесс был повторен для всех

гистоморфометрических микроскопических препаратов. Гистоморфометрия была выполнена на всех микроскопических препаратах, подкрашенных синим раствором Стивенеля / ван Гизона, чтобы определить:

- Область дефекта (DA): область, представляющую материал трансплантата и регенерированную ткань в области исследования дефекта

- Область остеогенеза (BA): область, представленная новой альвеолярной костной тканью
- Доля костной ткани (%B; BA/DA*100): область, представленная новой альвеолярной костью в виде функции от общей ткани, регенерированной в области исследования дефекта
- Область костного мозга (BMA): область, представленная новым костным мозгом в пределах области исследования

- Долю костного мозга (%BM; $BM/DA*100$): площадь, представленная новым костным мозгом в пределах области исследования в виде функции от общей области исследования
- Плотность остеогенеза (BA/BMA): соотношение регенерированных площадей костной ткани и мозговой ткани
- Остаточную площадь имплантата (GA): площадь, представляющую остаточный трансплантационный материал
- Долю площади трансплантата (%GA; $GA/DA*100$): площадь, представляющую остаточный трансплантационный материал в виде функции от общей области исследования

Статистический анализ

Эффект лечения группы оценивался с использованием обобщенной линейной смешанной модели. Плотность показала нормальное распределение, доли тканей показали биномиальное распределение, а гистопатология – полиномиальное распределение. Результаты всех попарных сопоставлений были представлены при уровнях значимости 0,05 и 0,01 после корректировок для многократных сопоставлений. Все конечные точки были проанализированы с помощью двухвыборочного z теста.

Результаты

Клиническая оценка

Заживление ран у всех животных, кроме трех, проходило нормально. В течение 1 недели после операции у трех

животных были обнаружены открытые раны на четырех участках (один в группе А, один в группе В и два в группе С). Было принято решение удалить остатки трансплантационных материалов и повторно подсадить свежий трансплантационный материал на данных участках в пределах групп А и В. Два животных из 4-недельного периода оценки, подвергнутые операции в группе А, В, С, и одно животное из 12-недельного периода оценки (группы В и С) должны были пройти восстановительную операцию из-за открытия участка подсадки в результате срыва швов через десну. После восстановительной операции раны заживали нормально.

Рентгенографическая оценка

Произведена качественная оценка поперечных снимков каждой челюсти, а так же оценка остеогенеза костей в трансплантационный материал с использованием следующих критериев: 0 = отсутствие видимого остеогенеза; 1 = минимальное замещение трансплантата (< 50%); 2 = умеренное замещение трансплантата (> 50%); 3 = трансплантат полностью замещен новой костной тканью.

Никаких значительных рентгенографических различий между двумя подсаженными трансплантационными материалами не наблюдалось ни одном из интервалов оценки результатов. За исключением одного участка, на который была

подсадка в группе А. Группы А и В получили рентгенографическую оценку резорбции 0 или 1.

Результаты компьютерной микротомографии

Остеогенез характеризовался заполнением дефектов от их дистальных и мезиальных и от апикального до коронального краев. Периодическая миграция или смещение трансплантатов из места дефекта наблюдалась из-за отсутствия барьерной мембраны. Поскольку в группе С не производилась подсадка костного трансплантата, наблюдалась чрезмерная резорбция мезиальной и дистальной альвеолярной кости вокруг дефекта. В некоторых случаях это приводило к увеличению размера дефекта вдвое.

Объемное содержание минералов: BV/TV (по результатам компьютерной микротомографии)

Не было отмечено статистически значимых различий между двумя группами, которым подсаживали трансплантат в любой момент времени оценки. Однако, наблюдались значительные различия между дефектами критического размера, в которых не производилась подсадка и дефектами критического размера, в которых подсадка костными трансплантатами производилась. В группах А и В наблюдались значительно более высокие объемы минерализованного материала, чем в дефектах критического размера без подсадки, на 4, 8 и 12 неделе эксперимента ($P < 0,01$).

Минеральная плотность костной ткани: мг гидроксиапатита/см³ (согласно результатам компьютерной микротомографии)

У каждого дефекта также была определена средняя минерализованная плотность (мг гидроксиапатита/см³). Группы А и В имели значительно более высокие значения средней плотности по сравнению с дефектами без закладки костного трансплантата на всех временных интервалах ($P < 0,01$). Различий между средними плотностями групп А и В на 4 неделе эксперимента не наблюдалось. Однако, различия наблюдались к 8 и 12 неделе между двумя группами, при этом группа В имела несколько более высокую среднюю плотность костного минерала по сравнению с группой А ($P < 0,05$ и $P < 0,01$ соответственно).

Остаточный трансплантационный материал и резорбция (полуколичественная морфология)

Количество остаточного трансплантационного материала и количество новой/восстановленной костной ткани оценивали следующим образом: 0 = отсутствует, 1 = минимальное, 2 = мягкая ткань, 3 = умеренная ткань, 4 = отмеченная. Среднее количество остаточного трансплантационного материала в месте дефекта и окружающих мягких тканях, в целом несколько уменьшилось с 4 по 12 неделю в группе А (с 3,0 до 2,3 и 2,5 соответственно), в группе В (с 2,8 до 2,7 и 2,5 соответственно), за исключением незначительного увеличения в группе А на 12 неделе по сравнению с 8 неделей. Этот параметр

был оценен с использованием полуколичественного подхода (т.е. оценки общего количества присутствующего материала). Таким образом, эти значения количеств присутствующего трансплантационного материала не являются точными, хотя отражают приблизительную величину. Иногда в группах А и В материал трансплантата мигрировал за пределы места дефекта и образовал периостальную реакцию на лингвальных и/или буккальных поверхностях ранее существовавшей альвеолярной кости. Эти трансплантационные материалы были окружены небольшим количеством грубоволокнистой соединительной ткани и, как представляется, не вызывали дополнительной воспалительной реакции или других нежелательных эффектов.

Остеогенез и восстановление костей (полуколичественная морфология)

Среднее количество свежих/восстановленных костных тканей, находившееся во всем месте дефекта альвеолярной кости, увеличилось с 4 по 12 неделю для каждой группы исследования. На 12 неделе группа А имела наибольшее относительное количество свежих/восстановленных костных тканей (средний балл 3,0), группа В имела наименьшую сумму (средний балл 2,3), а группа без подсадки трансплантационного материала имела средний балл 2,5. Стоит отметить, что этот параметр был оценен с

полуколичественного подхода и поэтому не является точной величиной свежесформированных костных тканей, присутствующих в каждом образце. Тем не менее, он дает приблизительное понимание о количестве свежих / восстановленных костных тканей и дает более широкую оценку, чем методы гистоморфометрии.

Созревание костной ткани

Созревание костной ткани оценивали следующим образом: 4 = зрелая альвеолярная кость, 3 = более зрелая, чем незрелая костная ткань, 2 = 50% зрелой костной ткани и 50% незрелой, 1 = преобладание незрелой костной ткани над зрелой, и 0 = преимущественно незрелая костная ткань. К 4 неделе остеогенез во всех трех группах находился преимущественно на стадии незрелой костной ткани (балл 0). К 8 неделе, группы А и С имели средний балл созревания костной ткани 0,2, при этом пять образцов из каждой подопытной группы имели балл 0, так же один образец от каждой группы имел балл 1. Все образцы группы В имели оценку зрелости кости 0 к 8 неделе исследования. К 12 неделе показатель созревания костной ткани был самым высоким в группе С (средний балл 3,0), в то время как группа А показала средний балл 2,3, а группа В – самый низкий средний балл – 1,5.

Эти результаты означают, что в среднем костная ткань созревает немного быстрее в группе С (в дефектах, в которые не подсаживали трансплантационный материал). Предположительно, это связано со способностью кости заполнять место дефекта без необходимости окружения и резорбции трансплантата. Тем не менее, результаты морфометрии показывают, что доля костной ткани является самой низкой на 12 неделе в группе С. Таким образом, количество костного заполнителя дефекта является самым низким в дефектах без закладки костного трансплантата, но зрелость кости, которая присутствует в этих дефектах, была немного выше к 12 неделе исследования.

*Биосовместимость:
воспалительные реакции и
некроз*

К 4, 8 и 12 неделе были отмечены редкие случаи появления полиморфоядерных клеток (нейтрофилов) и, чаще всего, макрофаги и многоядерные гигантские клетки окружали материал имплантата в группах А и В. Группа С имела низкую частоту встречаемости нейтрофилов к 4; макрофагов – к 4, 8 и 12 неделе; и многоядерных гигантских клеток к 12 неделе эксперимента. К 8 неделе группы А и В имели значительно более высокие уровни макрофагов, чем группа без подсадки трансплантационного костного материала ($P < 0.01$) поскольку эти клетки активно встраивались в фагоцитарное поглощение кальций-фосфатной керамики, являющееся основным

способом резорбции керамических заменителей костной ткани. Макрофаги и многоядерные гигантские клетки были обнаружены с аналогичной частотой и степенью резорбции в группах А и В, хотя средние баллы были ниже к 12 неделе, чем к 8 для обеих трансплантационных материалов (что означает снижение воспаления со временем, хотя и незначительное. Признаков некроза не было обнаружено ни в одной из групп.

Таблица 1 - Результаты гистоморфометрии																		
	4 неделя						8 неделя						12 неделя					
	Группа А		Группа В		Группа С		Группа А		Группа В		Группа С		Группа А		Группа В		Группа С	
	Знач	σ	Знач	σ	Знач	σ	Знач	σ	Знач	σ	Знач	σ	Знач	σ	Знач	σ	Знач	σ
Доля костной ткани, %	1,94	1,66	4,11	1,52	2,36	3,16	8,88	6,32	3,58	3,07	3,99	1,84	14,76	3,96	7,54	5,82	4,27	2
Доля костного мозга, %	3,0	4,99	3,62	2,75	1,92	3,12	3,12	2,66	1,57	2,37	0,99	0,49	5,35	2,96	2,79	3,6	0,55	0,33
Остаточный трансплантационный материал, %	10,4	3,84	13,2	6,2	0	0	6,88	6,04	8,72	2,75	0	0	5,78	2,83	5,73	4,43	0	0
Плотность остеогенеза	1,19	0,64	1,46	0,87	1,84	0,75	4,3	3,19	16,1	17,3	4,58	1,86	3,26	1,43	6,58	4,47	14,75	15,97

Общие характеристики выздоровления: фиброз, жировая инфильтрация и реваскуляризация

В целом количество фиброза, как правило, уменьшалось с 4 до 12 недели, за исключением незначительного увеличения фиброза в группе А к 12 неделе по сравнению с 8 недель. Между группами А и В оценки фиброза, как правило, эквивалентны в каждый момент времени, за исключением 12 недели, которая имела значительно более высокие показатели фиброза в группе А по сравнению с группами В и С ($P < 0.05$).

В любой момент времени не было отмечено никаких случаев жировой инфильтрации, связанной с фиброзом.

Реваскуляризация, связанная с оценками фиброза для группы А, была сопоставима с группами В и С без статистических различий в любой момент времени.

Гистоморфометрия: Доля площади костной ткани (BA/DA)

Дефекты критического размера в которых не производилась подсадка (группа С) имели средний прирост костной ткани

менее 5% во всех временных интервалах (2,35% к 4 неделе, 3,99% к 8 неделе и 4,27% к 12 неделе), что хорошо согласуется с данными компьютерной микрофотографии и подтверждает критический характер этой модели. Хотя статистически нет различий, в среднем группа А имела более чем в два раза больший средний прирост костной ткани, присутствовавший к 8 и 12 неделе (8,88% и 14,76%, соответственно) по сравнению с группой В (3,58% и 7,54%, соответственно). Обе группы А и В показали прирост количества костной ткани на протяжении 12-недельного периода, в то время как группа С достигла своего пика прироста костной ткани к 8 неделе исследования (рис. 11–13 и таблица 1).

Гистоморфометрия: Доля площади костного мозга (BMA/DA)

Нет статистических различий между группами А и В. В целом, группа С имела самую низкую долю костного мозга во все временные интервалы. Доля костного мозга была самой высокой в группе В к 4 неделе (3,62%) и в группе А к 8 и 12 неделе (3,12% и 5,35%, соответственно) (Рис. 11 и Табл.

Гистоморфометрия: Доля площади остаточного трансплантата (GA/DA)

В целом, обе группы А и В были очень схожи на протяжении всего исследования; никаких статистических различий в количестве остаточного трансплантата не наблюдалось между двумя подопытными группами. К 12 неделе значения составляли $5,78\% \pm 2,83$ для группы А и $5,73 \pm 4,43$ для группы В (Рис. 12 и Таблица 1).

Гистоморфометрия: Плотность костной ткани (BA/BMA)

Плотность свежей костной ткани определяется отношением области вновь образованной костной ткани к области вновь образованного костного мозга и может быть использована для понимания плотности костной ткани. За исключением 8-й недели, сама высокая плотность костной ткани наблюдалась в группе С, которая была

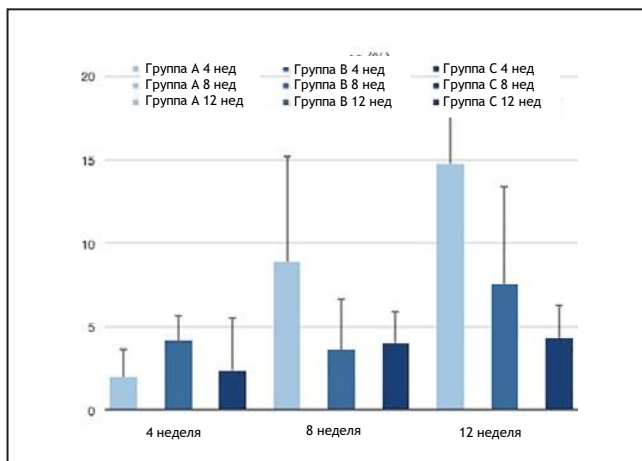


Рис. 11 Доля костной ткани.

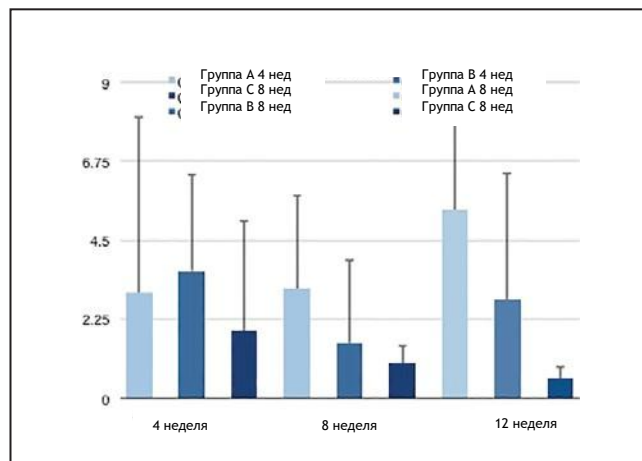


Рис. 12 Доля костного мозга.

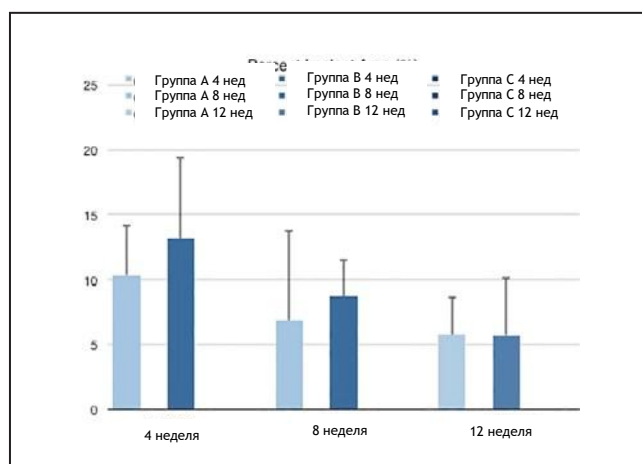


Рис. 13 Доля остаточного трансплантата.

преимущественно обусловлена низким количеством костной ткани, наблюдаемым в этих дефектах, и еще меньшим количеством костного мозга. К 8-й неделе исследования группа В имела значительно более высокую среднюю плотность костной ткани, чем группы А и С (Рис. 13 и Таблица 1).

Обсуждение результатов

В данном доклиническом исследовании сравнивались два похожих неорганических костных трансплантата из костей коров. Nakajima и др.¹³ провели доклиническое исследование с аналогичной конфигурацией дефекта

альвеолярной кости, но все костные трансплантаты были покрыты мембраной e-PTFE и закреплены буккально с помощью крепежных винтов из нержавеющей стали.¹³ Они отметили, что размещение барьерной мембраны усиливает потенциал регенерации костей при хирургически созданных дефектах. Они также выждали 8 месяцев до биопсии и получили высокую долю костного матрикса (71% – 89%). Kim и др.¹⁴ также провели доклиническое исследование с аналогичными дефектами альвеолярного отростка оценивая регенеративный ответ на

неорганический костный трансплантат использовавшийся отдельно или в сочетании с биорезорбируемой двухслойной коллагеновой мембраной из свинины (СМ). Согласно их результатам КТ, плотность костной ткани для участков с применением как неорганического костного трансплантата коров, так и коллагеновой мембраны, была значительно выше, чем для участков, с применением только неорганического костного трансплантата коров или без применения каких-либо биоматериалов к 8 и 16 неделе (Р

<0.01). В настоящем доклиническом исследовании не использовалась барьерная мембрана для того, чтобы изучить естественную способность неорганического костного трансплантата к образованию новой кости при отсутствии барьерной мембраны. В результате чего, процент живой костной ткани может быть ниже, чем в других зарегистрированных исследованиях. Отсутствие барьерной мембраны может негативно сказаться на сдерживании трансплантата и стабилизации раны.

По всем параметрам, оцененным в данном 12-недельном исследовании, биосовместимость и заживление дефектов в группе А были неотличимы от дефектов группы В. Рентгенографическое сравнение резорбции трансплантата и целостности кости показало схожие результаты для обеих подопытных групп. Аналогичным образом, статистически различий между этими двумя группами в отношении доли минерализованного объема и плотности не наблюдалось. По сравнению с группой, которой не закладывали материал в область дефекта критического размера обе группы, лечение которых проводили с использованием материалов, показали статистически большее количество костного материала в месте дефекта, и, по-видимому, это помогло сохранить мезиальную и периферийные стенки альвеолярного отростка в месте дефекта. Хотя некоторая миграция обоих трансплантационных материалов наблюдалась из-за отсутствия использования барьерной мембраны, общая потеря этих материалов не поставила под угрозу эффективность участков с подсадкой по сравнению с участком дефекта без подсадки.

Гистоморфометрия также подтвердила сходство в эффективности лечения подопытных групп, поскольку никакие статистически значимые различия не были отмечены в отношении доли костной ткани, доли остаточного имплантированного материала и доли костного мозга.

Выводы

Оба неорганических костных трансплантата были биосовместимы и остеокондуктивны, а так же клинически и гистологически успешными в формировании кости.

Благодарности

Авторы сообщили об отсутствии конфликтов интересов, связанных с этим исследованием. Это исследование было спонсировано грантом от SigmaGraft Inc. Испытательный центр в данном исследовании являлся MPI Research Inc. Гистологическое, гистоморфометрическое исследование и сбор данных были проведены компанией Alizée Pathology LLC.

Ссылки

1. Camelo M, Nevins ML, Schenk RK, et al. Clinical, radiographic, and histologic evaluation of human periodontal defects treated with Bio-Oss and Bio-Gide. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1998;18:321-331.
2. Nevins ML, Camelo M, Lynch SE, Schenk RK, Nevins M. Evaluation of periodontal regeneration following grafting intrabony defects with bio-oss collagen: A human histologic report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2003;23:9-17.
3. Stavropoulos A, Karring T. Guided tissue regeneration combined with a deproteinized bovine bone mineral (Bio-Oss) in the treatment of intrabony periodontal defects: 6-year results from a randomized-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 2010;37:200-210.
4. Nevins ML, Camelo M, Schupbach P, Kim

DM, Camelo JM, Nevins M. Human histologic evaluation of mineralized collagen bone substitute and recombinant platelet-derived growth factor-BB to create bone for implant placement in extraction socket defects at 4 and 6 months: A case series. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2009;29:129-139.

5. Araújo MG, da Silva JC, de Mendonça AF, Lindhe J. Ridge alterations following grafting of fresh extraction sockets in man. A randomized clinical trial. *Clin Oral Implants Res* 2015;26:407-412.
6. Nevins ML, Camelo M, Nevins M, 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;29:371-383.
7. Canullo L, Malagnino VA. Vertical ridge augmentation around implants by e-PTFE titanium-reinforced membrane and bovine bone matrix: A 24- to 54-month study of 10 consecutive cases. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008;23:858-866.
8. Simion M, Rocchietta I, Kim D, Nevins M, Fiorellini J. Vertical ridge augmentation by means of Deproteinized bovine bone block and recombinant human platelet-derived growth factor-bb: A histologic study in a dog model. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2006;26:415-423.
9. Ferreira CE, Novaes AB, Haraszthy VI, Bittencourt M, Martinelli CB, Luczyszyn SM. A clinical study of 406 sinus augmentations with 100% anorganic bovine bone. *J Periodontol* 2009;80:1920-1927.
10. Nevins M, Garber D, Hanratty JJ, et al. Human histologic evaluation of anorganic bovine bone mineral combined with recombinant human platelet derived growth factor BB in maxillary sinus augmentation: Case series study. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2009;29:583-591.
11. Froum SJ, Wallace S, Cho SC, et al. A histomorphometric comparison of Bio-Oss alone versus Bio-Oss and platelet-derived growth factor for sinus augmentation: A postsurgical assessment. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2013;33:269-279.
12. Romanos GE, Nentwig GH. Regenerative therapy of deep periimplant infrabony defects after CO2 laser implant surface decontamination. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2008;28:245-255.
13. Nakajima Y, Fiorellini JP, Kim DM, Weber HP. Regeneration of standardized mandibular bone defects using expanded polytetrafluoroethylene membrane and various bone fillers. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2007;27:151-159.
14. Kim M, Kim JH, Lee JY, et al. Effect of bone mineral with or without collagen membrane in ridge dehiscence defects following premolar extraction. *In Vivo* 2008;22:231-236.

