

Механизм заживления биологических тканей и клиническое применение аутогенных материалов для костной аугментации на основе тканей удаленных зубов

Young-Kyun Kim, Jeong Keun Lee,

Kyung-Wook Kim, In-Woong Um,

Masaru Murata

<http://dx.doi.org/10.5772/53200>

1. Введение

В современной стоматологии используется множество материалов и графтов для костной аугментации – аутогенных, аллогенных, ксеногенных и аллопластических. По механизму заживления костной ткани они подразделяются на остеогенные, остеоиндуктивные и остеокондуктивные. Идеальным выбором среди всего этого многообразия является аутогенный костный графт, поскольку он не отторгается и способен поддерживать все три механизма заживления, ускоряя процесс. Главным его недостатком является необходимость хирургического вмешательства для его получения, то есть травмирования организма, а также вероятность инфицирования места взятия аутотрансплантата. К тому же, при применении костных аутотрансплантатов неизбежно происходит их резорбция. Чтобы избежать дополнительной операции, чаще всего используются аллогенные и ксеногенные заменители костной ткани. Поиск новых материалов в данной области непрерывно продолжается (1). Одним из кандидатов на роль такого материала является человеческий дентин (2, 3). Он на 70-75% состоит из неорганических веществ и на 20% - из органических. Для сравнения: содержание неорганических веществ в кости альвеолярного отростка – 65%, а органических – 25%. Как минимум 90% органической составляющей дентина – это коллаген первого типа, играющий ключевую роль в формировании и минерализации костной ткани. Дентин содержит костный морфогенетический белок (англ.: BMP), участвующий в дифференцировке мезенхимальных стволовых клеток и в их превращении в хондроциты, что также способствует формированию костной ткани. У эмбриона альвеолярный отросток и зубы формируются из одних и тех же клеток нервного гребня (4, 6). Эти факты натолкнули исследователей на мысль об использовании дентина в качестве аутогенного графта для аугментации альвеолярной кости. Для этого он измельчается и перерабатывается в деминерализованную дентинную матрицу (ДДМ). Она может использоваться сама по себе или в качестве субстрата для рекомбинантного человеческого BMP.

Начиная с 1993 г. мы получаем аутогенные графты на основе удаленных человеческих зубов (AutoBT; компания Korea Tooth Bank Co., Сеул, Ю. Корея). Эти материалы используются при лечении бывших обладателей данных зубов. Минеральная составляющая материалов представлена четырьмя типами фосфата кальция - HA, TCP, OCP и ACP (гидроксиапатит, трикальцийфосфат, октокальций фосфат и аморфный фосфат кальция). На снимках частиц аутографта, сделанных электронным микроскопом, можно наблюдать кристаллические структуры гидроксиапатита и коллагеновые волокна вокруг дентинных канальцев. Краткосрочные клинические исследования применения таких материалов показали, что даже в незакрытых ранах они не инфицируются, и заживление тканей вторичным натяжением проходит успешно.

2. Остеоиндуктивные свойства материала AutoBT

Многие исследователи обращались к дентину как к потенциальному субстрату для человеческих протеинов и как к графту, поскольку его состав сходен с составом альвеолярной кости (9, 24-28). И та, и другая структура содержит коллаген первого типа. Кроме того, в дентине присутствует BMP, индуцирующий образование костной ткани, и неколлагеновые протеины, такие как остеокальцин, остеоонектин и дентинный фосфопротеин (они участвуют в минерализации костной ткани) (29, 30, 38, 39). Со времени своего открытия в 1965 г., BMP широко исследовался и применялся в клинической практике. В итоге, в 1967 г., опыты на кроликах доказали остеиндуктивные свойства BMP в деминерализованной дентинной матрице (32, 33). В 1990 г. были опубликованы отчеты о получении изолированного BMP из костей, зубов и раневых тканей альвеол в опытах на кроликах. Каждый BMP показал остеиндуктивную способность в составе ксеногенного графта (9). После этого была получена деминерализованная гомогенная матрица человеческого дентина, показавшая остеокондуктивные свойства при имплантации в мышечные карманы крыс на трехнедельный срок. BMP, изолированный из дентина – не одно и то же, что BMP, полученный из кости, но они очень похожи и производят одинаковый эффект в организме (34). Доказано, что BMP способствует формированию хрящевой и костной ткани (30, 35-37).

Давно известно, что апатиты в составе зубов защищают содержащиеся в них протеины. В опытах на крысах был найден протеин (LMP-1), влияющий на дифференцировку и созревание остеобластов, и на формирование костной ткани. Впоследствии было выяснено, что LIM-1 содержится, главным образом, в преддентине, одонтобластах и клетках эндотелия кровеносных сосудов зубов (42). В опытах на животных, многие исследователи замечали, что костная ткань способна формироваться вокруг графтов, имплантированных в альвеолярную кость (43-47). В 2002 и 2004 гг. были зарегистрированы патенты на выделение протеинов из удаленных зубов – это стало еще одним подтверждением, что дентин содержит костный морфогенетический белок (48, 49). Ike и Urist предположили, что переработанный дентин, полученный из корней удаленных зубов, может служить в качестве субстрата для rhBMP-2, поскольку способен индуцировать формирование костной ткани в периодонте (10).

Murata и др. выяснили, что деминерализованная дентинная матрица (ДДМ) не ингибирует активность BMP-2, а наоборот, способствует его высвобождению. Человеческая ДДМ, полученная переработкой удаленных зубов – уникальная абсорбируемая структура, обладающая остеоиндуктивностью. Она может использоваться для транспорта BMP в организм и как эффективный субстрат для расположения формирующихся клеток костной ткани, а также для инжиниринга при костной аугментации (2).

В 2011 г. Lee предпринял количественный анализ пролиферации и дифференцировки остеобластоподобных клеток MG-63 при использовании графта на основе человеческих зубов (50). Опыт показал, что клеточная адгезия и пролиферативная активность данных клеток вокруг частично деминерализованной матрицы (PDDM) были сравнимы с контрольным образцом повышенной остеогенной дифференцировки (рис. 1). В том же году Kim и Choi (51) сообщили о проведенной ими операции на 37летнем пациенте по пересадке третьего верхнего моляра в область первого моляра, с использованием аутогенного графта из тканей зуба для заполнения пространства между корнем и стенками альвеолы. Зуб прижился (рис. 2). Таким образом, данные материалы могут использоваться также для формирования костной ткани вокруг зубов после их трансплантации.

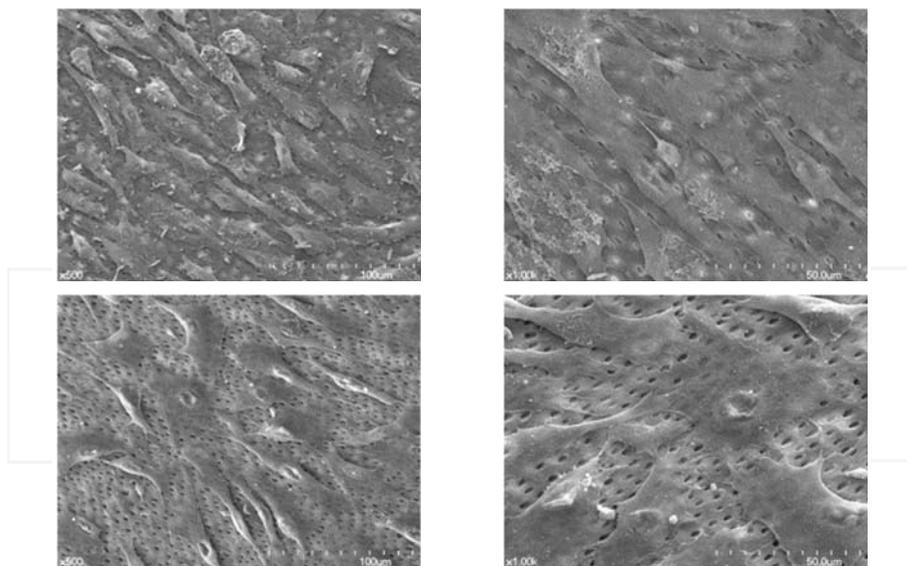


Рис. 1: Клетки MG-63 прикрепляются к ДДМ и распространяются по ней. Это говорит о превосходной биосовместимости между данными клетками и дентинной матрицей. (Lee H.J. *Quantitative Analysis of Proliferation and Differentiation of MG-63 Cell Line on the Bone Grafting Material Using Human Tooth*. PhD Thesis. School of Dentistry, Seoul National University, 2011.)



Рис. 2: Периапикальная радиография через 2 года после аутотрансплантации зуба.

Недавно нами было предпринято исследование для демонстрации остеиндуктивных свойств материала AutoBT, получаемого запатентованной переработкой удаленных человеческих зубов. Всего было собрано 46 таких зубов, принадлежавших нашим пациентам. Опыты *in vivo* проводились на голых мышах методом размещения материала в подкожных мышечных карманах. Биопсия образцов производилась через 2, 5 и 8 недель. Гистологические анализы выявили активное формирование костной ткани уже через 2 недели после операции (рис. 3-5). Анализы подтвердили также присутствие в AutoBT неколлагеновых протеинов. Тем не менее, нам не удалось выделить из материала rhBMP-2 (рис. 6). Эксперименты подтвердили остеиндуктивные свойства содержащихся в AutoBT неколлагеновых протеинов.

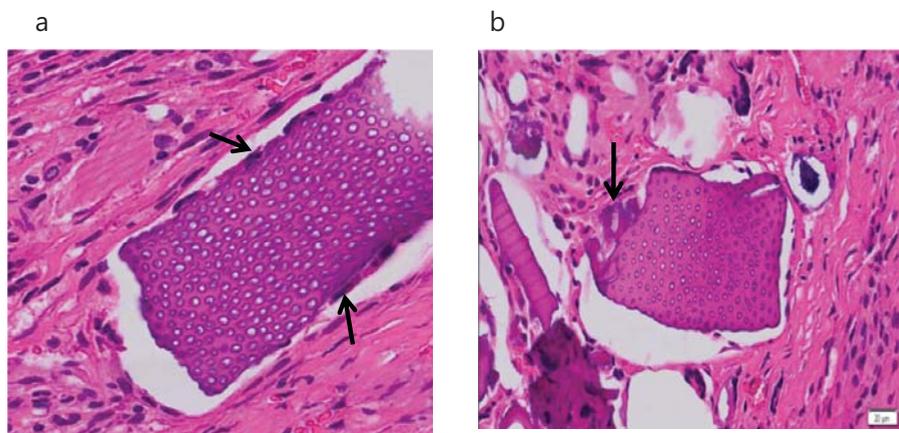


Рис. 3: Гистологический анализ образца биоптата, взятого через 2 недели после операции. а) Слой новых клеток, прикрепившихся к частице AutoBT б) Сформировавшийся рядом с частицей AutoBT остеинд (Окрашивание образца: гематоксилин и эозин; увеличение $\times 200$).

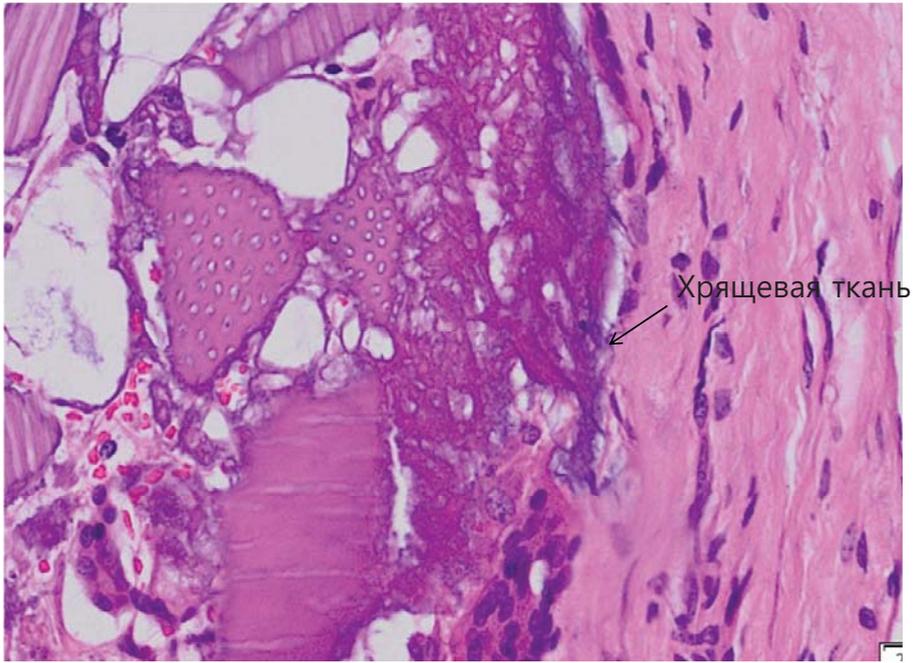


Рис. 4: Формирование хрящевой ткани вокруг частиц AutoBT в образце биоптата, взятого через 5 недель после операции. (Окрашивание образца: гематолоксилин и эозин; увеличение $\times 200$).

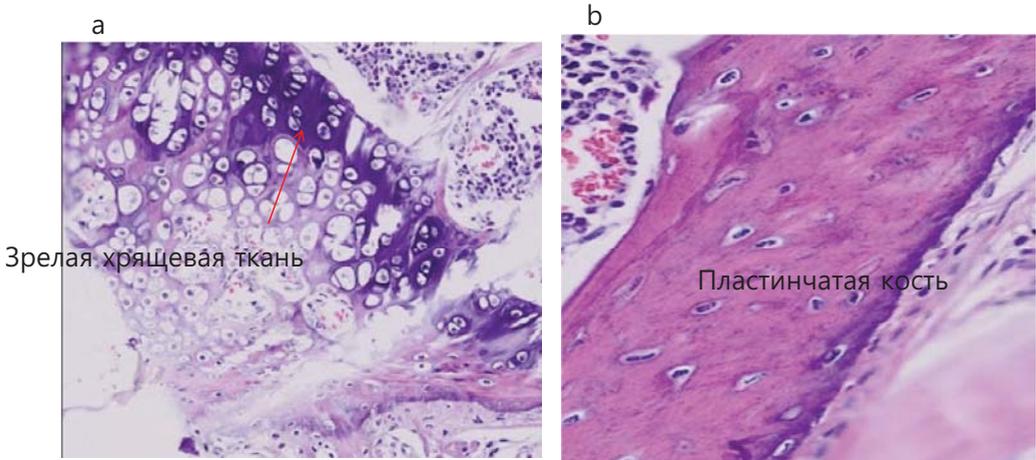


Рис. 5: а) Эндохондральная оссификация и б) формирование пластинчатой костной ткани были зарегистрированы спустя 8 недель после имплантации порошка AutoBT во внутримышечные карманы голых мышей. (Окрашивание образца: гематолоксилин и эозин; увеличение $\times 200$).

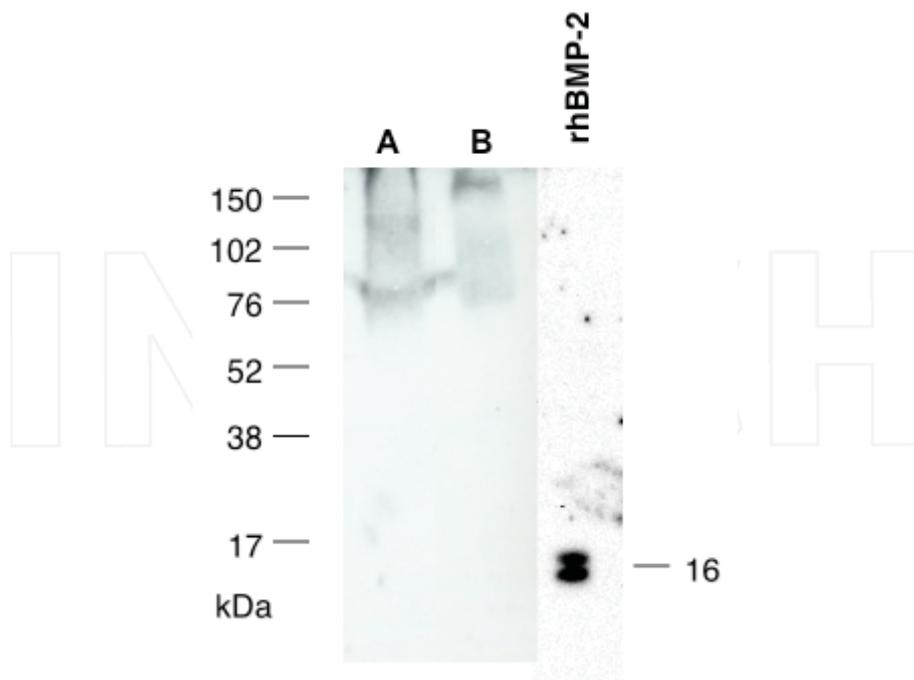


Рис. 6: Анализ очищенных фракций порошка AutoBT, изготовленного из высушенного при 25°C (A) и только что удаленного (B) зуба мудрости методом электрофореза в полиакриламидном геле.

3. Остеоиндуктивные свойства AutoBT

Данные анализов показали, что AutoBT состоит из низкокристаллического гидроксиапатита (НА) и, возможно, содержит другие кальцийфосфатные минералы (β -трикальцийфосфат, АСР и ОСР), то есть его минеральный состав сходен с таковым у костной ткани. Стоит, однако, заметить, что содержание НА и общая минерализация у разных частей зуба отличаются. В коронковой части зуба они выше, чем в корне (рис. 7). Причем коронка зуба содержит, в основном, высококристаллический НА с высоким отношением Ca/P, а корень – низкокристаллические кальцийфосфаты с относительно низким соотношением Ca/P (3, 23).

В 2013 г. Kim и др. исследовали поверхностные и физико-химические свойства нового аутогенного материала, уже применявшегося в клинической практике. Структуру поверхности материала сравнивали с поверхностями других известных материалов для костной аугментации с помощью растрового электронного микроскопа (SEM). Кристаллическая структура AutoBT из коронковых частей зубов (AutoBT crown) и из корней (AutoBT root), а также структура ксенографта

BioOss, аллопластического материала МБСР и аллогraftа ICB сравнивались с использованием рентгенодифракционного анализа (XRD). Растворимость каждого материала также сравнивалась по степени растворимости кальцийфосфатов. Микроскопия образцов показала, что поверхность AutoBT схожа с поверхностью аутогенной кортикальной пластинки (рис. 8). XRD-анализ выявил у AutoBT и аллогraftа низкокristаллическую структуру, схожую со структурой аутогенной кортикальной пластинки (табл. 1 и 2). Таким образом, физико-химические свойства аутогенных материалов для костной аугментации, приготовленных из тканей зуба, схожи с таковыми у аутогенной кости.

| Срок | МБСР | ICB | BioOss | AutoBT Crown | AutoBT Root | Auto Bone |
|---------|------|------|--------|--------------|-------------|-----------|
| 3 дня | 54.2 | 97.7 | 35.5 | 230.7 | 280.0 | 246.8 |
| 7 дней | 48.6 | 71.7 | 33.6 | 162.7 | 255.2 | 189.2 |
| 14 дней | 62.7 | 97.6 | 35.1 | 144.5 | 180.6 | 180.6 |

m/z: отношение массы иона к его заряду

Таблица 1: Растворение ионов Ca (m/z; 42.959) (Kim Y.K., et al. *Autogenous teeth used for bone grafting: a comparison to traditional grafting materials. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.*, 2013, in press)

| Срок | МБСР | ICB | BioOss | AutoBT Crown | AutoBT Root | Auto Bone |
|---------|-------|-------|--------|--------------|-------------|-----------|
| 3 дня | 301.7 | 217.8 | 174.0 | 269.8 | 269.4 | 260.5 |
| 7 дней | 311.4 | 191.2 | 151.7 | 282.8 | 230.2 | 282.8 |
| 14 дней | 302.5 | 165.4 | 148.7 | 253.8 | 229.0 | 245.3 |

m/z: отношение массы иона к его заряду

Таблица 2: Растворение ионов P (m/z; 30.994) ion dissolution (Kim Y.K., et al. *Autogenous teeth used for bone grafting: a comparison to traditional grafting materials. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.*, 2013, in press)

In vitro тестах на растворимость AutoBT показал превосходную способность к биоразложению, и активное повторное осаждение апатитов наблюдалось сразу после трансплантации. Мы предположили, что данный материал эффективно способствует росту костной ткани (52). Priya и др. (53) пишут, что повышенное растворение кальцийфосфатных композитов и, как следствие, высвобождение ионов кальция и фосфора, приводит к повторному осаждению апатитов на поверхностях. То есть за формированием апатитов стоит механизм, сочетающий их растворение и повторное осаждение. Формирование апатитового слоя, как предполагается, способствует остеоинтеграции биокерамических композитов.

Коронковая часть зуба и его корень отличаются по своему органическому и неорганическому составу, поэтому graftы, изготовленные из них, будут проявлять различные заживляющие свойства. Апатиты, содержащиеся в костной ткани, формируют керамические нанокomплексы с высокой молекулярной массой (54).

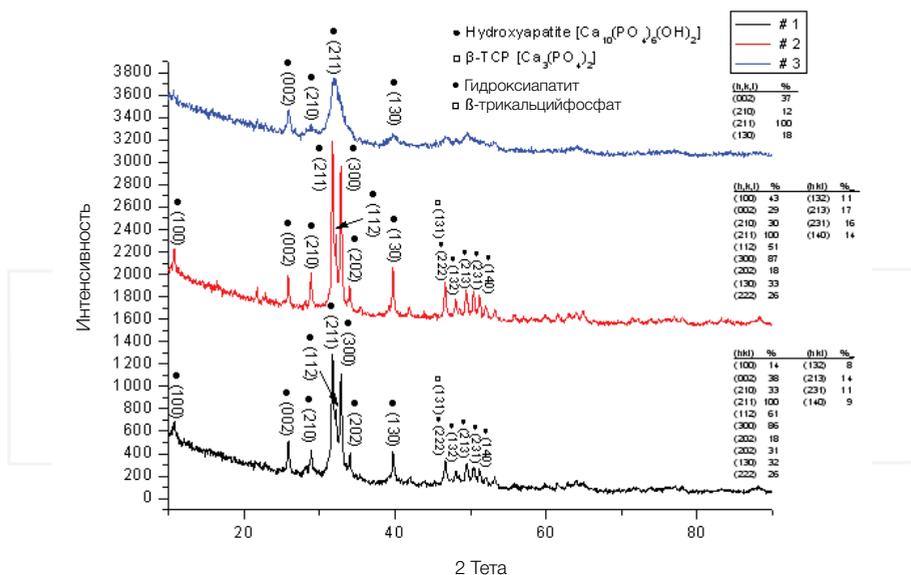


Рис. 7: Качественный рентгенофазный анализ человеческого зуба (#1: корень; #2: коронковая часть; #3 весь зуб) (Kim Y.K., et al. Development of a novel bone grafting material using autogenous teeth. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod., 2010.)

Эти апатиты имеют низкокristаллическую структуру и размеры кристаллов в несколько десятков нанометров. С другой стороны, гидроксиапатиты, прошедшие спекание при высокой температуре, имеют высокую степень кристаллизации – размеры их кристаллов, как минимум, в 10 раз больше, чем у апатитов человеческой кости (55). Биоразложение больших керамических частиц с высокой кристаллизацией практически невозможно. Их остеиндуктивность очень мала, и остеокласты не могут их разрушить. Лучшие свойства остеиндукции демонстрируют низкокristаллические карбонапатиты (56,57).

В 2010 г. Namro и др. представили материал для аугментации альвеолярной кости на основе тканей удаленных зубов. Дентин содержит специфический неколлагеновый сиалопротеин DSP, участвующий в его кальцификации. С помощью иммуногистохимического анализа на антитела к DSP, была зарегистрирована его активность в указанном материале, имплантированном в альвеолярную кость крыс, спустя всего 6 недель после операции (58).

В 2012 г. Kim и др. исследовали потенциал ДДМ при аугментации и заживлении искусственных костных дефектов черепа у мини-свиней (59). Материал был получен из удаленных и измельченных зубов животных, участвовавших в эксперименте. Результаты имплантации аутографта были подвергнуты гистологическому исследованию через 4, 8 и 12 недель. У контрольной группы свиней, для которых указанный графт не применялся, через 4 недели сформировалась лишь фиброзная ткань, а роста новой кости не наблюдалось.

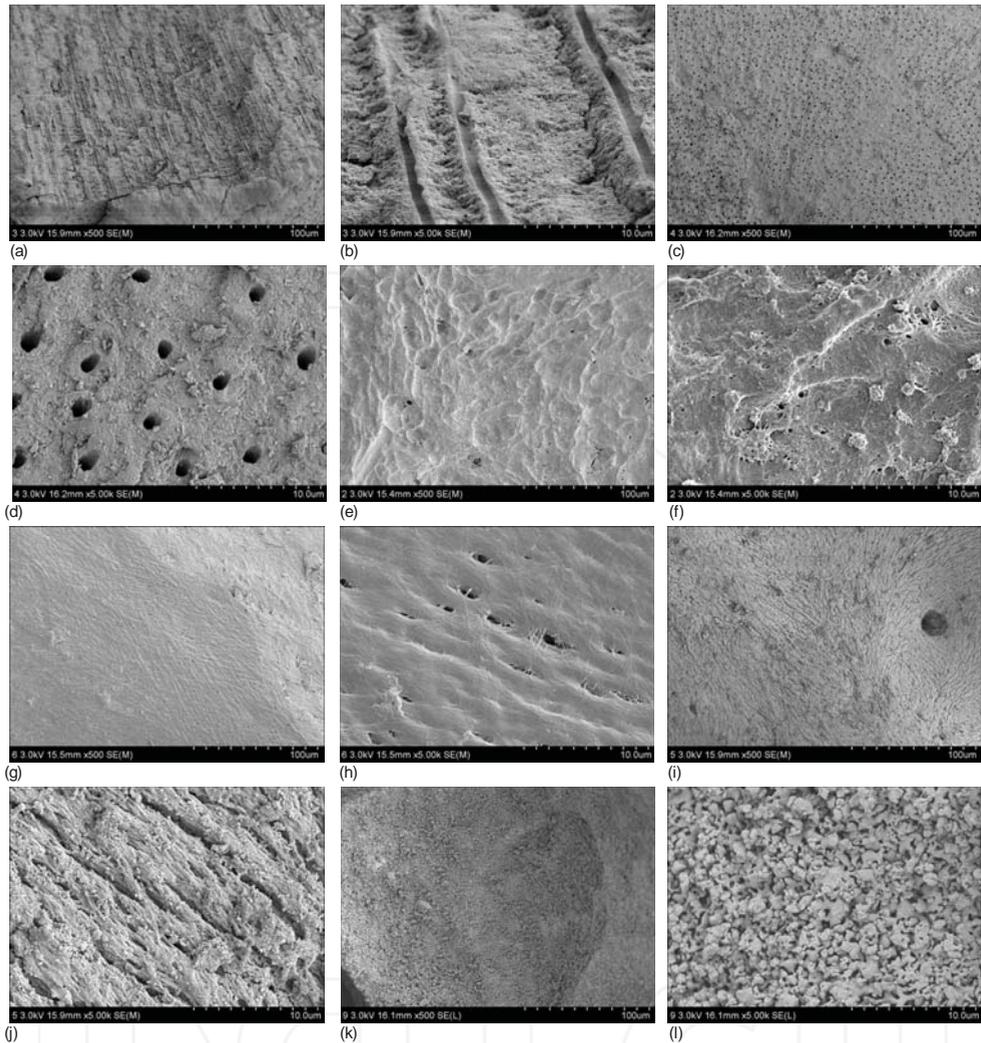


Рис. 8: SEM-снимки различных материалов для костной аугментации. (Kim Y.K., et al. *Autogenous teeth used for bone grafting: a comparison to traditional grafting materials. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.*, 2013, in press) a): AutoBT crown (x500), b): AutoBT crown (x5,000), c): AutoBT root (x500), d): AutoBT root (x5,000), e): Аутогенная кортикальная кость (x500), f): Аутогенная кортикальная кость (x5,000), g): ICB (x500), h): ICB (x5,000), i): BioOss (x500), j): BioOss (x5,000), k): MBCP (x500), l): MBCP (x5,000)

В опытной же группе такой рост был налицо. Кроме того, в контрольной группе практически не проявлялась экспрессия остеоонектина, а в опытной группе она была зарегистрирована начиная с 4й недели. Данное исследование еще раз подтвердило превосходные остеиндуктивные свойства аутогенного материала для костной аугментации, полученного из тканей зубов (рис. 10 и 11).

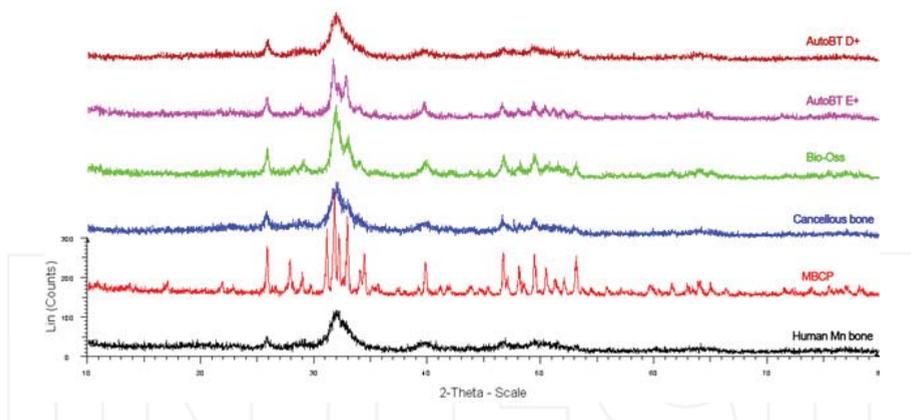


Рис. 9: Качественный рентгенофазный анализ. AutoBT D+: AutoBT root, AutoBT E+: AutoBT crown, Губчатая кость: ICB. (Kim Y.K., et al. Autogenous teeth used for bone grafting: a comparison to traditional grafting materials. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.*, 2013, in press)

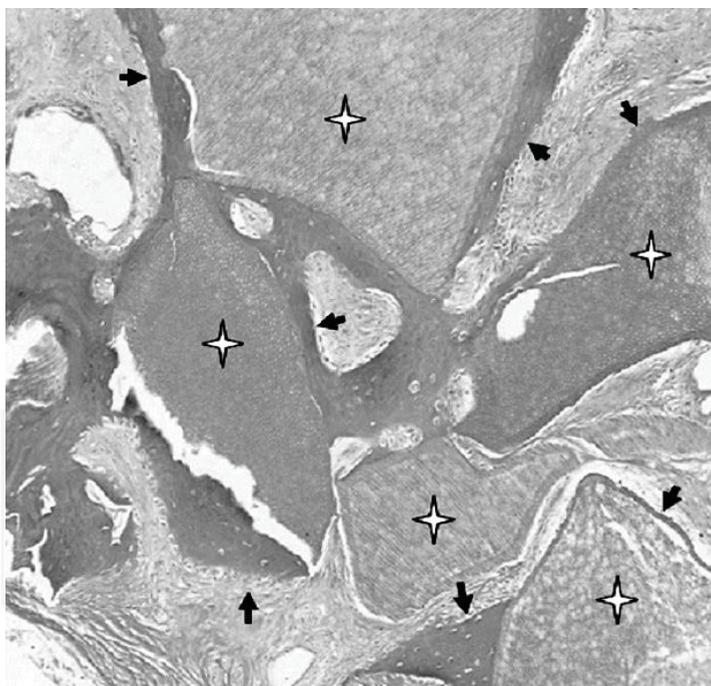


Рис. 10: Образцы опытной группы через 8 недель. Новая костная ткань активно формируется вокруг гранул аутографта из тканей зуба. Звездочки и стрелки указывают на расположение гранул и новой костной ткани, соответственно. (Окрашивание образца: гематолоксиллин и эозин. Увеличение x100). (Kim J.Y., et al. Bone healing capacity of demineralized dentin matrix materials in a mini-pig cranium defect. *J. Korean Dent. Sci.*, 2012.)



Рис. 11: Опытная группа через 12 недель. Существенный рост новой костной ткани вокруг гранул аутографта в отверстии остеотомии. Звездочки указывают на расположение гранул. (Окрашивание образца: гематолоксилин и эозин. Увеличение $\times 100$). (Kim J.Y., et al. Bone healing capacity of demineralized dentin matrix materials in a mini-pig cranium defect. *J. Korean Dent. Sci.*, 2012.)

4. Клиническое применение AutoBT

Еще в 2008 г. Kim и др. разработали технологию изготовления аутогенного костного графта из удаленных зубов и заложили, таким образом, основу для клинического использования данного материала. Аутогенное происхождение графта исключает риск иммунной реакции и отторжения. AutoBT применяется при дентальной имплантации, требующей направленной костной регенерации, и его превосходные остеоиндуктивные и остеокондуктивные свойства были неоднократно доказаны (3). Направленная костная регенерация была предпринята одновременно у шести пациентов, одновременно с установкой имплантатов. С согласия пациентов, на втором хирургическом этапе у них были взяты образцы костной ткани (через 3-6 месяцев после операции). Был проведен их гистомор-

фометрический анализ. От 46 до 87% площади исследуемых образцов продемонстрировали рост костной ткани и её превосходное ремоделирование (табл. 3, рис. 12). В клинической практике материал AutoBT используется в виде порошка, гранул и блоков (рис. 13).

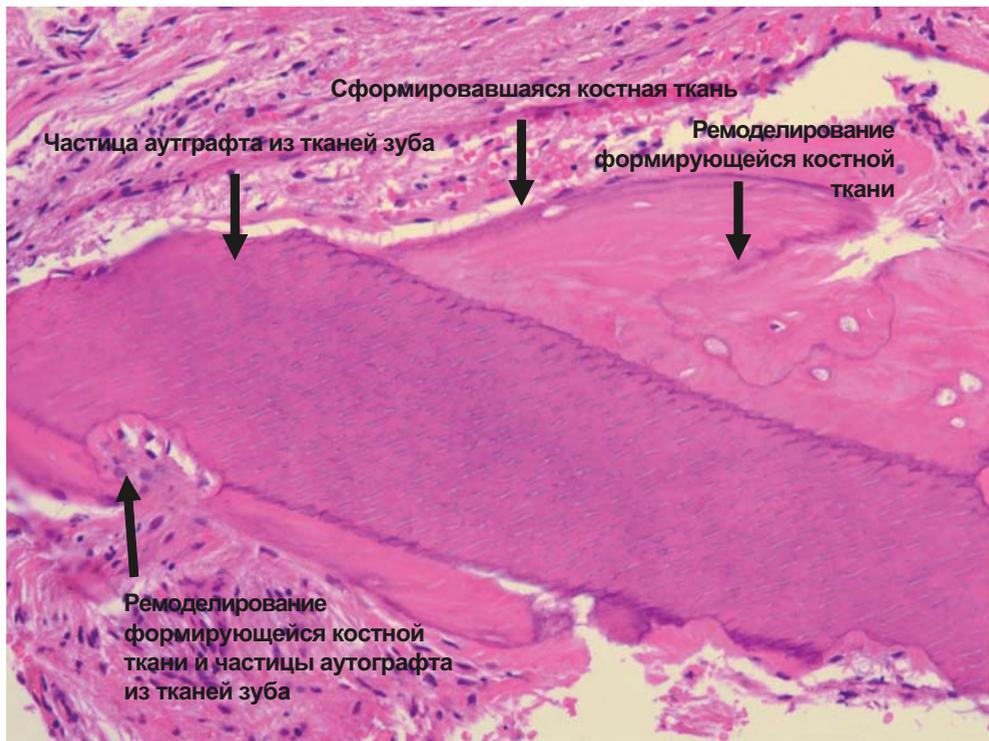


Рис. 12: Ремоделирование костной ткани, сформировавшейся вокруг частицы аутографта из тканей зуба (Kim Y.K., et al. Development of a novel bone grafting material using autogenous teeth. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 2010.)

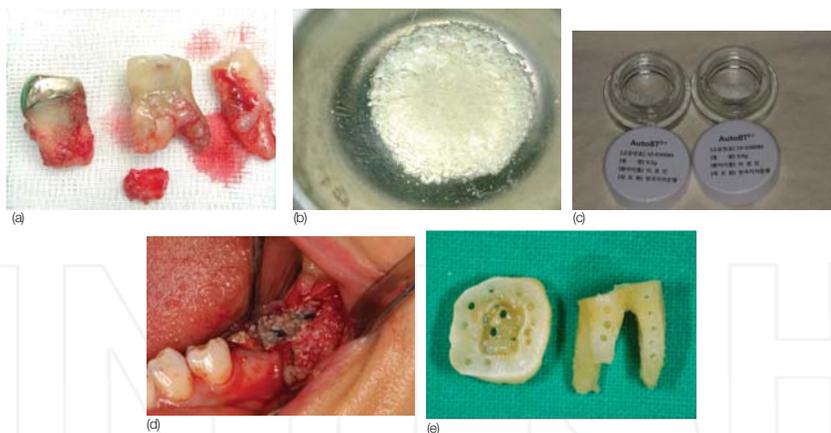


Рис. 13: Из удалённого зуба может быть изготовлено три вида аутографтов:

а) Зуб удалён и освобожден от всего лишнего, например от искусственных коронок и цемента, зубного камня, остатков мягких тканей и т.п. После этого из него производится AutoBT путем измельчения, обезжиривания, деминерализации и лиофилизации.

б) Порошок AutoBT из коронковой части и корня зуба. д) Гранулы AutoBT. е) Блок AutoBT.

| Клинич. случай | Возраст/пол | Зуб | Период заживления | Отношение WB:LB:IM | Доля сформировавшейся кости (%) |
|----------------|-------------|--------|-------------------|--------------------|---------------------------------|
| 1 | 40/M | #24 | 3 | 43:11:46 | 74 |
| 2 | 28/F | #17 | 4 | 85:14:1 | 87 |
| 3 | 47/F | #17 | 6 | 56:39:5 | 46 |
| 4 | 50/M | #24 | 5 | 84:12:4 | 73 |
| 5 | 43/F | #36 | 3 | 51:1:48 | 52 |
| 6 | 61/M | #25-27 | 6 | 65:0:35 | 68 |

WB: перепончатая кость; LB: пластинчатая кость; IM: нерезорбированные частицы графта

Таблица 3: Результаты гистоморфометрического анализа (Kim Y.K., et al. Development of a novel bone grafting material using autogenous teeth. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod., 2010.)

В 2012 г. Lee и Kim опубликовали ретроспективное исследование клинической эффективности материала AutoBT (60). В нем участвовало 37 пациентов (с 54 установленными имплантатами), при лечении которых, с октября 2008 по декабрь 2009 г., применялся AutoBT. Средняя продолжительность послеоперационного периода составляла 31 месяц. Оценивались послеоперационные осложнения и уровень кости вокруг имплантатов. У семи пациентов наблюдалось раскрытие раны и гематомы (всего 8 имплантатов). Остеоинтеграция не состоялась у двух пациентов (4 имплантата). Последствия этих осложнений были успешно устранены, и имплантация была произведена повторно. Средняя убыль кости вокруг имплантатов за год составила $0,33 \pm 0,63$ мм. Исследования подтвердили безопасность данного вида костной аугментации и превосходные результаты заживления кости по итогам двух лет (табл. 4-6).

| Тип хирургической процедуры | Количество имплантатов |
|--|------------------------|
| Направленная костная регенерация | 29 (53.7%) |
| Синус-лифтинг (открытый) | 14 (25.9%) |
| Синус-лифтинг (закрытый) | 7 (13.0%) |
| Костная аугментация альвеолярного отростка | 4 (7.4%) |
| Итого | 54 (100%) |

Таблица 4: Типы хирургических процедур

| Вид аутографта | Число пациентов |
|----------------|-----------------|
| Порошок | 32 (86.5%) |
| Блок | 2 (5.4%) |
| Порошок + блок | 3 (8.1%) |
| Итого | 37 (100%) |

Таблица 5: Виды AutoBT

| Вид осложнения | Количество имплантатов |
|--------------------------------|------------------------|
| Раневая дегисценция | 7 |
| Гематома | 1 |
| Несостоявшаяся остеоинтеграция | 4 |
| Итого | 12 |

Таблица 6: Виды осложнений

5. Применение AutoBT при синус-лифтинге

Если существует материал, чья скорость резорбции невелика, а способность к заживлению костной ткани сравнима с таковой у аутогенных костных графтов, он может быть чрезвычайно актуальным для проведения костной аугментации при синус-лифтинге, особенно в смеси с другими заменителями костной ткани с медленной резорбцией (61,62,63). Факты, приведенные в предыдущих параграфах, позволяют сделать уверенный вывод, что таким материалом является разработанный нами AutoBT, демонстрирующий высокие остеоиндуктивные и остеокондуктивные свойства и способность к приживлению на уровне костных аутотрансплантатов, с периодом резорбции 3-6 месяцев (3). В связи с этим, мы рассматриваем возможность применения AutoBT для костной аугментации при синус-лифтинге в составе комплексного графта и с целью минимизации респирематизации (рис. 14).

В клиниках южнокорейских университетов Банданга и Чосана в Сеуле проводилось ретроспективное исследование костной аугментации при синус-лифтинге. Между июлем 2009 г. и ноябрем 2010 г. 51 пациенту было установлено 100 имплантатов с применением аутогенных графтов из тканей удаленных зубов. При их применении в чистом виде или в сочетании с другими материалами для аугментации, доля приживаемости имплантатов составила 96,15%. Гистоморфологические исследования продемонстрировали постепенную резорбцию графтов с их замещением формирующейся костной тканью вследствие остеокондукции и остеоиндукции. Итоги исследования подтвердили возможность использования данного типа графтов для костной аугментации при синус-лифтинге (64).

Lee и др. (65) провели исследование для гистоморфометрического анализа и сравнения эффективности различных материалов для костной аугментации, применяемых при синус-лифтинге. В исследовании участвовало 24 пациента, которым был сделан открытый синус-лифтинг в период с октября 2007 г. по сентябрь 2009 г. в клинике Университета Банданга. Средний возраст пациентов был $52,51 \pm 11,86$ лет. Все клинические случаи исследовали спустя к месяца после операции и были разделены на три группы, в зависимости от типа материала для костной аугментации: Группа 1: аутогенный графт (AutoBT); Группа 2: Orthoblastil (Integra Lifescience Corp., США)+Biocera (Osscotec, Ю. Корея); Группа 3: DBX (Synthes, США), BioOss (Geistlich Pharm AG, Швейцария). Всего было изучено 37 мест имплантации (7 в Группе 1; 10 в группе 2; 20 в Группе 3). Для каждого образца оценивался процесс формирования новой костной ткани, соотношение объемов перепончатой и пластинчатой кости, а также новой кости и графта. Для статистического анализа применялся критерий Крускала-Уоллиса (с помощью программного обеспечения SPSS Ver. 12.0, США). Объем сформированной костной ткани был $52.5 \pm 10.7\%$ в Группе 1, $52.0 \pm 23.4\%$ в Группе 2 и $51.0 \pm 18.3\%$ в Группе 3 (Табл. 7) (рис. 15-18). Между группами не наблюдалось статически значимых различий. Соотношение перепончатой и пластинчатой кости было $82.8 \pm 15.3\%$ в Группе 1, $36.7 \pm 59.3\%$ в Группе 2 и $31.0 \pm 51.2\%$ в Группе 3. Соотношение объемов новой кости и графта было $81.3 \pm 10.4\%$ в Группе 1, $72.5 \pm 28.8\%$ в Группе 2 и $80.3 \pm 24.0\%$ в Группе 3. После 4х месяцев заживления, во всех группах сформировался ожидаемый объем костной ткани вокруг частиц графта и самих имплантатов.

| Группа | Формирование новой костной ткани |
|--------|----------------------------------|
| I | $52.5 \pm 10.7\%$ |
| II | $52.0 \pm 23.4\%$ |
| III | $51.0 \pm 18.3\%$ |

*критерий Крускала-Уоллиса: $P > 0.05$

Таблица 7: Гистоморфометрические данные формирования новой костной ткани (среднее значение \pm стандартное отклонение)

Данное исследование также подтвердило, что аутогенный графт из тканей зуба может использоваться в качестве альтернативы для костной аугментации при синус-лифтинге.

Kim и др. и Lee и др. предприняли процедуры синус-лифтинга и направленной костной регенерации с использованием аутографта из тканей зубов, после чего, спустя 2 и 4 месяца, ими были взяты образцы тканей для гистоморфометрического анализа. Так же, как и в других случаях, наблюдалось формирование новой костной ткани, что в очередной раз доказало пригодность данного материала для костной аугментации при различных назначениях (65, 66).



Рис. 14: Аугментация при синус-лифтинге производилась смесью AutoBT, аутогенного костного графта и синтетического графта. а) Ортопантомограмма зубных рядов 64-летнего пациента до лечения б) Радиография после установки имплантатов с одномоментным синус-лифтингом с правой стороны. в) Ортопантомограмма через 2 недели после удаления левого верхнего первого моляра. На имплантатах установлены постоянные реставрации; в месте удаления зуба была произведена костная аугментация. д) Интраоральный снимок до операции. е) Смесь AutoBT и костного автографта, полученного из верхней челюсти. ф) Смесь AutoBT, костного автографта и синтетического материала OSTEON (GENOSS, Ю. Корея) помещена в отверстие в кости. г) Ортопантомограмма после костной аугментации. г) Снимок через 3 месяца после аугментации. и) ОПГ через год после установки постоянного протеза. Результаты аугментации стабильные.

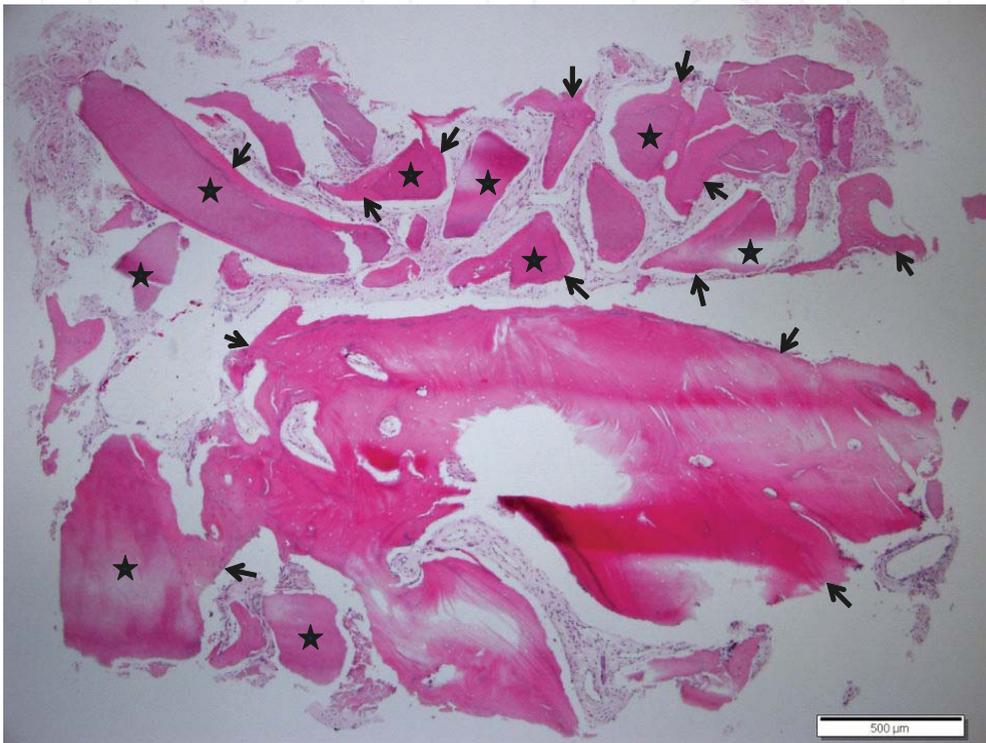


Рис. 15: Обзор биоптата в Группе I (Auto BT). Наблюдается рост новой костной ткани (обозначена стрелками) вокруг гранул аутографта (обозначены звездочками). (Окрашивание образца: гематолоксилин и зозин. Увеличение x40).

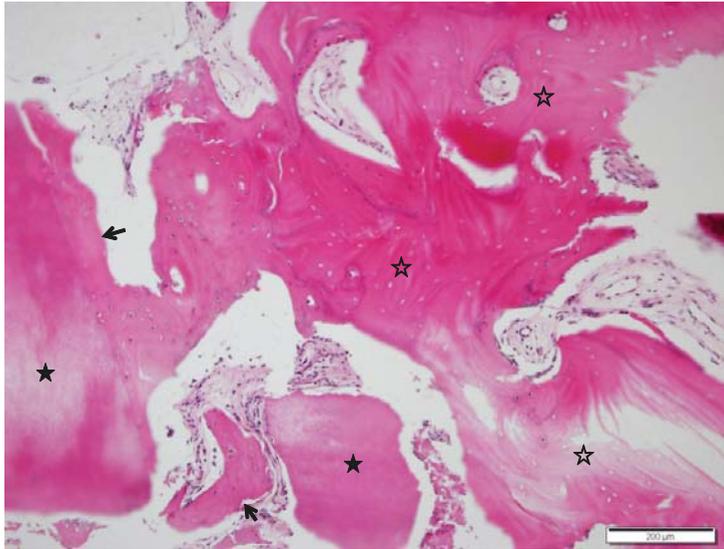


Рис. 16: Гистоморфометрический анализ Группы 1 (Auto BT®). Наблюдается формирование костной ткани (стрелки) вокруг частиц аутографта (звёздочки). Незакрашенные звёздочки указывают на участки слияния сформировавшейся костной ткани. (Окрашивание образца: гематолоксилин и эозин. Увеличение x200).

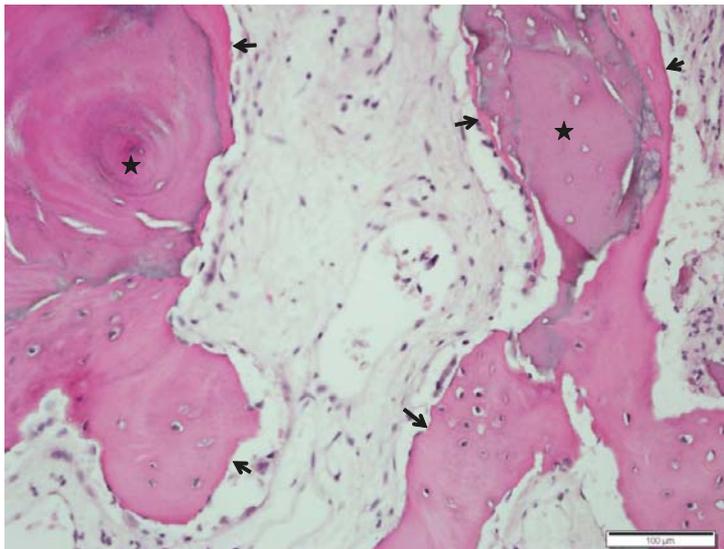


Рис. 17: Микроскопия через 4 месяца после имплантации Orthoblast/Biocera (Группа 2). Более высокое увеличение демонстрирует формирование костной ткани (стрелки) вокруг частиц графта (звёздочки). (Окрашивание образца: гематолоксилин и эозин. Увеличение x200).

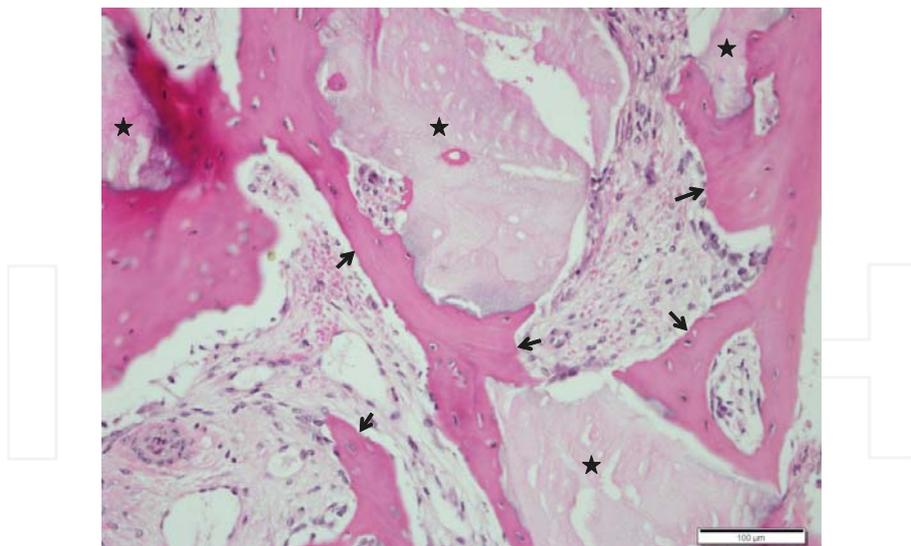


Рис. 18: Микроскопия через 4 месяца после имплантации DBX/BioOss (Группа 3). Более высокое увеличение демонстрирует формирование костной ткани (стрелки) вокруг частиц графта (звёздочки). (Окрашивание образца: гематолоксилин и эозин. Увеличение x200).

6. Направленная костная регенерация

Случаи дегисценции и фенестрации кости вокруг дентальных имплантатов нередки, поэтому направленная костная регенерация и применение заменителей костной ткани являются насущной необходимостью. Для этой цели наиболее подходит аутогенная кость, однако объем её ограничен, и её получение сопряжено с дополнительным хирургическим вмешательством и риском осложнений. Поэтому в клинической практике чаще всего применяют альтернативные материалы – аллогенные, ксеногенные и синтетические. Для максимального эффекта, они могут использоваться в смеси с аутогенной костной тканью. В нашем исследовании направленной костной регенерации с использованием AutoBT, мы добились роста костной ткани в 47-74% за период от 3 до 6 месяцев, что выше, чем в опытах, например, Vabbush (3,67). Гистологический контроль процесса заживления показал, что AutoBT резорбируется и замещается вновь образующейся костной тканью, причем нерезорбированные частицы AutoBT беспрепятственно обрастают новой костью, образуя с ней единое целое. В каждом из исследованных образцов наблюдалась превосходная остеиндукция и остеокондукция, включая формирование пластинчатой костной ткани, что подтверждает быструю реконструкцию кости (50,51,59,65,66). Kim и др. (68) проводили имплантацию с направленной костной регенерацией аутогенным графтом из тканей зубов шести пациентам. Через 6 месяцев после операции был проведен гистологический анализ, продемонстрировавший превосходное остеокондуктивное заживление костной ткани. Результаты терапии были отличные (рис. 19-21).

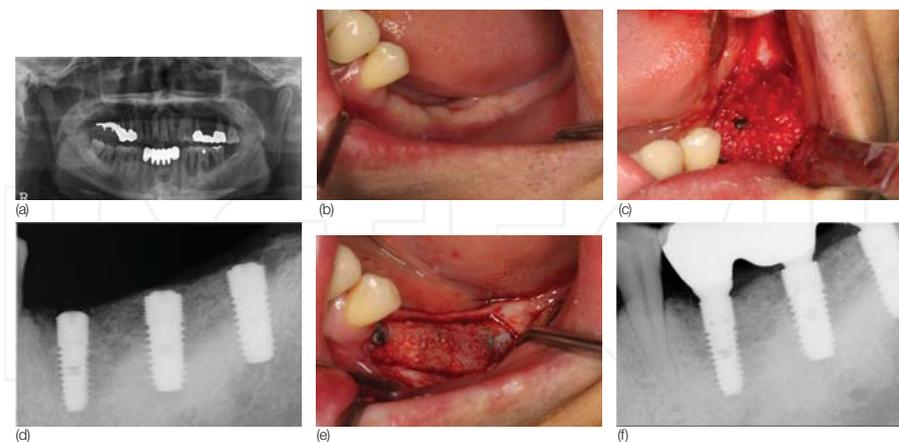


Рис. 19: Направленная костная регенерация с использованием порошка AutoBT (Kim Y.K., et al. *Guided bone regeneration using autogenous teeth: case reports. J. Korean Assoc. Oral Maxillofac. Surg., 2011.*) а) Ортопантомограмма 44-летнего пациента до начала лечения. б) Интраоральный снимок до начала лечения. Зубы были удалены 2 месяца назад. в) Произведена имплантация, и деисценция закрыта с применением аутографта из тканей удаленных зубов. д) Периапикальная радиография через 6 месяцев после установки имплантатов. е) Второй хирургический этап: отслаивание слизисто-надкостничного лоскута. Наблюдается превосходное заживление кости. ф) Периапикальная радиография через 6 месяцев после установки постоянной реставрации.

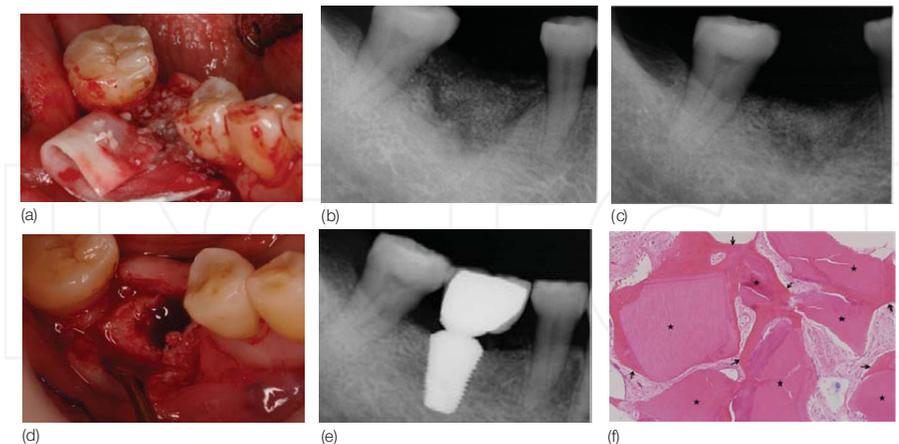


Рис. 20: Направленная костная регенерация в области правого нижнего первого моляра у 49-летней пациентки. (Kim Y.K., et al. *Guided bone regeneration using autogenous teeth: case reports. J. Korean Assoc. Oral Maxillofac. Surg., 2011.*) а) Использовался аутогенный графт из тканей удаленного зуба и коллагеновая мембрана (BioGuide). б) Периапикальная радиография через 3 недели после костной аугментации. в) Периапикальная радиография через 6 месяцев после костной аугментации. Уровень кортикальной пластинки альвеолярного отростка стабилизировался. д) Установка имплантата через 6 месяцев после костной аугментации. Тип костной ткани - I. е) Периапикальная радиография после установки постоянной реставрации. ф) Микроскопия через 6 месяцев после костной аугментации. Более высокое увеличение демонстрирует формирование костной ткани (стрелки) вокруг частиц графта (звёздочки). (Окрашивание образца: гематоксилин и эозин. Увеличение $\times 100$).

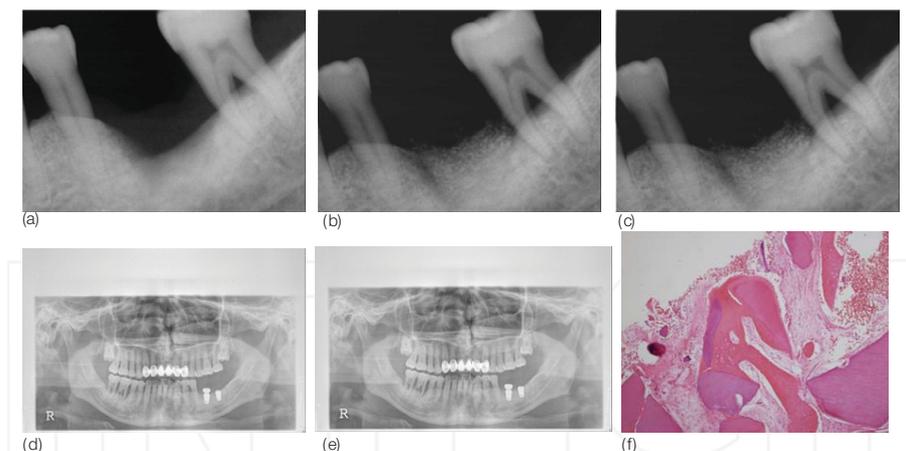


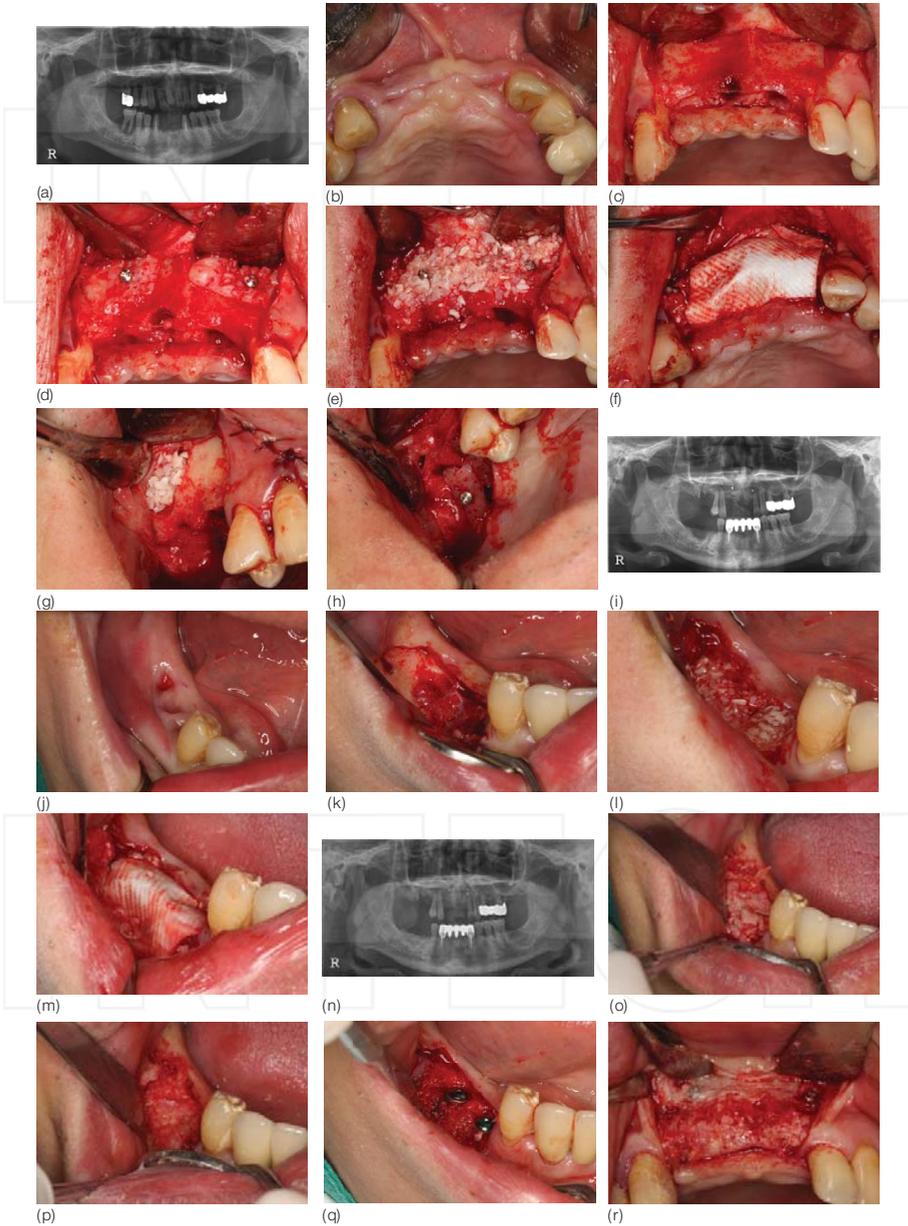
Рис. 21: Направленная костная регенерация в области левого нижнего первого моляра у 50летнего пациента. (Kim Y.K., et al. Guided bone regeneration using autogenous teeth: case reports. J. Korean Assoc. Oral Maxillofac. Surg., 2011.) а) Периапикальная радиография через 2 месяца после удаления левого нижнего первого моляра. б) Периапикальная радиография через 2 недели после костной аугментации. в) Периапикальная радиография через 5 месяцев после костной аугментации. Уровень кортикальной пластинки альвеолярного отростка стабилизировался. д) Установка имплантата через 6 месяцев после костной аугментации. Соседний второй моляр удален. е) Второй хирургический этап в области зуба 36. В области зуба 37 установлен второй имплантат. ф) Периапикальная радиография после установки постоянной реставрации. г) Микроскопия через 6 месяцев после костной аугментации. Более высокое увеличение демонстрирует формирование костной ткани вокруг частиц графта. (Окрашивание образца: гематолоксиллин и эозин. Увеличение x200).

7. Аугментация альвеолярного отростка (рис. 22)

Аутогенные костные графты дают лучшие результаты, если требуется аугментация большого объема кости, например при реконструкции альвеолярного отростка либо участка с большим количеством дефектов костной ткани. Аутографт может быть взят из эндохондральных костей, таких как подвздошная или бедренная кость, ребро и т.д., и из интрамембранных костей, таких как свод черепа, кости лицевого отдела и т.д. При аугментации альвеолярного отростка, костный графт в виде блока или частиц размещается на его верхней или боковой поверхности, в зависимости от того, какой недостаток имеется - высоты или ширины отростка. Вертикальная и горизонтальная аугментация могут производиться одновременно или по отдельности. Поскольку такие графты являются поверхностными, после их размещения может происходить значительная убыль костной ткани и развиваться дегисценция мягких тканей (69). К тому же, могут наблюдаться осложнения в месте взятия биоматериала для аутографта, и весь процесс подготовки и проведения такой аугментации является длительным и непростым. Кроме того, объем аутографта ограничен, и пациенты и врачи, в большинстве случаев, стараются избегать данной процедуры. В качестве заменителей аутографтов применяются аллографты, ксенографты и синтетические заменители костной ткани, однако их использование как самостоятельных материалов для вертикальной и горизонтальной аугментации альвеолярного отростка не рекомендуется (60, 70).

Для этой цели может применяться AutoBT, как альтернативный вариант аутографта - он может быть очень полезен в клинической практике в качестве компонента смесей для костной аугментации.

Ким и др. (71, 72) опубликовали отчёт об успешном применении различных материалов для костной аугментации альвеолярного отростка.



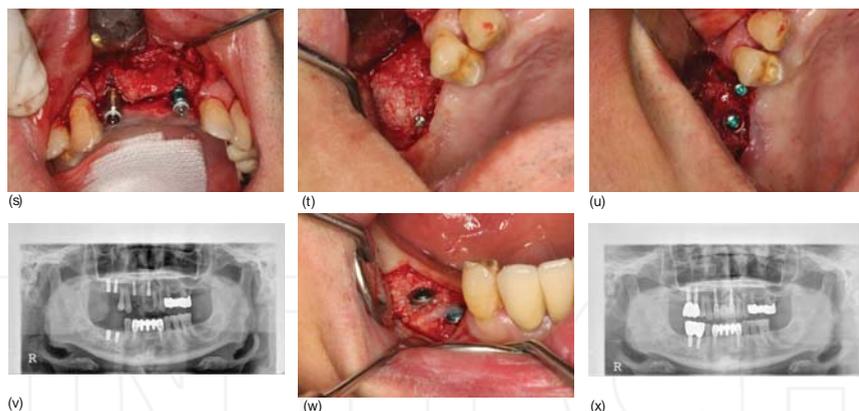


Рис. 22: Установка имплантатов после костной аугментации альвеолярного отростка фронтального отдела верхней челюсти и дистальных отделов верхней и нижней челюсти. а) Ортопантомограмма до начала лечения. Наблюдается значительная общая резорбция альвеолярного отростка. б) Интраоральный снимок фронтальной зоны альвеолярного отростка перед костной аугментацией. в) Отслаивание слизисто-надкостничного лоскута. Виден дефект вестибулярной поверхности альвеолярного отростка. г) Фиксация винтами блока AutoBT с вестибулярной стороны альвеолярного отростка. е) Дополнительная аугментация порошком AutoBT. ф) Наложение швов после размещения биорезорбируемой коллагеновой мембраны (Ossix plus). г) Аугментация кости дна гайморовой пазухи справа порошком AutoBT. h) Вертикальная аугментация альвеолярного отростка блоком AutoBT с фиксацией винтом. и) Ортопантомограмма после аугментации альвеолярного отростка фронтального отдела верхней челюсти и правого дистального отдела нижней челюсти. С момента удаления зуба прошел месяц. к) Отслаивание слизисто-надкостничного лоскута. Видны вертикальные дефекты альвеолярного отростка. л) В области зуба 45 размещен блок AutoBT и окружающие области аугментированы порошком AutoBT. Перед размещением во рту, блок AutoBT помещается в физраствор на 15-30 мин. м) Наложение швов после размещения биорезорбируемой коллагеновой мембраны (Ossix plus). н) Ортопантомограмма после костной аугментации. о) Отслаивание слизисто-надкостничного лоскута в областях зубов 45 и 46 через 2 месяца после костной аугментации. Часть мембраны не резорбировала. q) Установка имплантатов областях зубов 45 и 46. r) Отслаивание слизисто-надкостничного лоскута в дистальном отделе верхней челюсти через 4 месяца после костной аугментации. Наблюдается хорошее заживление костной ткани. Вокруг титановых винтов особой резорбции не наблюдается. s) Установка имплантатов после удаления винтов. t) Отслаивание слизисто-надкостничного лоскута в областях зубов 15 и 16. Видны титановые винты. Заживление кости очень хорошее. v) Ортопантомограмма после установки имплантатов в областях 12, 21, 15 и 16. w) Экспозиция имплантатов в областях 45 и 46 во время очередного хирургического этапа спустя 2 месяца. x) Ортопантомограмма через 6 месяцев после установки постоянной реставрации.

8. Презервация и реконструкция альвеолы удалённого зуба (рис. 23)

Известно, что кость вблизи стенок альвеолы резорбирует в первое время после удаления зуба. В случаях, когда перед удалением наблюдались болезни пародонта, резорбция может быть сильнее (73). Сильная резорбция альвеолярного отростка может стать причиной эстетических проблем во фронтальной зоне. Кроме того, естественный и нормальный процесс заживления может быть затруднен - например, если мягкие ткани попадают в костный дефект при пародонтите или прикорневых воспалениях и кистах, либо если в стенках альвеолы удаляемого зуба обнаруживаются серьёзные дефекты.

Поэтому при наличии значительных дефектов костной ткани, в качестве варианта лечения должна рассматриваться презервация или реконструкция лунок удаляемых зубов (74). К настоящему времени были разработаны и успешно испытаны методы презервации с применением различных графтов - для предотвращения вертикальной и горизонтальной резорбции альвеолярного отростка (75-77).

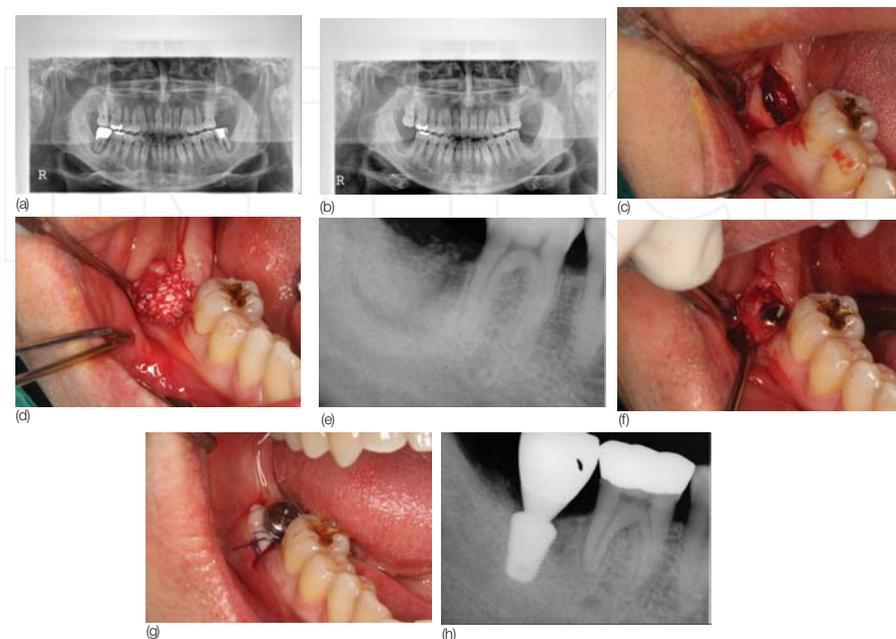


Рис. 23: Аугментация альвеолы удаленного зуба с последующей имплантацией у пациента 48 лет. (Kim Y.K., et al. *Extraction socket preservation and reconstruction using autogenous tooth bone graft. J. Korean Assoc. Maxillofac. Plast. Reconstr. Surg., 2011.*) а) Ортопантомограмма до начала лечения. Видны периапикальные кисты под корнями зубов 37 и 47. Кисты почти доходят до нижнечелюстного канала. б) Ортопантомограмма через 3 месяца после удаления зубов. в) Отслаивание слизисто-надкостничного лоскута для установки имплантата в области зуба 47 через 3 месяца после его удаления. Заживление лунки плохое. Имплантат установить не удалось из-за невозможности достижения его требуемой первичной стабильности. д) Альвеола аугментирована аутографтом из удаленного зуба. е) Периапикальная радиография после операции. ф) Установка имплантата через 3 месяца после аугментации лунки. Первичная стабильность имплантата превосходная. г) Второй хирургический этап спустя 2,5 месяца после имплантации. х) Периапикальная радиография через 14 месяцев после установки постоянной реставрации.

В 2011 г. Ким и др. (78) опубликовали отчёт о клиническом случае презервации и реконструкции лунки удалённого зуба с применением аутогенного графта из тканей зуба в виде порошка и блока. В отчёте указывается, что заживление лунки завершилось без проблем через 3-3,5 месяца, после чего была предпринята успешная имплантация.

9. Заключение

Очевидно, что аутогенные материалы для костной аугментации на основе тканей зуба (AutoBT) безопаснее, чем аллогенные и ксеногенные графты. Гистологические исследования подтверждают, что AutoBT сравним по эффективности со свободным аутогенным костным графтом. AutoBT может безопасно использоваться при различных реконструктивных процедурах, таких как синус-лифтинг, направленная костная регенерация, аугментация альвеолярного отростка и лунок удаленных зубов.

Об авторах:

Young-Kyun Kim¹, Jeong Keun Lee², Kyung-Wook Kim³, In-Woong Um⁴, Masaru Murata⁵

¹Отделение челюстно-лицевой хирургии больницы Сеульского национального университета в Бунданге, Сеонгнам, Ю. Корея

²Отделение челюстно-лицевой хирургии медицинского факультета Университета Анжу, Сувон, Ю. Корея

³Отделение челюстно-лицевой хирургии колледжа стоматологии Университета Данкук, Чеонан, Ю. Корея

⁴Директор института развития и разработок компании Korea Tooth Bank, Ю. Корея

⁵Отделение челюстно-лицевой хирургии университета Хоккайдо, Япония

References

- [1] Misch, C. E. & Dietsch, F. Bone-grafting materials in implant dentistry. *Implant Dent* (1993). , 2(3), 158-167.
- [2] Murata, M, Akazawa, T, Mitsugi, M, Um, I. W, Kim, K. W, & Kim, Y. K. Human Dentin as Novel Biomaterial for Bone Regeneration. In: Rosario Pignatello R. (ed.) *Biomaterials- Physics and Chemistry*, InTech; (2011). , 127-140.
- [3] Kim, Y. K, Kim, S. G, Byeon, J. H, Lee, H. J, Um, I. U, Lim, S. C, & Kim, S. Y. Development of a novel bone grafting material using autogenous teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* (2010). , 109(4), 496-503.
- [4] Nanci, A. *Ten Cate's Oral Histology*, 7thedi. Elsevier Inc. (2008). , 202-211.
- [5] Min, B. M. *Oral Biochemistry*. Daehan Narae Pub Co. Seoul.(2007). , 22-26.
- [6] Bhaskar, S. N. *Orban's Oral histology and embryology*. 9th edition. Mosby Co. USA. (1980).
- [7] Butler, W. T, Mikulski, A, & Urist, M. R. Noncollagenous proteins of a rat dentin matrix possessing bone morphogenetic activity. *J Dent Res* (1977). , 56(3), 228-232.