

# TS SOI

Поверхность SA с активным покрытием

СБОРНИК СТАТЕЙ



## СОДЕРЖАНИЕ

---

**Обзорная статья**

- 
- 04** Имплантаты Osstem SOI – химически активная поверхность для ускоренной остеоинтеграции

---

**Доклинические исследования in vitro**

- 
- 07** Биоактивные характеристики поверхности имплантата, покрытой буферным агентом pH: результаты исследования in vitro
- 13** Влияние нанесения буферного агента pH на поверхность имплантата на ранние этапы остеоинтеграции
- 16** Влияние гидрофильной поверхности SOI на ранние этапы остеоинтеграции

---

**Клинические исследования**

- 
- 27** Может ли новая поверхность, покрытая буферным агентом pH, ускорить остеоинтеграцию имплантата?
- 29** Нанесение буферного агента pH на поверхность, прошедшую пескоструйную обработку и травление кислотой, после ее облучения вакуумным ультрафиолетовым излучением (фотофункционализация дентальных имплантатов)

---

**Разбор клинического случая**

- 
- 36** Сравнение эффективности раннего протезирования с опорой на имплантаты с поверхностью, прошедшей пескоструйную обработку и травление кислотой (поверхность SA), и поверхностью SA, модифицированной буферным агентом pH (поверхность SOI): 4-месячные результаты многоцентрового рандомизированного контролируемого исследования по принципу разделенного рта

## Имплантаты Osstem SOI – химически активная поверхность для ускоренной остеоинтеграции дентальных имплантатов

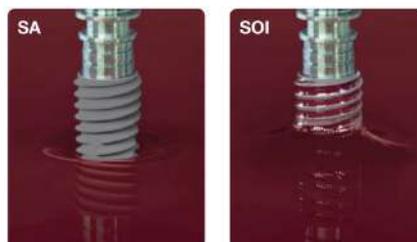
Osstem Implant представляет имплантат TSIII SOI с химически активируемой модификацией поверхности SLA (Osstem SA). УФ-обработка и последующая обработка буферным агентом pH позволяют повысить стабильность имплантата на раннем этапе, сократить сроки лечения и обеспечить предсказуемый результат даже в сложных клинических случаях дефицита костной ткани.

### Свойства поверхности SOI

- **Ультра-гидрофильная поверхность** ускоряет образование полноценного кровяного сгустка, в максимальном объеме и на всей поверхности имплантата. Кровяной сгусток является источником факторов роста, факторов дифференциации остеогенных клеток. Он также способствует миграции и активизации остеогенных клеток на поверхности имплантата остеогенных клеток, то есть выступает в качестве «каркаса» (матрикса) для новообразованной кости, что ускоряет регенерацию кости и остеоинтеграцию имплантата. **В итоге это сокращает сроки и повышает качество имплантологического лечения.**

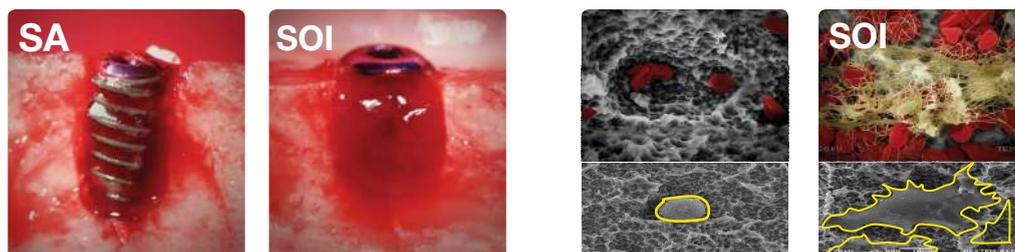


Повышение гидрофильности



Формирование обильного кровяного сгустка

- Обработка соединением HEPES нормализует и оптимизирует pH, поддерживает кислотно-щелочной баланс на поверхности установленного имплантата в зоне максимального клеточного (биологического) комфорта, что усиливает активность остеобластов, клеток, участвующих в ремоделировании кости.



Формирование кости в области имплантатов SA и SOI

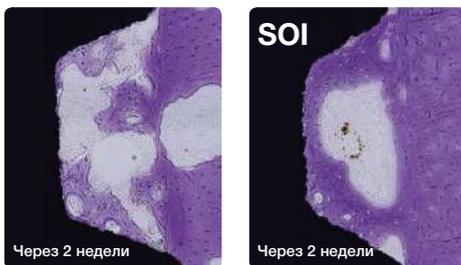
## Преимущества имплантатов SOI

- Сокращает сроки лечения до 3-4 недель вместо 6-8 недель (формирование биологической стабильности имплантата).
- Высокий показатель биологической стабильности имплантата в раннесрочном периоде позволяет значительно сократить частоту осложнений (дезинтеграции), так как этот период связан с наибольшими рисками потери имплантата из-за снижения механической и не сформировавшейся ещё биологической стабильности. Суммарная стабильность не снижается на протяжении всего периода остеоинтеграции имплантата. Отсутствие провалов стабильности имплантата, характерных для 2-4 недель после имплантации, снижает риски при работе с ранней и немедленной нагрузкой.
- Более прочная и надежная остеоинтеграция повышает эффективность лечения в сложных клинических случаях (при недостатке качества или количества костной ткани).

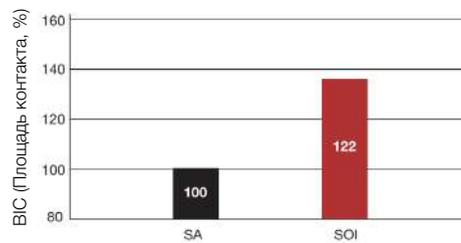
## Данные о научных исследованиях

- Площадь контакта имплантата с костью (BIC) повышается на 22% по сравнению с поверхностью SA. Это очень надежный показатель остеоинтеграции - чем он выше, тем качественнее остеоинтеграция.

Гистологический анализ сравнение имплантатов с поверхностями SA и SOI показал максимальную стабильность кровяного сгустка, быстрое формирование структурированной костной ткани и увеличение площади контакта кости с имплантатом в случае применения имплантатов SOI:

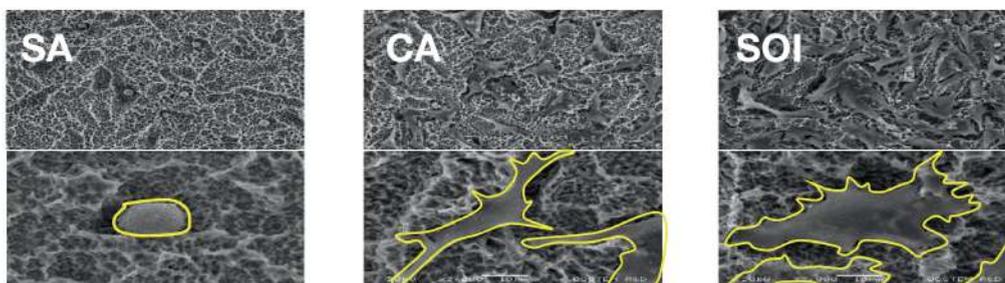


Формирование кости в области имплантатов SA и SOI



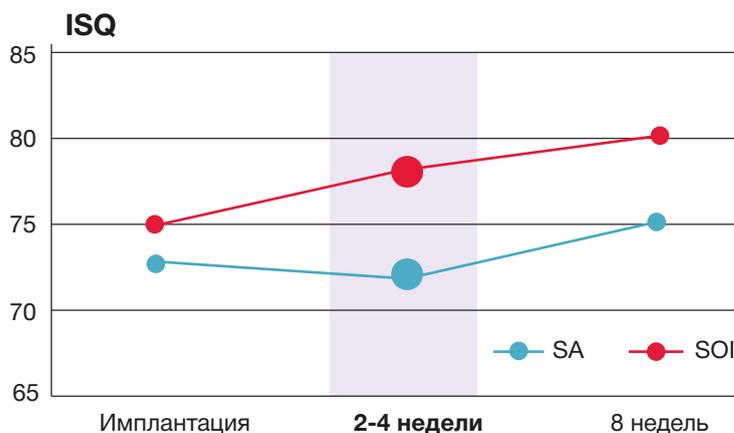
Сравнение показателей BIC для имплантатов SA и SOI

- Дифференцировка клеток повышается на 41%. Адгезия остеобластов выше на 65% по сравнению с SA.



- Сила торка на выкручивание повышается на 57% по сравнению с поверхностью SA
- Высокое значение коэффициента стабильности имплантата (ISQ), отсутствие провалов в стабильности в раннесрочном периоде (2-4 недели после установки).

Исследования показали, что за счет активизации клеток и повышения вторичной стабильности, результирующая стабильность SOI выше сразу после установки имплантата и постепенно и ровно растет в течение последующего периода реабилитации.



## Рекомендации по применению

Имплантаты с поверхностью SOI универсальны и подходят для любого клинического случая, ультрагидрофильная поверхность имеет преимущества, и особенно рекомендуется в следующих случаях:

- Немедленная имплантация и направленная костная регенерация, в частности устранение щелевидных дефектов, которые могут снизить предсказуемость остеоинтеграции.
- Мягкая кость, имплантация на верхней челюсти. В мягкой кости особенно важен стабильный контактный остеогенез.
- Ранняя нагрузка. Сроки остеоинтеграции сокращаются до 3-4 недель. Нет провала общей стабильности имплантата в период остеоинтеграции, а значит снижаются риски потери имплантата в раннесрочном периоде.
- Имплантация с одновременным синус-лифтингом - гидрофильная поверхность гарантирует стабильность кровяного сгустка, который помогает сохранить положение (уровень) поднятого дна пазухи.

Имплантаты TS SOI - уникальная разработка Osstem, которая не представлена среди других южнокорейских и мировых производителей. Они созданы для предсказуемой и полноценной остеоинтеграции, стабильности имплантата даже в сложных клинических условиях и для сокращения сроков лечения. Имплантаты с поверхностью SOI открывают новые возможности для немедленной имплантации, в условиях недостатка качества и количества костной ткани, при синус-лифтинге с одновременной имплантацией и идеально подходят для протоколов ранней нагрузки.

## Влияние нанесения буферного агента pH на поверхность имплантата на ранние этапы остеоинтеграции

Чухён Кан (Joo Hyun Kang),<sup>1</sup> Сукён Ким (Su-Kyoung Kim),<sup>2</sup> Хёнчуль Пэ (Hyung Chul Pae),<sup>1</sup> Чинюн Пак (Jin Young Park),<sup>1</sup> Сонхо Чхве (Seong-Ho Choi)<sup>1</sup>

### Цель

Теоретически, нанесение буферного агента для поддержания уровня кислотности (pH) на поверхность имплантата должно обеспечивать более эффективную и быструю остеоинтеграцию имплантата. Целью настоящего исследования является измерение обратного торка при удалении имплантата с таким типом поверхности и проведение гистологического анализа прилегающей костной ткани.

### Материалы и методы

В ходе исследования использовали имплантаты со следующими типами поверхности: поверхность, прошедшую пескоструйную обработку и травление кислотой (SA; контрольная группа 1), поверхность SA в растворе хлорида кальция (CA; контрольная группа 2), поверхность SA с нанесенным буферным агентом pH (pH, тестовая группа). Обратный торк при удалении имплантата измеряли через 2 недели, а показатель контакта имплантата с костью - через 2 и 4 недели.

### Результаты

Через 2 недели значение обратного торка было значительно выше в группе pH ( $107,5 \pm 6,2$  Нсм,  $p < 0,05$ ). Средние показатели контакта имплантата с костью через 2 и 4 недели были также выше в группе pH по сравнению с группами SA и CA. Разница между группами была статистически достоверной ( $p < 0,05$ ).

Время \ Группа	ph	SA	CA
2 недели	93% + 6,4%	49,7% + 9,7%	73,7% + 12,4%
4 недели	88,6% + 5,5%	47,3% + 20,1%	72,5% + 10,9%

Контакт с имплантом

В группе pH зарегистрировали значительно большую площадь контакта поверхности имплантата с костью (39,5% + 11,3% через 2 недели; 71,9% + 10,9% через 4 недели;  $p < 0,05$ ).

### Выводы

Полученные данные свидетельствуют о том, что нанесение буферного агента pH на поверхность имплантата ускоряет ранние этапы остеоинтеграции, улучшая биомеханические характеристики имплантата.

<sup>1</sup> Кафедра пародонтологии, исследовательский институт регенерации тканей пародонта, стоматологический факультет университета Ёнсе (Сеул, Южная Корея)

<sup>2</sup> Имплантологический исследовательский центр, Osstem Implant (Пусан, Южная Корея)

## Введение

Производители имплантатов приложили множество усилий для ускорения остеоинтеграции имплантатов и улучшения ее качества. Изменение дизайна имплантатов, характеристик их поверхности и материала, из которого они производятся, способствовали ускорению остеоинтеграции, сокращению сроков протезирования и достижению благоприятных отдаленных результатов имплантологического лечения.

По данным исследований, поверхностная энергия имплантата, обусловленная гидрофильными свойствами поверхности, оказывает существенное влияние на биологический ответ организма. Если поверхность имеет положительный заряд, она обладает гидрофильными свойствами. Гидрофильность способствует прикреплению протеинов плазмы, играющих ключевую роль в раннем остеогенезе, к поверхности.

Результаты целого ряда исследований говорят о том, что в отличие от гидрофобных поверхностей гидрофильные поверхности ускоряют адгезию клеток, их пролиферацию и дифференцировку, а также минерализацию кости.

Schwarz и соавт. сравнили эффективность гидрофильных и негидрофильных поверхностей, прошедших грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой (поверхность SLA), в эксперименте на собаках.

Результаты клинических исследований также подтверждают положительное влияние гидрофильных свойств поверхности на остеоинтеграцию имплантата за счет заметного увеличения BIC.

Компания Osstem Implant выпустила на рынок новые имплантаты с гидрофильной поверхностью, прошедшей пескоструйную обработку и травление кислотой и покрытую буферным агентом pH.

Согласно гипотезе авторов настоящего исследования, новый тип поверхности ускоряет остеоинтеграцию имплантата и формирование новой костной ткани на ранних этапах заживления по сравнению с традиционными поверхностями. Модификация поверхности усиливает тромбогенный ответ, ускоряя заживление костной ткани, способствуя более высокому контакту имплантата с костью (BIC).

## Материалы и методы

### 1. Дизайн и исследования

В ходе исследования оценивали три разных типа поверхности титановых имплантатов: поверхность, прошедшую пескоструйную обработку и травление кислотой (стандартная поверхность SA; 1 контрольная группа), поверхность SA в растворе хлорида кальция (CA; 2 контрольная группа), поверхность SA с нанесенным буферным агентом pH (pH, тестовая группа).

### 2. Материалы

Использовали два типа размера имплантатов. В ходе двухнедельного исследования устанавливали имплантаты 8,5 x 3,5 мм (Osstem Implant; Сеул, Южная Корея), а в ходе четырехнедельного исследования - 8,5 x 4 мм.

Для проведения теста на вывинчивание использовали 30 имплантатов: по 10 имплантатов из групп SA, CA и pH. Гистологический анализ прилегающей к поверхности имплантатов костной ткани проводили через 2 (12 имплантатов) и 4 недели (12 имплантатов), используя по 4 имплантата из каждой группы.

### 3. Испытуемые животные

Протокол исследования был одобрен Комитетом по экспериментам на животных компании Cronex (Хвасон, Южная Корея) (номер разрешения: CRONEX IACUC 201710001). Отбор животных, их подготовку и хирургическое вмешательство проводили в соответствии с рекомендациями компании Cronex.

В исследование включили девять взрослых самцов карликовых свиней (Cronex) в возрасте от 1 до 2 лет весом от 45 до 55 кг. Трех свиней использовали для проведения теста на вывинчивание имплантата, шесть свиней – для гистологического анализа.

### 4. Хирургический протокол

Перед операцией животным назначали атропин (0,05 мг/кг). Для выполнения анестезии внутримышечно вводили золазепам/тилетамин (10 мг/кг массы тела, Zoletil; Virbac Laboratories, Кяппо, Франция) и гидрохлорид медетомидина (10 мкг/кг массы тела, Domitor; Zoetis, Сеул, Корея). После вводного наркоза устанавливали эндотрахеальную трубку. Наркоз поддерживали не менее одного часа с помощью 1,8% изофлурана (Isotroy 100; Troika Pharmaceuticals Ltd., Гуджарат, Индия) в смеси с кислородом при скорости потока 100 мл/кг/мин. Для обезбоживания области вмешательства выполняли инфльтрационную анестезию (2% раствор лидокаина с эпинефрином в соотношении 1:100000; Huons, Соннам, Южная Корея). Антибиотик (цефазолин; Yuhan, Ltd., Сеул, Южная Корея) перед операцией также вводили внутривенно. Для предотвращения обезвоживания во время действия наркоза всем животным проводили инфузионную терапию раствором Рингера лактата с постоянной скоростью.

В рамках исследования проводили два хирургических вмешательства. В ходе первой операции после отслаивания слизисто-надкостничного лоскута удаляли вторые, третьи и четвертые премоляры, и первые моляры с обеих сторон нижней челюсти с минимальной травмой прилегающих тканей. Края раны ушивали матрацными швами, после чего ткани заживали в течение 3 месяцев. В день операции и в последующие 7 дней животным профилактически вводили клиндамицин (11 мг/кг массы тела, Клеороб; Pharmacia Tiergesundheits, Эрланген, Германия). Во время второй операции проводили разрезы по середине альвеолярного гребня, после чего отслаивали полнослойные лоскуты для препарирования ложа имплантатов на нижней челюсти.

Остеотомические отверстия формировали с обеих сторон нижней челюсти на расстоянии 10 мм друг от друга с обильным охлаждением стерильным 0,9% физиологическим раствором, используя малоинвазивный хирургический протокол. Начальное препарирование ложа имплантата в области медиального края нижней челюсти выполняли пилотным сверлом (2 мм) со скоростью 800 об/мин. Остеотомическое отверстие расширяли в соответствии инструкцией производителя имплантатов. После установки имплантатов на них зафиксировали винты-заглушки. Имплантаты перекрыли мягкими тканями, после чего края раны ушили резорбируемым шовным материалом (Vicryl 5-0). Через 2 и 4 недели заживления животных усыпляли.

Измеряли обратный торк при вывинчивании имплантатов и проводили гистоморфометрический анализ гистологических срезов, включавших имплантат и прилегающую кость.

## 5. Методы анализа

### • Измерение торка имплантата при вывинчивании

Трем карликовым свиньям установили в общей сложности 30 имплантатов по пять имплантатов с каждой стороны нижней челюсти. Всего было установлено по 10 имплантатов с каждым типом поверхности. Распределение имплантатов в пределах челюсти в соответствии с типом было уникальным для каждого животного. Животных усыпили, после чего отслоили мягкотканый лоскут и удалили винты-заглушки, чтобы измерить усилие, необходимое для выкручивания имплантата, с помощью цифрового динамометрического ключа (Kanon DTDK-N5EXL; Nakamura Mfg., Токио, Япония). Оценивали максимальное напряжение сдвига, вызывающее нарушение остеоинтеграции имплантата. Максимальный крутящий момент между имплантатом и ключом составлял 500 Нсм. Если усилие, необходимое для удаления имплантата, превышало указанное пороговое значение, ключ соскальзывал и имплантат было невозможно извлечь из челюстной кости.

### • Подготовка образцов и гистологический анализ

Был проведен анализ гистологических образцов, полученных у 6 карликовых свиней. Свиньям установили по четыре имплантата каждого типа на 1 мм апикальное края кости. Распределение имплантатов в пределах челюсти в соответствии с типом было уникальным для каждого животного. Животных усыпляли через 2 и 4 недели. Гистологические образцы представляли собой имплантат с прилегающей костной тканью. Каждый образец фиксировали в 10% буферном растворе формальдегида, обезвоживали спиртом и погружали в полимерную смолу (Technovit 7200 VLC; Heraeus Kulzer GmbH, Верхайм, Германия). Полученные блоки рассекали в вестибулярно-язычном направлении алмазной пилой (Exakt CP; Exakt Apparatebau, Нордерштедт, Германия) и сошлифовывали до получения среза толщиной 30–40 мкм с помощью микрошлифовального станка (Exakt 400CS; Exakt Apparatebau). Срезы окрашивали гематоксилином и трихромом по Массону для проведения гистологического и гистоморфометрического анализа. Гистологический и гистоморфометрический анализ проводили при двухсоткратном увеличении с помощью оптического микроскопа (BX51; Olympus, Токио, Япония), цифрового фотоаппарата (DP72; Olympus) и программного обеспечения для анализа изображений (Image-Pro Plus; Media Cybernetics Inc., Сильвер-Спринг, США).

### • Гистоморфометрический анализ

BIC определяли как площадь непосредственного контакта поверхности имплантата с минерализованной костью. Площадь кости (bone area - BA) определяли как долю минерализованной кости. При проведении гистоморфометрического анализа исследовали костную ткань между вторым, третьим и четвертым витками резьбы имплантата.

### • Статистический анализ

Данные представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартное отклонение. Для оценки обратного торка при удалении имплантата, показателей BIC и BA использовали односторонний дисперсионный анализ (ANOVA). P-значение  $< 0,05$  считали статистически значимым. Для проведения статистического анализа использовали программное обеспечение IBM SPSS Statistics 23.0 (IBM, Армонк США) и Microsoft Excel 2010 (Microsoft, Редмонд, США).

## Результаты

Осложнения во время хирургического вмешательства и в послеоперационном периоде отсутствовали. Заживление тканей проходило без особенностей у всех карликовых свиней.

Ни один имплантат не был утрачен в течение всего периода наблюдения. Признаки воспаления прилегающих к имплантату тканей отсутствовали. Каждый гистологический срез включал имплантат и прилегающую костную ткань.

### • Измерение обратного торка при удалении имплантата

Все имплантаты характеризовались высокой стабильностью в течение периода заживления. На рис. 1 представлены значения обратного торка при удалении имплантатов с разными типами поверхности через 2 недели после установки. Средний обратный торк в группах SA, CA и pH составлял  $68,5 \pm 6,4$  Нсм,  $86,3 \pm 7,6$  Нсм, и  $107,5 \pm 6,2$  Нсм соответственно. Разница между группой pH и группами SA и CA была статистически значимой ( $p < 0,05$ ).

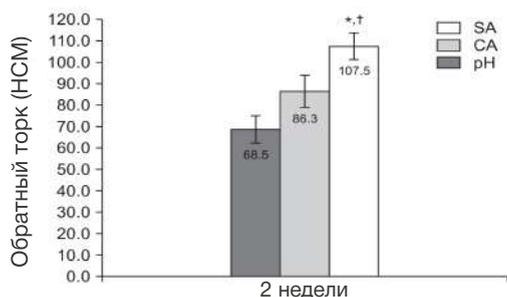


Рис. 1. Обратный торк (Нсм) при удалении имплантатов через 2 недели заживления. \*Значительно отличается от обратного торка имплантатов со стандартной поверхностью, прошедшей пескоструйную обработку и травление кислотой (SA) ( $p < 0,05$ ). Также отличается и от обратного торка имплантатов с поверхностью SA в водном растворе хлорида кальция (CA) ( $p < 0,05$ )

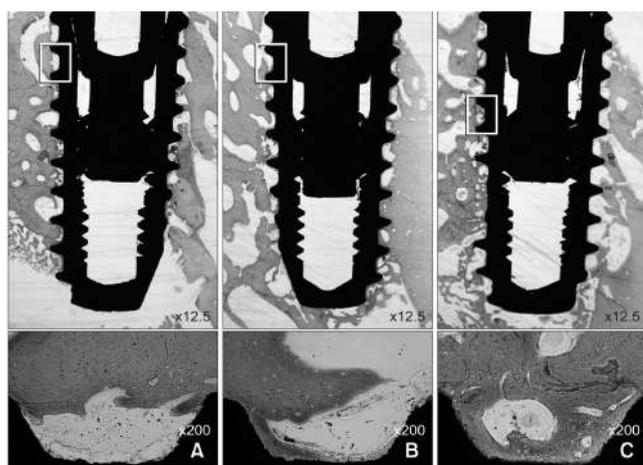


Рис. 2. Репрезентативные гистологические срезы для каждой группы через 2 недели заживления. Оценивали костную ткань между вторым, третьим и четвертым витками резьбы имплантата. (A) Стандартная поверхность, прошедшая пескоструйную обработку и травление кислотой (SA), (B) поверхность SA в водном растворе хлорида кальция (CA), (C) поверхность pH

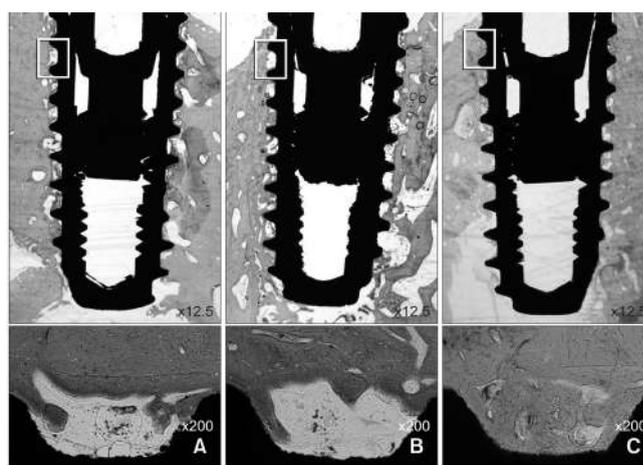


Рис. 3. Репрезентативные гистологические срезы для каждой группы через 4 недели заживления. Оценивали костную ткань между вторым, третьим и четвертым витками резьбы имплантата. (A) Стандартная поверхность, прошедшая пескоструйную обработку и травление кислотой (SA); (B) поверхность SA в водном растворе хлорида кальция (CA); (C) поверхность pH

### • Гистологические наблюдения

Результаты гистологического анализа свидетельствуют о сопоставимом заживлении кости в области имплантатов всех трех типов через 2 и 4 недели после установки. Ни в одном случае не выявили воспалительный инфильтрат, резорбцию кости или реакцию на инородное тело (рис. 2, 3).

### • Гистоморфометрические наблюдения

На рис. 4 и 5 представлены значения показателей BIC и BA в графическом виде.

Контакт поверхности имплантата с костью (BIC%) в области второго, третьего и четвертого витков резьбы имплантата представлен в виде средних значений. Через 2 недели средний BIC% в группе SA составлял  $49,7\% \pm 9,7\%$ , в группе CA -  $73,7\% \pm 12,4\%$ , а в группе pH -  $93,0\% \pm 6,4\%$ . Наибольшее среднее значение BIC% было зарегистрировано в группе pH.

Через 4 недели были получены схожие результаты: наиболее высокий средний BIC% отмечался в группе pH ( $88,6\% \pm 5,5\%$ ). Разница между группами была статистически достоверной ( $p < 0,05$ ).

Оценивали площадь костной ткани (BA) между вторым, третьим и четвертым витками резьбы имплантатов с тремя типами поверхности. В группе pH показатель BA составлял  $39,5\% \pm 11,3\%$  через 2 недели и  $71,9\% \pm 10,9\%$  через 4 недели, что существенно превышало значения этого параметра в группах SA или CA.

Наименьшее значение ВА наблюдалось в группе SA и составляло  $18,8\% \pm 2,6\%$  через 2 недели и  $41,6\% \pm 7,2\%$  через 4 недели. Статистический анализ выявил существенную разницу между группой pH и группами SA и CA через 2 и 4 недели заживления ( $p < 0,05$ ), по Массону для проведения гистологического и гистоморфометрического анализа.

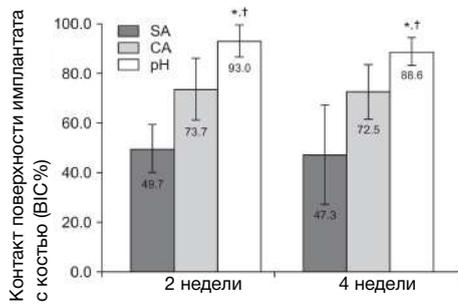


Рис. 4. Контакт поверхности имплантата с костью (BIC%) через 2 и 4 недели заживления. \*Значительно отличается от BIC% имплантатов со стандартной поверхностью, прошедшей пескоструйную обработку и травление кислотой (SA) ( $p < 0,05$ ). Также отличается от BIC% имплантатов с поверхностью SA в водном растворе хлорида кальция (CA) ( $p < 0,05$ )

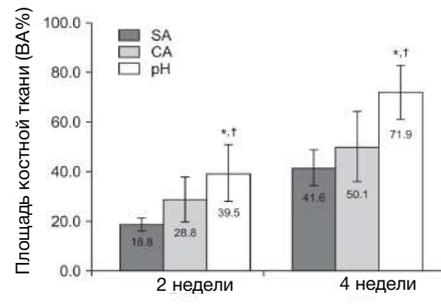


Рис. 5. Площадь костной ткани (BA) через 2 и 4 недели заживления. \*Значительно отличается от BA в области имплантатов со стандартной поверхностью, прошедшей пескоструйную обработку и травление кислотой (SA) ( $p < 0,05$ ). Также отличается от BA в области имплантатов с поверхностью SA в водном растворе хлорида кальция (CA) ( $p < 0,05$ )

## Обсуждения

Целью настоящего исследования является изучение влияния нанесения на поверхность имплантата буферного агента pH на биомеханические характеристики имплантата и гистологические параметры прилегающей костной ткани. В ходе исследования измеряли обратный торк при удалении имплантатов и проводили гистоморфометрический анализ. Полученные результаты свидетельствуют, что обработка поверхности буферным агентом pH придает ей гидрофильные свойства и ускоряет остеоинтеграцию имплантата на ранних этапах. Значение всех параметров в группе pH были существенно выше по сравнению с контрольными группами.

Механизмы, объясняющие положительное влияние гидрофильности на остеоинтеграцию имплантатов еще не до конца изучены. Согласно данным целого ряда исследований, гидрофильные поверхности ассоциируются с более высоким BIC, более выраженной дифференцировкой остеобластов, выработкой факторов роста и экспрессией генов, отвечающих за остеогенез, чем гидрофобные поверхности. Donos и соавт. продемонстрировали, что поверхностный заряд гидрофильной поверхности может избирательно привлекать протеины, участвующие в регуляции генов, экспрессируемых клетками-предшественниками. Hong и соавт. сравнивали тромбогенный ответ при установке имплантатов с гидрофильной и гидрофобной поверхностью в условиях *in vitro*. Было установлено, что тромбоциты значительно активнее связываются с гидрофильной поверхностью, что существенно ускоряет процесс свертывания крови. Результаты вышеупомянутых исследований могут объяснять ускорение остеоинтеграции на ранних этапах заживления при использовании имплантатов с гидрофильными свойствами, обусловленными нанесением на их поверхность буферного агента pH.

Влияние кислой среды на биологию костной ткани хорошо изучено. При ацидозе повышается резорбтивная активность остеокластов и снижается отложение минералов в костной ткани остеобластами. Однако число исследований, изучающих влияние буферного агента pH на свойства поверхности имплантатов, очень невелико. В ходе настоящего исследования использовали имплантаты, покрытые буферным агентом pH для придания поверхности гидрофильных свойств. Авторы надеются, что данная статья может стать толчком для дальнейших исследований, которые смогут пролить свет на влияние буферного агента pH на остеоинтеграцию имплантатов.

В настоящем исследовании обратный торк при удалении имплантата использовали в качестве биомеханического критерия остеоинтеграции: чем больше усилие, необходимое для выкручивания имплантата, тем выше качество его остеоинтеграции. В эксперименте на карликовых свиньях Buser и соавт. сравнивали торк при удалении имплантатов с двумя типами поверхности через 4, 8 и 12 недель заживления. Усилие, необходимое для удаления имплантатов с поверхностью, прошедшей пескоструйную обработку и травление кислотой, через 4 недели после установки, составляло 109,6 Нсм. В случае имплантатов с фрезерованной поверхностью, прошедшей травление кислотой, усилие снижалось до 62,5 Нсм. В ходе настоящего исследования наибольшее значение обратного торка было зарегистрировано в группе pH - 107,5 Нсм, а наименьшее - в группе SA - 68,5 Нсм, что сопоставимо с данными Buser и соавт. Однако следует учитывать, что в данном случае обратный торк измеряли через 2 недели после имплантации, что свидетельствует о более высокой биомеханической стабильности имплантатов.

Lang и соавт. сравнивали скорость и качество остеоинтеграции имплантатов с гидрофильной и гидрофобной поверхностями. Через 2 и 4 недели после имплантации показатель контакта имплантатов с костью был выше у имплантатов с гидрофильной поверхностью и достигал 14,8% и 48,3% соответственно. Данные Lang в целом соответствуют результатам настоящего исследования, однако авторы зарегистрировали существенно более высокие показатели BIC.

Тест на вывинчивание имплантатов дал схожие результаты. Через 2 недели заживления значение обратного торка в тестовой группе pH было существенно выше, чем в группах CA и SA ( $p < 0,05$ ). Наибольшее усилие при удалении имплантата можно интерпретировать как свидетельство более высокого BIC, однако следует учитывать сложную природу биологического феномена остеоинтеграции. В ходе теста на вывинчивание имплантата измеряют сдвигающее усилие на границе между костью и поверхностью имплантата, этого недостаточно, чтобы судить о качестве остеоинтеграции имплантата. Тем не менее, во многих исследованиях для оценки остеоинтеграции имплантата используют именно обратный торк.

---

## Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов при проведении настоящего исследования и публикации его результатов.

---

## Выводы

Нанесение буферного агента pH на поверхность имплантата обеспечивает более быструю остеоинтеграцию имплантата на ранних этапах заживления по сравнению с традиционными поверхностями. Для оценки эффективности буферного агента pH с точки зрения остеоинтеграции имплантата требуются дальнейшие исследования.

# Влияние гидрофильной поверхности SOI на ранние этапы остеоинтеграции дентальных имплантатов

Сокён Ким (Su-Kyoung Kim), Илсок Чан (Il-Seok Jang),  
Чутон Сон (Ju-Dong Song), Тхэгван Ом (Tae Gwan Eo)

## Введение

По данным исследований, топография поверхности титановых имплантатов является важным фактором, влияющим на процесс остеоинтеграции. Было установлено, что титановые имплантаты с модифицированной гидрофильной микрошероховатой поверхностью характеризуются ускоренной остеоинтеграцией по сравнению с имплантатами с обычной микрошероховатой поверхностью.

## Цель

Целью настоящего исследования является проверка гипотезы, согласно которой поверхность SOI обеспечивает более быструю остеоинтеграцию имплантатов по сравнению с поверхностью SA.

## Материалы и методы

В рамках исследования использовали титановые имплантаты длиной 8,5 мм и диаметром 3,5 мм с поверхностью, прошедшей пескоструйную обработку и травление кислотой. На поверхность части имплантатов нанесли специальное гидрофильное покрытие. Имплантаты устанавливали в большеберцовую кость карликовым свиньям.

Для оценки качества остеоинтеграции проводили тест на обратное вывинчивание. Остеогенез в области имплантатов через 16 дней после их установки оценивали с помощью микро-компьютерной томографии.

## Результаты

Для придания гидрофильных свойств гидрофобной поверхности SA и их сохранения на нее наносили специальное покрытие. Адсорбция протеинов и остеобластов к поверхности имплантата на ранних этапах остеоинтеграции была более выраженной в области имплантатов с поверхностью SOI по сравнению с поверхностью SA. Усилие, необходимое для вывинчивания имплантатов через 16 дней после их установки, было на 30–50% выше в группе SOI по сравнению с SA.

## Результаты

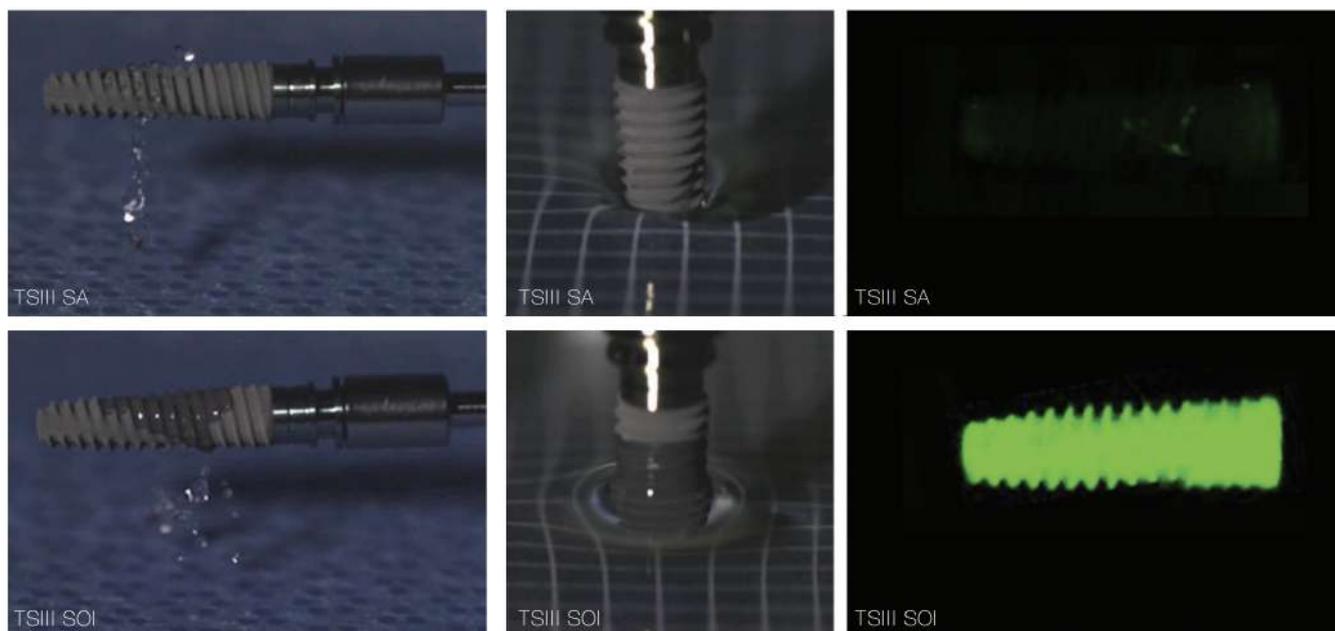


Рис. 1. Гидрофильные свойства и адсорбция белков крови к поверхности титанового импланта со специальным покрытием

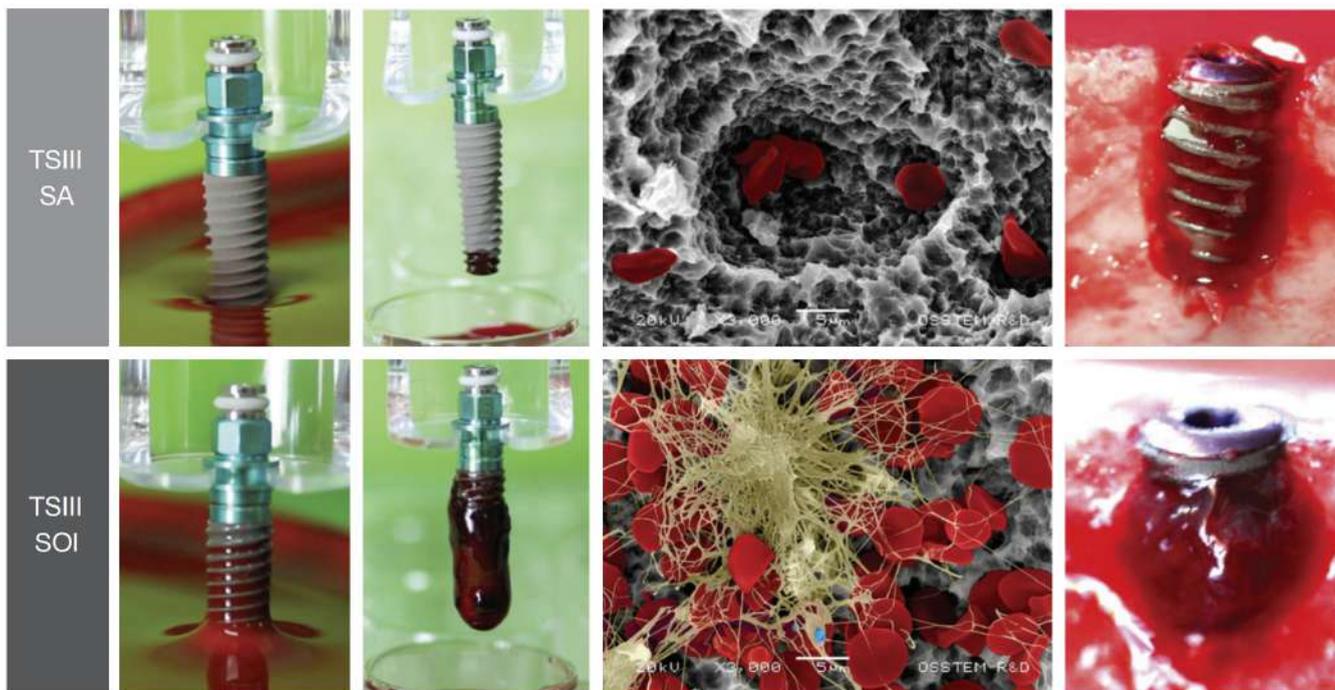


Рис. 2. Формирование кровяного сгустка на поверхности титанового имплантата со специальным гидрофильным покрытием

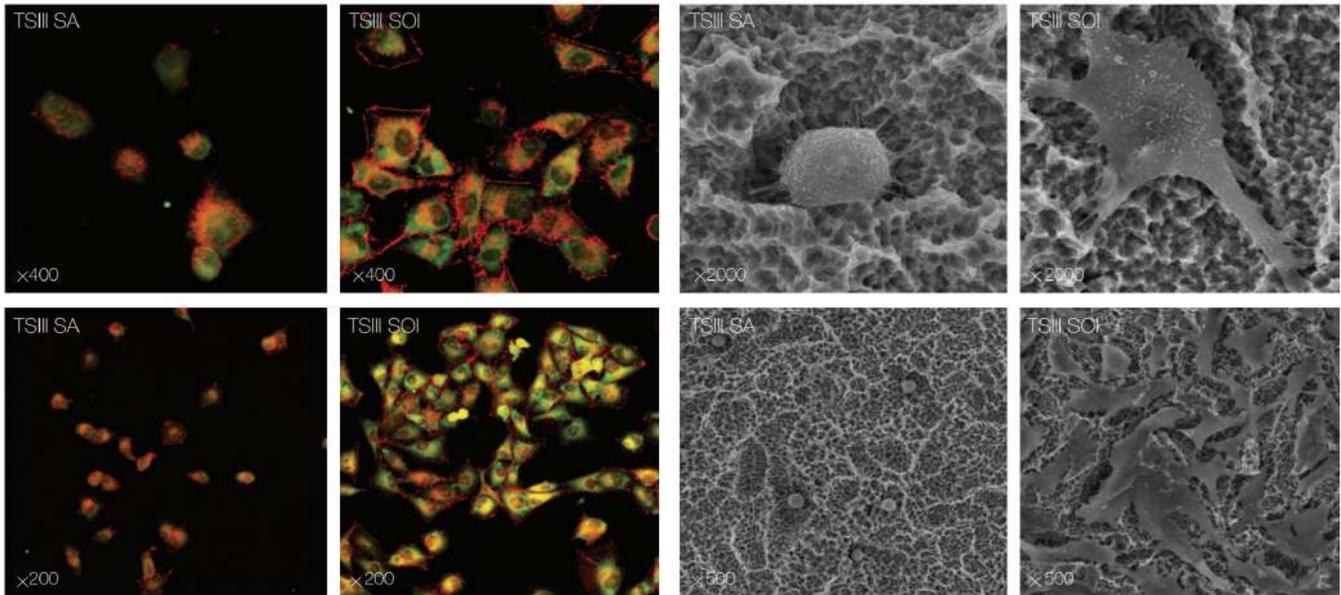


Рис. 3. Адгезия остеобластов и их распределение на поверхности с гидрофильным покрытием

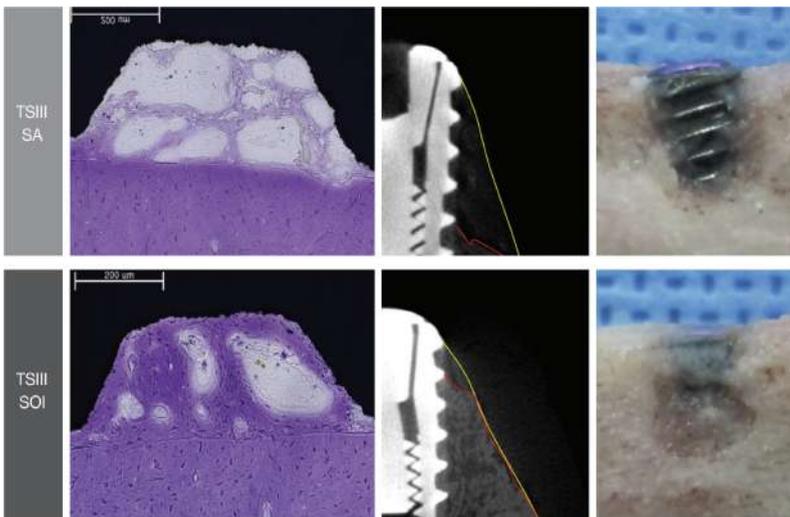
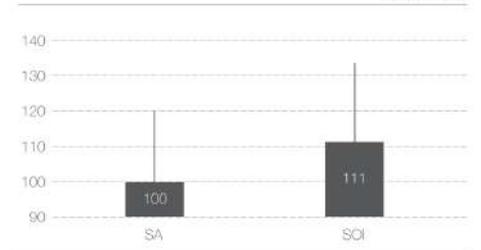


Рис. 4. Влияние гидрофильного покрытия на качество остеоинтеграции и формирование новой костной ткани в области имплантатов, установленных карликовым свиньям

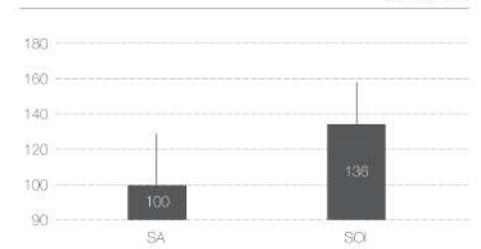
## Результаты

Для активации поверхности SA и ее превращения в поверхность SOI на титановые имплантаты наносили специальное покрытие, обладающее гидрофильными свойствами и способствующее их сохранению. Адсорбция протеинов и остеобластов к поверхности имплантата на ранних этапах заживления была значительно более выраженной в области имплантатов с поверхностью SOI по сравнению с имплантатами с поверхностью SA. Усилие, необходимое для вывинчивания имплантата через 16 дней заживления, было на 30–50% выше для имплантатов SOI по сравнению с имплантатами SA.

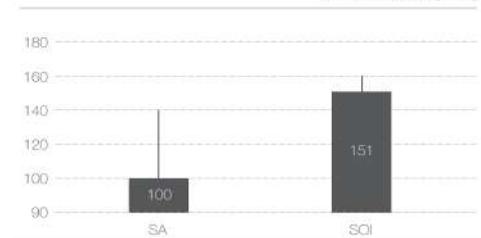
Формирование новой костной ткани через 4 недели после установки имплантатов карликовым свиньям (TSIII 3508, n=8)



Формирование новой костной ткани через 4 недели после установки имплантатов карликовым свиньям (TSIII 3508, n=8)



Усилие при выкручивании имплантатов, установленных карликовым свиньям (TSIII 3508, n=8)



# Биоактивные характеристики поверхности имплантата, покрытой буферным агентом pH: результаты исследования *in vitro*

Хёнчуль Пэ (Hyung-Chul Pae)<sup>1</sup>, Сокён Ким (Su-Kyong Kim)<sup>2</sup>, Джинюн Пак (Jin-Young Park)<sup>1</sup>, Юну Сон (Young Woo Song)<sup>1</sup>, Джэкук Чха (Jae-Kook Cha)<sup>1</sup>, Чонвон Пэк (Jeong-Won Paik)<sup>1</sup>, Сонхо Чхве (Seong-Ho Choi)<sup>1,\*</sup>

## Цель

Целью настоящего исследования является оценка влияния буферного агента pH на поверхность, прошедшую грубо-зернистую пескоструйную обработку и травление кислотой (SLA), с точки зрения ее смачиваемости, аффинности к остеобластам, а также адгезии к поверхности белков крови и тромбоцитов, и их активации.

## Методы

В ходе исследования использовали титановые диски и имплантаты с обычной поверхностью SLA (SA), поверхностью SLA в водном растворе хлорида кальция (CA) и поверхностью SLA, покрытой буферным агентом pH (SOI). Для оценки скорости смачивания измеряли число витков резьбы, смоченных кровью за определенный промежуток времени. Адсорбцию сывороточного альбумина проверяли с помощью анализа на бисцинониновую кислоту и за счет измерения интенсивности флуоресценции. В ходе исследования также оценивали активность остеобластов (включая адгезию, пролиферацию, дифференцировку, миграцию и минерализацию остеобластов), анализировали адгезию и активацию тромбоцитов.

## Результаты

Результаты тестов на скорость смачивания и адсорбцию сывороточного альбумина свидетельствуют о значительно более высокой скорости смачивания поверхности SOI по сравнению с поверхностью SA ( $p=0,000$  и  $p=0,000$  соответственно). В тестах, оценивающих адгезию, пролиферацию, дифференцировку и минерализацию остеобластов, средние значения показателей были выше в группе SOI по сравнению с группами SA и CA. Поверхность SOI характеризовалась существенно более высокой скоростью миграции остеобластов, адгезии и активации тромбоцитов, чем поверхность SA ( $p=0,04$ ,  $p=0,000$  и  $p=0,000$  соответственно).

## Вывод

Поверхность SOI характеризуется более выраженной гидрофильностью и аффинностью к белкам, клеткам и тромбоцитам по сравнению с поверхностью SA. Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что покрытие имплантата буферным агентом pH способствует адгезии тромбоцитов, белков и клеток к его поверхности. Для оценки эффективности и безопасности поверхности SOI в сравнении с другими распространенными поверхностями требуется проведение клинических исследований.

<sup>1</sup> Кафедра пародонтологии, исследовательский институт регенерации тканей пародонта, стоматологический факультет университета Ёнсе (Сеул, Южная Корея)

<sup>2</sup> Имплантологический исследовательский центр, Osstem Implant (Пусан, Южная Корея)

## Введение

Усовершенствование титановых имплантатов позволило ускорить их остеоинтеграцию, сократить сроки протезирования и увеличить показатель успеха имплантологического лечения. Усилия производителей были в первую очередь направлены на модифицирование поверхности имплантата физическими и химическими методами для придания ей гидрофильности и увеличения показателя контакта имплантата с костью. По данным целого ряда исследований, грубозернистая пескоструйная обработка и травление кислотой позволяют получить поверхность (SLA) с микро- и макротопографией, способствующую достижению хороших клинических результатов.

Кроме того, были разработаны химические методы модифицирования поверхности SLA. Так, для получения поверхности SLActive (Straumann, Базель, Швейцария) поверхность SLA погружают в изотонический раствор хлорида натрия для предотвращения ее контаминации углеродом, содержащимся в атмосферном воздухе. По данным исследований, поверхность SLActive ускоряет формирование костной ткани на ранних этапах заживления. Компании Osstem удалось создать химически активированную поверхность SLA, модифицированную кальцием (Osstem Implant Co., Ltd., Пусан, Корея), за счет погружения имплантата в раствор хлорида кальция вместо хлорида натрия. Результаты доклинического исследования на кроликах показали, что модифицированная кальцием поверхность и поверхность SLActive характеризуются схожими показателями контакта с костью.

На свойства имплантата может влиять взаимодействие клеток крови с молекулами на поверхности имплантата. Разнообразные белки, включая факторы роста и дифференцировки, притягиваются к гидрофильным поверхностям. В ряде исследований in vitro оценивали влияние биохимических характеристик поверхности имплантата на жизнеспособность, пролиферацию, прикрепление и дифференцировку клеток: полученные результаты свидетельствуют о взаимосвязи между свойствами поверхности и клеточной активностью.

Формирование достаточного по размеру фибринового сгустка обеспечивает прямую и стабильную связь между поверхностью имплантата и прилегающей костной тканью, поэтому он играет важную роль в тромбогенном ответе и остеоинтеграции имплантата. Наблюдение за сгустками фибрина на различных поверхностях выявило взаимосвязь между характеристиками поверхности и размером фибринового сгустка.

Формирование ложа имплантата приводит к травме костной ткани, схожей с переломом. Развивается гипоксия, внеклеточный pH снижается. В кислой среде стромальные клетки костного мозга характеризуются низкой активностью щелочной фосфатазы (ЩФ) и низким синтезом коллагена, играющих важную роль в формировании костной ткани. Так, было выявлено снижение активности ЩФ с пикового значения при pH практически до нуля при pH менее 7.18. По данным других исследований, уровень кислотности влияет на активность ЩФ, синтез коллагена, а также гликолиз и синтез ДНК остеобластов. Внеклеточный ацидоз влияет на вход в клетку ионов кальция, опосредованно снижая агрегацию тромбоцитов.

В ходе настоящего исследования оценивали эффективность химически активированной поверхности SLA, покрытой буферным раствором pH. Согласно результатам исследований, она характеризуется высокой аффинностью к белкам, клеткам и тромбоцитам, что в свою очередь способствует быстрому и стабильному свертыванию крови и тромбогенезу. Целью данного исследования было сравнение эффективности поверхности SLA, покрытой буферным раствором pH, обычной поверхности SLA и химически активированной поверхности SLA, модифицированной кальцием, в условиях in vitro. Сопоставляли ряд параметров, включая адгезию белков крови, аффинность к остеобластам, а также адгезию и активацию тромбоцитов.

## Материалы и методы

### Подготовка титановых дисков, имплантатов и реагентов

Компания Osstem Implant предоставила титановые диски и имплантаты с тремя типами поверхности для проведения настоящего исследования:

- 1) Обычной поверхностью SLA (SA, группа отрицательного контроля);
- 2) Поверхностью SLA в водном растворе хлорида кальция (CA, группа положительного контроля);
- 3) Поверхностью SLA, покрытой буферным агентом pH (SOI, тестовая группа) (рис. 1а).



**Рис. 1.** Оценка смачиваемости поверхности. (А) Угол краевого смачивания – угол между каплей жидкости и твердой поверхностью. (В) Измерение скорости смачивания. Через 40 секунд поверхность SOI характеризовалась наибольшим числом витков резьбы, смоченных кровью. SA: обычная поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой; CA: поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой, в водном растворе хлорида кальция; SOI: поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой и покрытая буферным агентом pH

Согласно данным производителя, степень шероховатости (Ra) поверхностей всех типов составляла  $2,5 \pm 0,5$  мкм. Пластиковые планшеты для культивирования клеточных культур закупили у компании Becton-Dickinson Falcon (Франклин Лейкс, США). Использовали эмбриональную телячью сыворотка (ЭТС), трипсин/этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА), пенициллин и стрептомицин, среду Игла, модифицированную по способу Дульбекко (DMEM), производства компании HyClone (Солт-Лейк-Сити, США), а также натрий-фосфатный буферный раствор (PBS) производства компании Invitrogen Corporation (Пэйсли, Великобритания). Ализариновый красный С, тритон X-100, р-нитрофенилфосфат (р-NPP), хлорид магния и крезоловый фиолетовый приобрели у компании Sigma (Сент - Луис, США), а 3 - (4,5 - диметилтиазол - 2 - или) - 5 - (3 - карбоксиметоксифенил) - 2 - (4 - сульфофенил)-2Н-тетразолиум (MTS) - у компании Promega (Мэдисон, США). Для проведения каждого теста использовали по три титановых диска с поверхностью каждого типа (SA, CA и SOI).

#### • Измерение смачиваемости поверхности (скорости смачивания)

Блюдо диаметром 10 см и глубиной 2-3 см заполнили дефибринированной овечьей кровью (MB-S1876; MB Cell, Сеул, Южная Корея). Апекс имплантатов с поверхностью SA, CA и SOI (4,5 x 13 мм) погружали в кровь на глубину не более 2 мм (рис. 1b). В исследование включили по 9 имплантатов с каждым типом поверхности. Для оценки скорости смачивания поверхности подсчитывали число витков резьбы, смоченных кровью за 40 секунд.

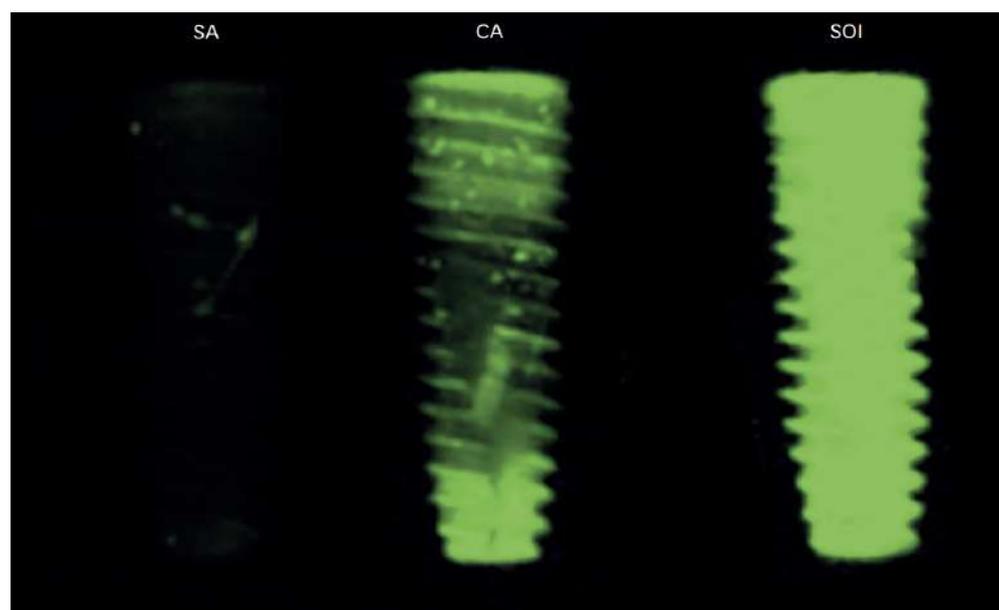
#### • Адсорбция сывороточного альбумина

##### *Тест для измерения бицинхониновой кислоты*

Очищенный бычий сывороточный альбумин (BCA, 1 мг/мл, 1 мл) наносили на поверхность титановых дисков. После инкубации при температуре 37°C в течение 1 часа неадсорбированную плазму смывали с поверхности дисков. Обработанные BCA диски элюировали в течение 30 минут с помощью лизисного буфера (0,2% тритон X-100 в PBS, pH 7,4) при температуре 37°C. Кондиционированную среду оценивали с помощью сравнительного теста на бицинхониновую кислоту (BCA) (BCA Protein Assay Kit № 23227) в соответствии с инструкциями производителя (Pierce, Рокфорд, США). Детекцию белков проводили при длине волны 560 нм с помощью ридера (DTX 880 Multimode Detector, Beckman Coulter GmbH, Крефельд, Германия). Для проведения исследования использовали по девять титановых дисков с поверхностью каждого типа.

##### *Бычий сывороточный альбумин (BCA), меченный изотиоцианатом флуоресцеина (ФИТЦ)*

Для оценки адсорбции белка использовали бычий сывороточный альбумин, меченный изотиоцианатом флуоресцеина (BCA-ФИТЦ; Sigma), в натрий-фосфатном буферном растворе (PBS). Адсорбцию оценивали по интенсивности флуоресценции. Для анализа адсорбции белка плазмы поверхностями SA, CA и SOI на имплантаты наносили сывороточный альбумин, конъюгированный с ФИТЦ. После инкубации избыток сывороточного альбумина смывали с поверхности имплантатов. В ходе исследования использовали по три имплантата с поверхностью каждого типа. Адсорбцию белка оценивали с помощью прибора Turbophoon FLA 7000 (GE Healthcare Life Sciences, Чикаго, США) и программного обеспечения Image J (Национальный институт здоровья, Бетесда, США) (рис. 2).



**Рис. 2.** BCA-ФИТЦ на трех типах поверхности имплантата. Поверхность SOI характеризовалась наибольшей, а поверхность SA- наименьшей интенсивностью флуоресценции.

ФИТЦ: флуоресцеина изотиоцианат; BCA: бычий сывороточный альбумин; SA: обычная поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой; CA: поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой, в водном растворе хлорида кальция; SOI: поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой и покрытая буферным агентом pH

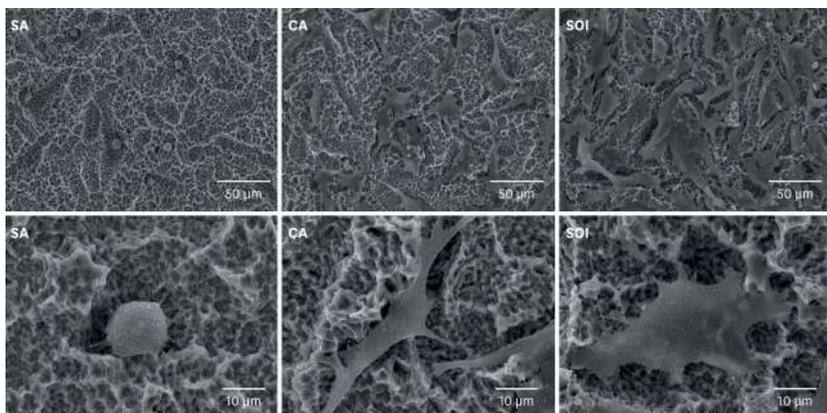
### • Анализ морфологии остеобластов

#### Клеточные культуры (культура остеобластов)

Клеточная линия остеосаркомы человека MG-63 (ATCC, Манассас, США) является нетрансформированной клеточной линией. Клеточную линию MG-63 культивировали в среде DMEM с добавлением 10% PBS и 0,1 мг/мл пенициллина и стрептомицина. Клетки субкультивировали в трипсине/ЭДТА дважды в неделю; среду культивирования меняли каждые 2 дня.

#### Растровая электронная микроскопия (РЭМ)

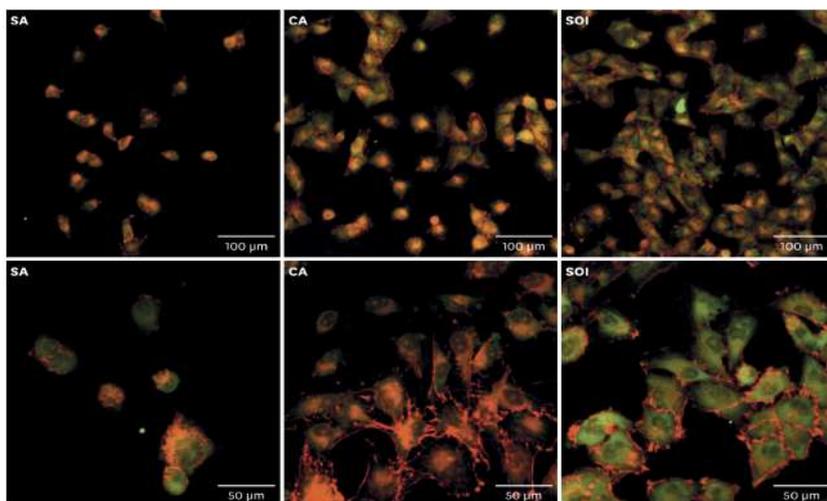
Для проведения РЭМ клетки MG-63 инкубировали на титановых дисках и фиксировали 2,5% раствором глутаральдегида. После обезвоживания на образцы напыляли Pt-Pd для морфологического исследования с помощью растрового электронного микроскопа (JSM-6480LV, Токио, Япония) (рис. 3).



**Рис. 3.** Изображения, полученные с помощью РЭМ через 30 минут после инкубирования клеток MG-63 на поверхности каждого типа. Поверхности CA и SOI характеризуются большей численностью остеобластов и более выраженной дифференцировкой клеток, чем поверхность SA.

SA: поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой; CA: поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой, в водном растворе хлорида кальция; SOI: поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой и покрытая буферным агентом pH

Морфологию клеток и расположение остеобластов исследовали с помощью CLSM. Клетки MG-63 высевали на титановые диски на 24 часа и анализировали с помощью CLSM. Клетки фиксировали в 4% формалине и пермеабилizировали в 0,1% тритон X-100. Затем клетки блокировали 7,5% BCA, содержащем PBS, в течение 1 часа. Для флуоресцентного окрашивания винкулина и фибриллярного актина использовали анти-винкулин Alexa Fluor 488 (Bioscience, Аллентаун, США) и флуоресцентный фаллоидин 555 (Cytoskeleton Inc., Денвер, США) соответственно. После инкубации в течение 12 часов при температуре 4°C образцы исследовали с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа (LSM 700, Carl Zeiss, Oberkochen, Германия) (рис. 4).



**Рис. 4.** Изображения, полученные с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа (иммунофлуоресцентное окрашивание клеток) через 30 минут после инкубирования клеток MG-63 на поверхности каждого типа. Красный: окрашивание фаллоидином; зеленый: окрашивание винкулином. На поверхностях CA и SOI выявили большую численность клеток кости по сравнению с поверхностью SA.

SA: поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой; CA: поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой, в водном растворе хлорида кальция; SOI: поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой и покрытая буферным агентом pH

#### Тест для измерения лактатдегидрогеназы

В раствор тромбоцитов (концентрацию  $1 \times 10^8$  тромбоцитов/мл в PBS) добавляли хлорид кальция до достижения его концентрации 2,5 мм и хлорид магния до его конечной концентрации 1 мм. Через 30 минут суспензию тромбоцитов наносили на титановые диски при температуре 37°C и оставляли на 1 час при температуре 37°C. Было протестировано девять титановых дисков с каждым типом поверхности. Суспензию тромбоцитов смывали, чтобы удалить не прикрепившиеся к поверхности тромбоциты. Для количественной оценки адгезии тромбоцитов выполняли анализ на лактатдегидрогеназу (ЛДГ). ЛДГ, высвобождающаяся при лизисе прилипших к поверхности тромбоцитов, измеряли с помощью буфера Triton-PBS и анализатора CytoTox 96® Non-Radioactive Cytotoxicity assay (Promega). Методы, описанные в предыдущих исследованиях использовали с изменениями.

- **Адгезия остеобластов**

Анализ адгезии клеток MG-63 проводили с помощью набора CellTiter 96® AQueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay Kit (Promega) в соответствии с инструкциями производителя.

Перед проведением теста клетки культивировали на титановых дисках или 24-луночных пластиковых культуральных планшетах (Becton-Dickinson Falcon) при плотности клеток  $1 \times 10^4$  в течение 1 часа. В исследование включили по три титановых диска с каждым типом поверхности. После удаления культуральной среды в каждую лунку добавляли по 500 мкл смеси MTS/1-метоксифеназинметосульфат (PMS)/культуральная среда на 2 часа. Колориметрический анализ формазанового красителя проводили с помощью анализатора DTX 880, а оптическую плотность (ОП) измеряли при длине волны 490 Нм.

- **Пролиферация остеобластов**

Анализ пролиферации клеток MG-63 проводили с помощью набора CellTiter 96® AQueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay Kit (Promega) в соответствии с инструкциями производителя. Клетки культивировали на титановых дисках или пластиковых планшетах. В исследование включили по три титановых диска с каждым типом поверхности. После удаления культуральной среды в каждую лунку добавляли по 500 мкл смеси MTS/PMS/культуральная среда на 2 часа. Колориметрический анализ формазанового красителя проводили с помощью анализатора DTX 880, а оптическую плотность (ОП) измеряли при длине волны 490 Нм.

- **Дифференцировка остеобластов (активность ЩФ)**

Для оценки активности ЩФ клетки MG-63 культивировали на титановых дисках или пластиковых планшетах в соответствии с описанным ранее протоколом. В исследование включили по три титановых диска с каждым типом поверхности. Остеогенную среду (содержащую 0,5 мкМ дексаметазона, 50 мкг/мл L-аскорбиновой кислоты и 10 мкМ  $\beta$ -глицерофосфата) меняли каждые 2 дня. Через некоторое время клетки промывали и собирали в буфере для лизиса. Растворенный белок экстрагировали, после чего 100 г белка инкубировали с p-нитрофенил фосфатом (p-NPP) с использованием буфера, чтобы измерить активность ЩФ в супернатантах изолированных клеток. Колориметрическую реакцию оценивали с помощью анализатора DTX 880; оптическую плотность измеряли при длине волны 405 Нм.

- **Минерализация остеобластов (окрашивание ализариновым красным С)**

Экспериментальные образцы окрашивали ализариновым красным С, в соответствии с описанным в литературе протоколом, с небольшими изменениями. Клетки MG-63 культивировали на титановых дисках или пластиковых планшетах. В исследование включили по три титановых диска с каждым типом поверхности. Остеогенную среду меняли каждые 2 дня. Через некоторое время клетки промывали, а затем фиксировали в 10% формальдегиде (Junsei, Токио, Япония). Клетки окрашивали 2% ализариновым красным С при pH 4,2 в течение 20 минут. Окрашенные клетки собирали по стандартной методике. Уровень абсорбции ализаринового красного С измеряли при длине волны 405 Нм.

- **Миграция остеобластов (анализ хемотаксиса: система Transwell®)**

Чтобы оценить миграцию клеток, клетки MG63 ( $1 \times 10^6$  клеток/мл) суспендировали в среде 0,1% BCA DMEM. 350 мкл клеточной суспензии помещали в верхние донорные ячейки системы Transwell® (размер пор 8 мкм, SPL Insert; SPL Life Sciences, Пхочхон, Южная Корея) и инкубировали. Нижние «акцепторные» ячейки заполняли 1 мл элюента. Через 2 часа верхние ячейки удаляли, а вставку-мембрану Transwell® протирали аппликатором с ватным кончиком. Вставки окрашивали 0,2% крезоловым фиолетовым; окрашенные клетки элюировали лимонной кислотой. Колориметрические измерения крезолового фиолетового выполняли с помощью анализатора DTX 880, оптическую плотность измеряли при длине волны 590 Нм. Было протестировано девять титановых дисков с каждым типом поверхности.

- **Адгезия тромбоцитов**

*Выделение тромбоцитов (богатая тромбоцитами плазма)*

Для забора крови новозеландским кроликам весом 2,5-3 кг проводили пункцию сердца, используя иглы 21G и пробирку с 4% цитратом натрия (Fisher Scientific, Питтсбург, США). Богатую тромбоцитами плазму (БотП) изготавливали по описанной в научной литературе методике. БотП инкубировали с хлоридом кальция (конечная концентрация, 5 мм) (Fisher Scientific) при температуре 37°C в течение 10 минут.

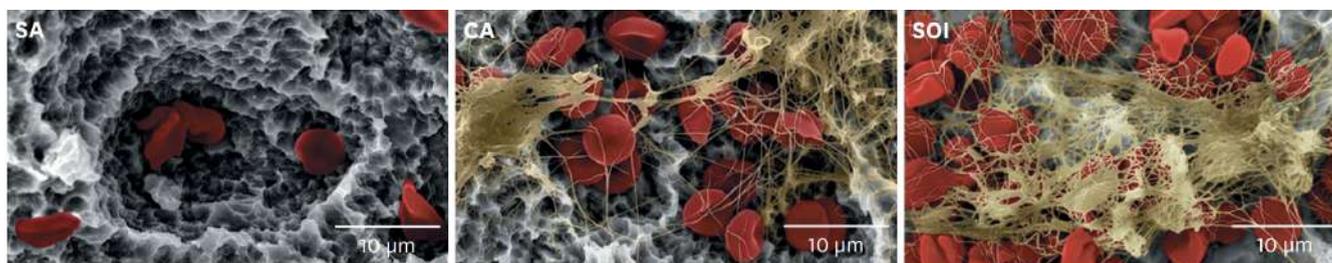
### • Исследование фибриновой сети с помощью РЭМ

#### Подготовка образцов крови для получения фибринового сгустка

Титановые диски вставляли в 24-луночные планшеты, чтобы они плотно соприкасались со стенками лунок, по методу, описанному Park и Davies. В каждую лунку добавляли по 1 мл БотП и осторожно перемешивали с белками крови, удерживаемыми фибриновой сетью, при температуре 37°C в течение 24 часов.

#### Подготовка фибринового сгустка к исследованию с помощью РЭМ

Для подготовки к растровой электронной микроскопии образцы фибриновых сгустков слегка промывали PBS, после чего фиксировали в течение 1 часа при комнатной температуре с помощью специального буфера (2,5% глутаральдегида, растворенного в фосфатно-солевом буфере Дульбекко при pH 7,0). После обезвоживания спиртовой смесью этанола и воды образцы обрабатывали гексаметилдисилазаном (Sigma) и высушивали в критической точке. Фибриновую сетку исследовали с помощью РЭМ (рис. 5).



**Рис. 5.** Изображения фибриновых сетей, полученные с помощью РЭМ через 1 час после фиксации фибринового сгустка на поверхности каждого типа. На поверхности SOI выявили многочисленные эритроциты, окруженные плотной фибриновой сеткой. SA: обычная поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой; CA: поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой, в водном растворе хлорида кальция; SOI: поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой и покрытая буферным агентом pH

### • Активация тромбоцитов

#### Подготовка образцов человеческих тромбоцитов и их инкубация на титановых дисках

БотП изготавливали по описанному ранее протоколу из крови, полученной от трех здоровых добровольцев. Титановые диски вставляли в 24-луночные планшеты, чтобы они плотно соприкасались со стенками лунок, по методике Park и Davies. Было протестировано по девять титановых дисков с каждым типом поверхности. В каждую лунку добавляли по одному миллилитру БотП. Для стимулирования взаимодействия между поверхностями и тромбоцитами, планшеты осторожно переворачивали при температуре 37°C. Супернатант забирали пипеткой через 1 час для проведения анализа.

Слегка промывали PBS, после чего фиксировали в течение 1 часа при комнатной температуре с помощью специального буфера (2,5% глутаральдегида, растворенного в фосфатно-солевом буфере Дульбекко при pH 7,0). После обезвоживания спиртовой смесью этанола и воды образцы обрабатывали гексаметилдисилазаном (Sigma) и высушивали в критической точке. Фибриновую сетку исследовали с помощью РЭМ (рис. 5).

### • Иммуноферментный анализ (ELISA) для измерения P-селектина

В качестве критерия активации тромбоцитов измеряли P-селектин, гликопротеин мембраны тромбоцитов, экспрессируемый при их активации. Проводили иммуноферментный анализ заранее приготовленных супернатантов для измерения концентрации растворимого P-селектина. Все тесты выполняли в соответствии с инструкциями производителя.

### • Статистический анализ

Для проведения статистического анализа использовали программное обеспечение SPSS (версия 23.0; IBM, Армонк, США). Среднее значение скорости смачивания и оптической плотности и стандартное отклонение рассчитывали на основе результатов каждого эксперимента для трех типов поверхностей имплантатов (SA, CA и SOI). Для оценки различий между тремя поверхностями имплантатов использовали критерий Краскела-Уоллиса и Манна-Уитни (непараметрический дисперсионный анализ). P-значение < 0,05 считали статистически значимым. В случае тестов с  $p < 4$ , где проведение статистического анализа было невозможно, приводятся только средние значения показателей и стандартное отклонение.

## Результаты

### • Смачиваемость поверхности (измерение скорости смачивания)

Имплантаты с поверхностью SA, CA и SOI погружали в кровь для измерения скорости смачивания (рис. 1B). Средняя скорость смачивания поверхностей SA, CA и SOI составляла 0,000 витков резьбы/сек., 0,069 витков резьбы/сек., и 0,124 витков резьбы/сек., соответственно (табл. 1). Разница между скоростью смачивания поверхностей SA и CA была статистически значимой ( $p = 0,000$ ). Между группами SA и SOI, CA и SOI также выявили статистически значимую разницу ( $p = 0,000$ ).

### • Адсорбция сывороточного альбумина

Тест для измерения бицинониновой кислоты

Сывороточный альбумин наносили на титановые диски с поверхностью SA, CA и SOI. Средняя показатель адсорбции сывороточного альбумина поверхностями SA, CA и SOI составлял 0,281, 1,120 и 1,287 ОП соответственно (табл. 2). Разница между адсорбцией сывороточного альбумина поверхностями SA и CA, SA и SOI, CA и SOI была статистически значимой ( $p = 0,000$ ).

*BCA, меченный ФИТЦ*

Адсорбцию белка оценивали по интенсивности флуоресценции. Интенсивность флуоресценции составляла в среднем 3972, 1599268 и 3102829 пикселей для поверхностей SA, CA и SOI соответственно. Данные представлены в табл. 2. Статистический анализ различий между группами не проводили из-за малого размера выборки. Тем не менее, между группами наблюдалась существенная разница в интенсивности флуоресценции: поверхность SA характеризовалась самыми низкими, а поверхность SOI – наиболее высокими показателями.

### • Морфология остеобластов

*Растровая электронная микроскопия*

Клетки MG-63 инкубировали на поверхностях SA, CA и SOI. Количество остеобластов на поверхностях CA и SOI было выше, чем на поверхности SA. Поверхности CA и SOI ассоциировались с более выраженной дифференциацией клеток. Число остеобластов на поверхности SOI было чуть выше, чем на поверхности CA, однако статистически значимая разница между группами отсутствовала (рис. 3).

*CLSM*

Клетки MG-63 инкубировали на поверхностях SA, CA и SOI. Выполняли иммунофлуоресцентное окрашивание винкулина и F-актина, образующих цитоскелет клетки. На поверхностях CA и SOI наблюдалось больше костных клеток, чем на поверхности SA (рис. 4), что соответствует результатам РЭМ.

### • Морфология остеобластов

*Растровая электронная микроскопия*

Клетки MG-63 инкубировали на поверхностях SA, CA и SOI. Количество остеобластов на поверхностях CA и SOI было выше, чем на поверхности SA. Поверхности CA и SOI ассоциировались с более выраженной дифференцировкой клеток. Число остеобластов на поверхности SOI было чуть выше, чем на поверхности CA, однако статистически значимая разница между группами отсутствовала (рис. 3).

Таблица 1. Скорость смачивания

Тип поверхности (n=9)	SA	CA	SOI
Скорость (витков резьбы/секунду)	0	0,069 ± 0,005 <sup>a</sup>	0,124 ± 0,012 <sup>a</sup>

Значения приводятся в виде среднего значения ± стандартное отклонение

SA: обычная поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой; CA: поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой, в водном растворе хлорида кальция; SOI: поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой и покрытая буферным агентом pH

<sup>a</sup>При сравнении с группой SA разница в показателях была статистически значимой.

Таблица 2. Адсорбция сывороточного альбумина

Тип поверхности (n=9)	SA	CA	SOI
BCA (ОП) (n=9)	0,281 ± 0,006	1,12 ± 0,024 <sup>a</sup>	1,287 ± 0,04 <sup>a</sup>
BCA, меченный ФИТЦ (пиксели; n=3)	3 972 ± 607	15 99 268 ± 119 340	13 102 829 ± 72 992

Значения приводятся в виде среднего значения + стандартное отклонение

SA: обычная поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой; CA: поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой, в водном растворе хлорида кальция; SOI: поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой и покрытая буферным агентом pH; ОП: оптическая плотность; ФИТЦ: флуоресцеина изотиоцианат; BCA: бычье-сывороточный альбумин

<sup>a</sup> При сравнении с группой SA разница в показателях была статистически значимой.

### CLSM

Клетки MG-63 инкубировали на поверхностях SA, CA и SOI. Выполняли иммунофлуоресцентное окрашивание винкулина и F-актина, образующих цитоскелет клетки. На поверхностях CA и SOI наблюдалось больше костных клеток, чем на поверхности SA (рис. 4), что соответствует результатам РЭМ.

#### • Адгезия остеобластов

Средняя ОП в тесте на адгезию клеток составляла 0,438, 0,842 и 0,949 для поверхностей SA, CA и SOI соответственно. Данные представлены в табл. 3. Статистический анализ различий между группами не проводили из-за малого размера выборки, однако поверхность SA характеризовалась наименее выраженной адгезией клеток.

#### • Пролиферация остеобластов

Средняя ОП в тесте на пролиферацию остеобластов составляла 0,701, 0,837 и 0,912 для поверхностей SA, CA и SOI соответственно. Данные представлены в табл. 3. Статистический анализ различий между группами не проводили из-за малого размера выборки, однако поверхность SA характеризовалась наименьшими, а поверхность SOI – наибольшими показателями. В то же время разница между группами не была существенной.

#### • Дифференцировка остеобластов

Средняя ОП в тесте на дифференцировку остеобластов составляла 0,350, 0,379 и 0,385 для поверхностей SA, CA и SOI соответственно. Данные представлены в таблице 3. Статистический анализ различий между группами не проводили из-за малого размера выборки, однако поверхность SA характеризовалась наименьшими, а поверхность SOI – наибольшими показателями. В то же время разница между группами не была существенной.

#### • Минерализация остеобластов

Средние показатели минерализации остеобластов составляли 320,4, 382,6 и 452,1 нМ для поверхностей SA, CA и SOI соответственно. Данные представлены в таблице 3. Статистический анализ различий между группами не проводили из-за малого размера выборки, однако поверхность SA характеризовалась наименьшими значениями.

Таблица 3. Адгезия, пролиферация, дифференцировка, минерализация и миграция остеобластов

Тип поверхности (n = 9)	SA	CA	SOI
Адгезия (ОП) (n = 3)	0438 ± 0,015	0,824 ± 0,028	0,949 ± 0,038
Пролиферация (ОП) (n = 3)	0,701 ± 0,016	0,823 ± 0,027	0,912 ± 0,023
Дифференцировка (ОП) (n = 3)	0,350 ± 0,01	0,379 ± 0,005	0,385 ± 0,005
Минерализация (ОП) (n = 3)	320,4 ± 23	382,6 ± 20,1	452,1 ± 28,9
Миграция (ОП) (n = 3)	0,195 ± 0,013	0,195 ± 0,012	0,215 ± 0,018 <sup>a</sup>

Значения приводятся в виде среднего значения ± стандартное отклонение

SA: обычная поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой; CA: поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой, в водном растворе хлорида кальция; SOI: поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой и покрытая буферным агентом pH; ОП: оптическая плотность.

<sup>a</sup> При сравнении с группой SA разница в показателях была статистически значимой.

Таблица 4. Адгезия и активация тромбоцитов

Тип поверхности	SA	CA	SOI
Адгезия (ОП) (n = 3)	0,185 ± 0,016	0,225 ± 0,031a	1,298 ± 0,042a,b
Активация (ОП) (n = 3)	0,112 ± 0,014	0,251 ± 0,024a	0,414 ± 0,046 <sup>a,b</sup>

Значения приводятся в виде среднего значения ± стандартное отклонение

SA: обычная поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой; CA: поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой, в водном растворе хлорида кальция; SOI: поверхность, прошедшая грубозернистую пескоструйную обработку и травление кислотой и покрытая буферным агентом pH; ОП: оптическая плотность.

<sup>a</sup> При сравнении с группой SA разница в показателях была статистически значимой.

<sup>b</sup> При сравнении с группой CA разница в показателях была статистически значимой.

#### • Миграция остеобластов

Согласно результатам иммуноферментного анализа (ELISA) средние значения оптической плотности содержания растворимого Р-селектина на поверхностях SA, CA и SOI составили 0,195, 0,195 и 0,215 соответственно (табл. 3). Статистически значимая разница между группами SA и CA отсутствовала ( $p = 0,931$ ). В то же время поверхность SOI характеризовалась значительно более выраженной миграцией остеобластов: разница между группой SOI и группами SA и CA была статистически значимой ( $p = 0,040$  и  $p = 0,031$  соответственно).

#### • Адгезия тромбоцитов

Средние значения оптической плотности содержания лактатдегидрогеназы, являющейся маркером адгезии тромбоцитов, составляли 0,185, 0,255 и 0,298 для поверхностей SA, CA и SOI соответственно (табл. 4). Разница между группами SA и CA была статистически значимой ( $p = 0,000$ ). Поверхность SOI характеризовалась наиболее выраженной адгезией тромбоцитов: разница между группой SOI и группами SA и CA была статистически значимой ( $p = 0,000$  и  $p = 0,040$  соответственно).

#### • Исследование фибриновой сетки с помощью РЭС

Морфологию фибриновой сетки на каждой поверхности исследовали с помощью РЭС. На поверхности SA наблюдалось наименьшее количество эритроцитов; фибриновая сетка практически отсутствовала. Поверхности CA и SOI характеризовались высокой численностью эритроцитов, окруженных плотной фибриновой сеткой. Численность эритроцитов была максимальной на поверхности SOI (рис. 5).

#### • Активация тромбоцитов

Согласно результатам иммуноферментного анализа (ELISA) средние значения оптической плотности содержания растворимого Р-селектина на поверхностях SA, CA и SOI составили 0,112, 0,251 и 0,414 соответственно (табл. 4). Разница между группами SA и CA, SA и SOI, а также CA и SOI была статистически значимой ( $p = 0,000$ ).

## Обсуждение

В ранее проведенных исследованиях, сравнивали обычную поверхность SLA и поверхность SLA, покрытую буферным агентом pH (SOI), с точки зрения их гидрофильности и аффинности к белкам, клеткам и тромбоцитам. Результаты исследований in vitro свидетельствуют о превосходстве поверхности SOI.

Смачиваемость поверхности определяется краевым углом смачивания, образующимся между каплей жидкости и поверхностью плоского диска. Углы краевого смачивания поверхностей CA и SOI стремились к нулю, что затрудняло сравнение поверхностей, поэтому для оценки скорости смачивания считали число витков резьбы, смоченных кровью. Скорость смачивания не позволяет точно оценить гидрофильность или смачиваемость поверхности. Тем не менее, авторы исследования решили измерить именно этот параметр, поскольку способность имплантата “привлекать” кровь имеет важное клиническое значение. Обе поверхности обладают ярко выраженной гидрофильностью, что является методологическим ограничением данного эксперимента. Скорость смачивания поверхностей CA и SOI была существенно выше по сравнению с поверхностью SA.

Скорость смачивания поверхности SA была близка к нулю. В отличие от двух других поверхностей, поверхность SA была изначально сухой, что частично объясняет ее гидрофобность. Таким образом, результат, зарегистрированный в группе SOI, может быть обусловлен не только действием буферного агента. Для имитации реальной клинической ситуации, целесообразно использовать сухую поверхность SLA, а не погружать ее в неизотонический соляной раствор. В ранее проведенном исследовании, направленном на сравнение поверхностей SLActive и SLA, поверхность SLActive была изначально погружена в изотонический раствор NaCl, а поверхность SLA была сухой (контрольная группа).

Оптимальная степень гидрофильности поверхности имплантата остается неясной. На сегодняшний день отсутствуют доказательства биологического и клинического превосходства супергидрофильной поверхности имплантата. В то же время, согласно результатам экспериментов на животных и клинических исследований, поверхность с выраженными гидрофильными свойствами улучшает остеоинтеграцию за счет более высокого контакта имплантата с костью. Было установлено, что смачиваемость поверхности влияет на клеточные взаимодействия, адгезию белков и других молекул к поверхности имплантата. Это коррелируется с данными настоящего исследования, где поверхность SOI с наиболее высокой скоростью смачивания характеризовалась ярко выраженной аффиностью к белкам и остеобластам.

В ряде исследований in vitro оценивали биохимические свойства поверхности имплантатов, включая жизнеспособность клеток, их пролиферацию, адгезию и дифференцировку. Soares и соавт. сравнили биологическую эффективность поверхностей имплантатов, прошедших различную обработку. В ходе исследования учитывался целый ряд параметров: жизнеспособность клеток (митохондриальную активность), прикрепление клеток к поверхности, общий белок в сыворотке крови и ЩФ. Было установлено, что характеристики поверхности имплантата влияют на клеточный ответ в прилегающих к имплантату тканях, а также степень адсорбции белков.

Martin и соавт. исследовали пролиферацию клеток, синтез ДНК, активность ЩФ, синтез РНК, белков и протеогликанов при культивировании остеобластоподобных клеток MG63 на 5 типах поверхности имплантатов. Они также оценивали морфологию и распределение клеток, культивированных на поверхности каждого типа. Martin и соавт. пришли к выводу, что шероховатость поверхности влияет на пролиферацию и дифференцировку остеобластов и выработку ими костного матрикса.

Eriksson и соавт. проанализировали влияние поверхностной энергии имплантата на жизнеспособность клеток, активность ЩФ, продуцирование фактора роста эндотелия сосудов, наличие остеокальцина и клеток, чувствительных к костному морфогенетическому белку-2. Поверхностная энергия играла ключевую роль на ранних этапах заживления. Eriksson и соавт. продемонстрировали, что высокая поверхностная энергия способствует дифференциации и активации клеток.

Авторы настоящего исследования оценивали адгезию и пролиферацию клеток MG-63 в ходе колориметрического теста с использованием красителя формазана. Изображения, полученные с помощью растрового электронного микроскопа, подтверждают более активную пролиферацию и дифференцировку клеток на поверхности SOI по сравнению с другими поверхностями.

ЩФ активно экспрессируется во время пролиферации остеобластов, поэтому ее концентрация позволяет оценить дифференцировку остеобластов. Отложения кальция в клеточных культурах окрашивали ализариновым красным для оценки уровня минерализации внеклеточного матрикса.

Для анализа миграции остеобластов использовали систему Transwell®, измеряющую движение клеток по градиенту концентрации хемоаттрактанта. Число тестов на адгезию, пролиферацию, дифференциацию клеток и минерализацию остеобластов было недостаточным для выявления статистически значимой разницы между группами, тем не менее, согласно полученным данным, поверхность SA была наименее, а поверхность SOI - наиболее благоприятной для прикрепления остеобластов.

Di Iorio и соавт. исследовали фибриновые сгустки на поверхности имплантатов. Черные точки на изображениях, полученных с помощью растрового электронного микроскопа, принимали за индикатор наличия фибринового сгустка. Число точек автоматически подсчитывали с помощью специального программного обеспечения. В ходе настоящего исследования уровень адгезии тромбоцитов оценивали с помощью измерения лактатдегидрогеназы, которая высвобождается при лизисе прикрепленных к поверхности тромбоцитов. Для определения степени активации тромбоцитов измеряли P-селектин, гликопротеин мембраны тромбоцитов, который экспрессируется при активации тромбоцитов. В тесте на адгезию тромбоцитов поверхность SOI характеризовалась наиболее высокими средними показателями, однако статистически достоверная разница между группами SOI и CA отсутствовала. В тесте на активацию тромбоцитов поверхность SOI ассоциировалась с наиболее выраженной активацией тромбоцитов: разница между группами была статистически значимой. РЭМ подтвердила формирование сети эритроцитов и фибрина на поверхности SOI.

Активность остеобластов достигает максимума при pH 7,4, соответствующем слабому основанию, и практически исчезает при pH ниже 6,9. Авторы данного исследования использовали для культивирования клеток MG-63 слабо щелочную среду с уровнем pH, соответствующем крови. Несмотря на регулярную замену раствора для культивирования клеток, невозможно было поддерживать его постоянный pH, так как на него влияли метаболиты клеток. Кроме того, pH среды мог измениться из-за ошибок лаборантов. Если дизайн исследования исключает травму кости, приводящую к снижению уровня pH, буферный агент pH способствует поддержанию постоянного pH даже в условиях *in vitro*. Можно предположить, что буферный агент pH создает благоприятные условия для активности остеобластов за счет поддержания постоянного pH и предотвращения его заметных колебаний. Результаты настоящего исследования свидетельствуют о повышенной активности остеобластов в группе SOI. Ионы кальция связываются с различными белками в растворе и выступают в роли буфера, поддерживая слабощелочной уровень pH. Следует учитывать, что ионы кальция участвуют в остеогенных процессах. Важно отметить, что поверхность CA обладает буферным эффектом, хотя и менее выраженным чем поверхность SOI. Поверхности CA и SOI характеризовались значительно более высокими показателями адгезии и активации тромбоцитов, чем поверхность SA. Активность тромбоцитов ингибируется внеклеточным ацидозом и стимулируется внеклеточным алкалозом. Поскольку на активность тромбоцитов влияет внеклеточный pH, можно предположить, что их активация на поверхностях CA и SOI была обусловлена буферными свойствами поверхностей.

Данные научной литературы противоречивы: в ряде экспериментов удалось выявить значительные различия между поверхностями CA и SOI, в других исследованиях разница между ними отсутствовала. Поскольку поверхности CA и SOI обладают буферным эффектом в изотоническом растворе, результаты экспериментов не отличались друг от друга, если поверхность не оказывала существенного влияния на клеточную активность. Поверхность SA не была погружена в раствор и не имела буферных свойств, что объясняет более низкие показатели в большинстве экспериментов.

Поверхность SLA, покрытая буферным агентом pH, характеризуется более выраженной гидрофильностью и аффинностью к протеинам, клеткам и тромбоцитам, чем обычная поверхность SLA.

Полученные данные следует интерпретировать с осторожностью, поскольку число проведенных тестов не было стандартизировано и в некоторых случаях их было недостаточно для выявления статистически значимой разницы между группами. Буферный эффект поверхности способствует повышению уровня ЩФ, способствуя тромбогенезу и стимулируя активность остеобластов после препарирования ложа имплантата, спровоцировавшего уменьшение уровня pH. Учитывая ограничения настоящего исследования, его результаты позволяют сделать вывод, что новая поверхность SOI более эффективно стимулирует прикрепление к ней тромбоцитов, костеобразующих белков и клеток по сравнению с обычной поверхностью SLA, что в свою очередь ускоряет остеоинтеграцию имплантата. Для оценки эффективности и безопасности поверхности SLA, покрытой буферным агентом pH, в сравнении с другими распространенными типами поверхности требуется проведение клинических исследований.

## Благодарность

Авторы выражают благодарность компании Osstem Implant за техническую поддержку, оказанную при проведении данного исследования.

## Может ли новая поверхность, покрытая буферным агентом pH, ускорить остеоинтеграцию имплантата?

Лукаш Задрожны (Łukasz Zadrozny), DDS, PhD<sup>1</sup>

### Резюме

Сокращение периода заживления является одним из приоритетных направлений исследования в дентальной имплантологии. Разнообразные попытки ускорить остеоинтеграцию имплантата включают разработку новых материалов и поверхностей. Согласно данным Buser и соавт., титановые имплантаты с модифицированной поверхностью можно нагружать функциональным протезом уже через 21 день после их установки. Результаты доклинических исследований свидетельствуют о том, что нанесение буферного агента pH на поверхность имплантатов ускоряет их остеоинтеграцию.

В представленном клиническом случае имплант с новой поверхностью установили по немедленному протоколу в сочетании с закрытым синус-лифтингом без сопутствующего использования биоматериалов. Целью настоящего исследования является оценка влияния новой поверхности на сроки остеоинтеграции имплантата и общую продолжительность лечения.

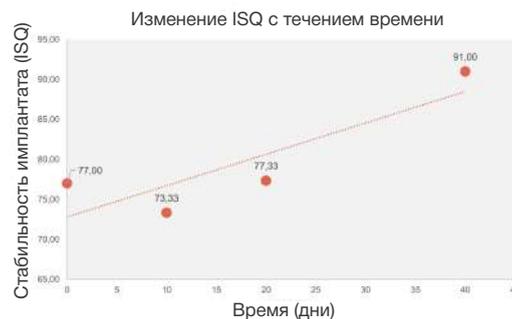
Пациента (39 лет, анамнез без особенностей) направили в клинику для удаления корня зуба 25 и последующего протезирования с опорой на имплантат. На основе данных КЛКТ-исследования, планировали установить имплантат (4,5 x 8,5 мм) на 2 мм апикальнее края вестибулярной костной стенки по немедленному протоколу. Установка имплантата в таком положении требовала проведения закрытого синус-лифтинга. В условиях местной анестезии сформировали остеоотомическое отверстие через корень зуба глубиной 10 мм. Для поднятия дна синуса без перфорации Шнейдеровой мембраны использовали сверло 2,8 мм с неагрессивным кончиком (CAS Kit, Osstem Implant). Корень разделили на фрагменты и удалили. Чтобы поднять мембрану, в ложе имплантата нагнетали стерильный физиологический раствор с помощью специальной силиконовой насадки, соединенной трубочкой со шприцем. Имплантат TSIII SOI (Osstem Implant, Южная Корея) установили без введения в ложе костного материала. Коэффициент стабильности имплантата ISQ составлял 77/77/77. На имплантате зафиксировали формирователь десны.

Коэффициент стабильности имплантата измеряли 4 раза в период наблюдения с помощью штифта Multipeg 29 и прибора IS3 monitor (Osstem Implants, Южная Корея). Измерения проводили в день имплантации перед установкой формирователя десны (день 0), далее, во время контрольных осмотров после удаления формирователя десны (через 10, 20 и 40 дней после операции).

Значения ISQ в день операции, через 10, 20 и 40 дней после хирургического вмешательства были равны 77/77/77, 72/76/72, 76/80/76 и 91/91/91, соответственно. Через 20 дней после операции отмечалось увеличение среднего значения ISQ по сравнению с исходным: это позволило получить оттиск для изготовления окончательной цельнокерамической коронки. Зуботехнической лаборатории потребовалось несколько недель для изготовления реставрации, поэтому коронка была установлена на 40-й день после операции, когда имплантат характеризовался высокой стабильностью. Реставрация имела винтовую фиксацию. Контрольные рентгенограммы, выполненные в день операции, через 20 и 40 дней после хирургического вмешательства, свидетельствуют об успешном ремоделировании кости.

Несмотря на то, что это отчет о единичном клиническом случае, его результаты, как и данные исследований на животных, подтверждают, что новая поверхность SOI, покрытая буферным агентом pH, может ускорять остеоинтеграцию имплантата на ранних этапах заживления. Тем не менее, данный отчет не следует рассматривать в качестве практического руководства, поскольку для оценки эффективности новых методов обработки поверхности имплантата требуются дальнейшие исследования.

<sup>1</sup> Кафедра профилактики и профилактики стоматологических заболеваний Варшавского медицинского университета



## Цели



## Материалы и методы

Конический имплантат TSIII SOI (Osstem Implant, Южная Корея) установили по немедленному протоколу в соответствии с закрытым синус-лифтингом без сопутствующего применения костного материала в позиции зуба 25. Синус-лифтинг проводили с помощью набора CAS Kit (Osstem Implant, Южная Корея). Шнейдерову мембрану поднимали за счет создания гидравлического давления при введении в ложе имплантата стерильного физиологического раствора. Коэффициент стабильности имплантата измеряли с помощью штифта Multipeg 29 и прибора IS3 (Osstem Implant, Южная Корея) в день операции, через 10, 20 и 40 дней после хирургического вмешательства.



## Выводы

Согласно полученным данным, новая поверхность SOI, покрытая буферным агентом pH, ускоряет остеоинтеграцию имплантата на ранних этапах заживления.

Тем не менее, настоящий отчет не может быть принят как руководство к действию, поскольку необходимы дальнейшие исследования для изучения эффективности данного метода обработки поверхности, с точки зрения остеоинтеграции имплантата.

## Благодарность

Имплантаты для проведения настоящего исследования были предоставлены компанией Osstem Implant в рамках многоцентрового рандомизированного контролируемого исследования «Сравнение клинической эффективности и первичной стабильности имплантатов с поверхностью, прошедшей пескоструйную обработку и травление кислотой (SA), и имплантатов с поверхностью SA, покрытой буферным агентом pH (SOI), при использовании раннего протокола нагрузки для устранения одиночных дефектов зубного ряда».

# Нанесение буферного агента pH на поверхность, прошедшую пескоструйную обработку и травление кислотой, после ее облучения вакуумным ультрафиолетовым излучением (фотофункционализации) дентальных имплантатов

Чанджу Пак (Chang-Joo Park)<sup>1</sup>, Чжэхён Лим (Jae Hyung Lim)<sup>2</sup>, Марко Талларико (Marco Tallarico)<sup>3</sup>, Кёнгён Хван (Kyung-Gyun Hwang), Хёк Чхве (Hyook Choi)<sup>1</sup>, Гюджан Чо (Gyu-Jang Cho)<sup>1</sup>, Чан Ким (Chang Kim)<sup>1</sup>, Ильсок Чан (Il-Seok Jang)<sup>4</sup>, Чудон Сон (Ju-Dong Song)<sup>4</sup>, Эми Квон (Amy M. Kwon)<sup>5</sup>, Санхо Чон (Sang Ho Jeon)<sup>6</sup>, Хёнкён Пак (Hyun-Kyung Park)<sup>7</sup>

## Резюме

Фотофункционализация ультрафиолетовым излучением (УФ) останавливает биологическое старение титана за счет трансформации гидрофобной поверхности титановых имплантатов в супергидрофильную. Формирование кровяного сгустка в области имплантата запускает процесс заживления тканей на границе имплантата с костью. Целью настоящего исследования является сравнение смачиваемости трех типов поверхности имплантата и оценка влияния их характеристик на образование кровяного сгустка. В ходе исследования анализировали три метода обработки поверхности: пескоструйную обработку и травление кислотой (SA); пескоструйную обработку, травление кислотой и облучение вакуумным ультрафиолетовым излучением (SA + VUV); пескоструйную обработку, травление кислотой и нанесение буферного агента pH после облучения вакуумным ультрафиолетовым излучением (SA + VUV + BS). Смачиваемость поверхностей SA + VUV и SA + VUV + BS (n = 5) и образование кровяного сгустка в области имплантатов анализировали с помощью статических и динамических тестов *in vitro*. Гемостаз оценивали *in vivo*, сопоставляя процесс свертывания крови в области поверхностей SA, SA + VUV и SA + VUV + BS (n = 4). Анализ с использованием критерия Краскела-Уоллиса выявил статистически значимую разницу между группами (p < 0,05) во всех тестах, за исключением теста на статическое свертывания крови *in vitro*. Полученные данные свидетельствуют о том, что облучение поверхности SA вакуумным ультрафиолетовым излучением придает ей выраженные гидрофильные свойства и является эффективной альтернативой традиционному облучению коротковолновым ультрафиолетовым излучением (УФ-С). Нанесение буферного агента pH на поверхность SA после ее облучения вакуумным УФ увеличивало смачиваемость поверхности и способствовало формированию кровяного сгустка, обеспечивая успешную остеоинтеграцию имплантата.

## Цель

Благодаря своим механическим свойствам, биосовместимости и высокой устойчивости к коррозии титан широко используется в стоматологии и ортопедической хирургии. При окислении титана на его поверхности быстро образуется тонкий (1-5 нм) стабильный пассивный слой, защищающий поверхность металла от дальнейшего окисления. По данным исследований, ионы кальция и фосфора из костного матрикса перемещаются внутрь слоя TiO<sub>2</sub>; этот процесс лежит в основе биологической эффективности титановых имплантатов. Однако с течением времени биологическая эффективность титана снижается из-за неизбежного осаждения углерода из атмосферного воздуха на слое TiO<sub>2</sub> в форме углеводов. Это явление называют биологическим старением титана, поскольку способность титановых поверхностей притягивать белки и остеогенные клетки уменьшается с течением времени. Другим значимым изменением характеристик титановых поверхностей является утрата ими гидрофильных свойств. Непосредственно после обработки угол краевого смачивания титановой поверхности при контакте с водой составляет 0° или менее 5° - такие поверхности называются супергидрофильными. Через 2 и 4 недели угол краевого смачивания увеличивается до 40° и 60° соответственно, что говорит о превращении гидрофильной поверхности в гидрофобную.

<sup>1</sup> Кафедра хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, стоматологический факультет университета Ханяннг (Сеул, Южная Корея)

<sup>2</sup> Кафедра хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, стоматологическое отделение клиники Ансан при Корейском университете (Ансан, Южная Корея)

<sup>3</sup> Кафедра пародонтологии и имплантологии, университет Сассари (Сассари, Италия)

<sup>4</sup> Научно-исследовательский центр Osstem (Сеул, Южная Корея)

<sup>5</sup> Глобальный научно-исследовательский центр МЕВ при университете Ханяннг (Сеул, Южная Корея)

<sup>6</sup> Отделение хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии больницы Анам при Корейском университете (Ансан, Южная Корея)

<sup>7</sup> Кафедра неонатологии, медицинский факультет университета Ханяннг (Сеул, Южная Корея)

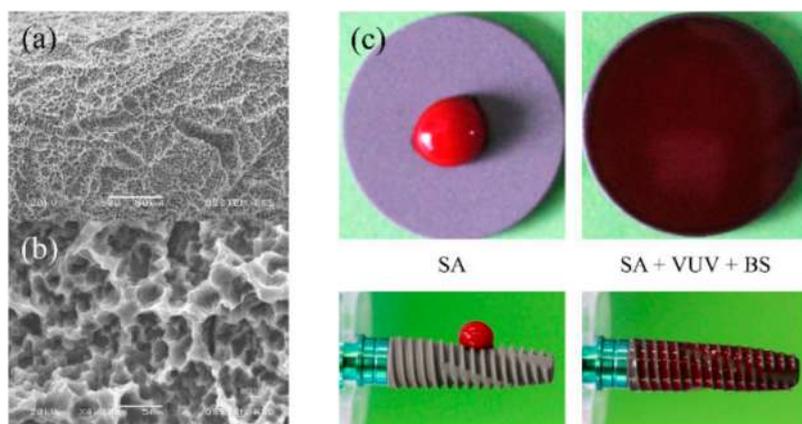
Обработка поверхности имплантата для изменения ее топографии и энергии позволяет увеличить смачиваемость поверхности, усилить пролиферацию и рост клеток, и ускорить остеоинтеграцию имплантата. Существуют аддитивные и субтрактивные методы обработки поверхности. Субтрактивная методика предусматривает удаление слоя материала или придание поверхности большей шероховатости. Примером субтрактивного метода может служить поверхность SA, прошедшая пескоструйную обработку и травление кислотой. Аддитивная методика заключается в нанесении на поверхность других материалов или химических агентов. В качестве примера можно упомянуть плазменное напыление титана, нанесение на поверхность слоя гидроксиапатита, фосфата кальция и других биомиметических покрытий. Формирование остеоотомического отверстия для установки имплантата приводит к травме костной ткани, схожей с переломом. В области имплантации развивается гипоксия, внеклеточный pH снижается. В подобных условиях стромальные клетки костного мозга характеризуются пониженной активностью щелочной фосфатазы (ЩФ) и уменьшением синтеза коллагена, играющих важную роль в формировании костной ткани и остеоинтеграции имплантата. По данным исследований, уровень кислотности влияет на гликолиз и синтез ДНК остеобластов. Внеклеточный ацидоз опосредованно замедляет тромбогенез и агрегацию тромбоцитов (один из ключевых этапов формирования кровяного сгустка), воздействуя на транспорт ионов кальция. Формирование стабильного кровяного сгустка обеспечивает непосредственный контакт между костью и имплантатом и играет важную роль в тромбогенном ответе и остеоинтеграции имплантата. Результаты исследований указывают на наличие взаимосвязи между характеристиками поверхности имплантата и размером фибринового сгустка.

Автора настоящей статьи оценивали характеристики новой поверхности SA, на которую наносили буферный агент pH после облучения вакуумным ультрафиолетом, в ходе предыдущих исследований. Согласно полученным данным, поверхность этого типа характеризовалась более выраженной аффинностью к белкам, клеткам и тромбоцитам, способствуя быстрому и стабильному свертыванию крови, тромбогенезу и остеоинтеграции имплантата. Настоящее исследование направлено на сравнение смачиваемости трех типов поверхности имплантатов и оценку влияния их характеристик на образование кровяного сгустка. В ходе исследования в условиях *in vivo* и *in vitro* анализировали три метода обработки поверхности: пескоструйную обработку и травление кислотой (SA); пескоструйную обработку, травление кислотой и облучение вакуумным ультрафиолетовым излучением (SA + VUV); пескоструйную обработку, травление кислотой и нанесение буферного агента pH после облучения вакуумным ультрафиолетовым излучением (SA + VUV + BS).

## Материалы и методы

### • Подготовка имплантатов

В рамках настоящего исследования использовали имплантаты из коммерчески чистого титана (класс IV) с тремя типами поверхности: SA, SA + VUV (TS III SA, Osstem, Сеул, Корея) и SA + VUV + BS (TS III SOI, Osstem). Шероховатость поверхности (Ra) имплантатов составляла  $2,5 \pm 0,5$  мкм (рис. 1а, 1б). Фотофункционализацию поверхности проводили с помощью облучения дуговыми ртутными лампами низкого давления, излучающими УФ-С и ВУФ, в УФ-озонаторе в течение одного часа. Для придания поверхности супергидрофильных свойств на нее наносили буферный агент pH, включающий положительно и отрицательно заряженные ионные группы с рКа (показатель константы кислотности) равном 7,31 при температуре 37 °С (рис. 1с).



**Рис. 1.** Морфологический анализ поверхности, прошедшей пескоструйную обработку и травление кислотой (SA), с помощью растрового электронного микроскопа (РЭМ) при увеличении  $\times 500$  (а) и  $\times 4000$  (б); (с). Сравнение углов краевого смачивания при нанесении дефибринованной овечьей крови на титановые диски и имплантаты. SA – стандартная поверхность SA; SA + VUV + BS - поверхность SA, покрытая буферным агентом pH после облучения вакуумным ультрафиолетом

#### • Статическая смачиваемость поверхности

Блюдо диаметром 3,5 см заполнили гепаринизированной овечьей кровью на 2–3 см. Имплантаты SA + VUV и SA + VUV + BS (по 5 имплантатов каждого типа) погружали в кровь до верхней границы вертикальных канавок. Для оценки скорости смачивания измеряли время, проходящее с момента погружения имплантата в кровь до смачивания кровью его шейки. Измерение временем, необходимого для смачивания всей поверхности имплантата от его апекса, представлялось нецелесообразным из-за наличия вертикальных канавок, разрывающих витки резьбы и препятствующих адсорбции крови.

#### • Динамическая смачиваемость поверхности

Для имитации установки имплантатов в реальной клинической ситуации в прозрачной акриловой пластине сформировали отверстия с помощью хирургического набора 122 Taper (Osstem) в соответствии с протоколом производителя для твердой кости. В каждое отверстие наливали по 130 мкл дефибринированной овечьей крови, после чего в отверстия погружали имплантаты SA + VUV и SA + VUV + BS (по 5 имплантатов каждого типа) с помощью силоизмерительного устройства (MX-500N, Imada Co., Токио, Япония) со скоростью 50 мм/мин. В ходе эксперимента измеряли время, за которое кровь достигала отметок 2 мм и 4 мм относительно края горизонтальной пластины вдоль центральной оси имплантата (рис. 2).

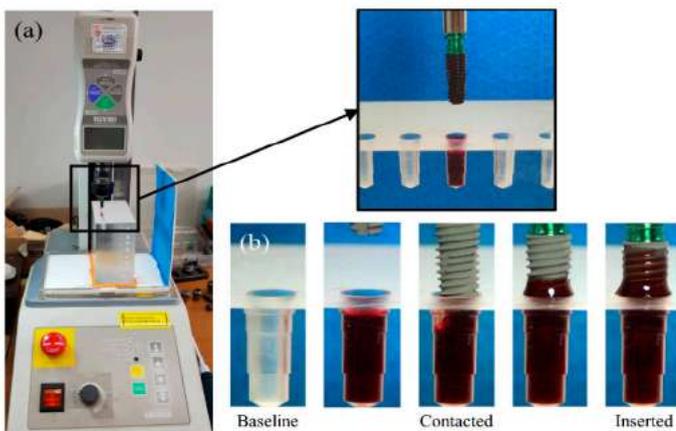


Рис. 2. Оценка динамической смачиваемости поверхности *in vitro*: (a) прозрачная акриловая пластина с отверстиями для имплантатов и силоизмерительное устройство; (b) исходная ситуация; апекс имплантата соприкоснулся с кровью; имплантат полностью ввели в отверстие

#### • Статическое свертывание крови

Имплантаты SA + VUV и SA + VUV + BS (11,5 мм x 4,5 мм; n = 5) погружали в блюдце диаметром 3,5 см, заполненное 3 мл негепаринизированной овечьей крови. Вес (г) кровяного сгустка на поверхности имплантатов измеряли через 5, 7,5, 10 и 12,5 минут соответственно.

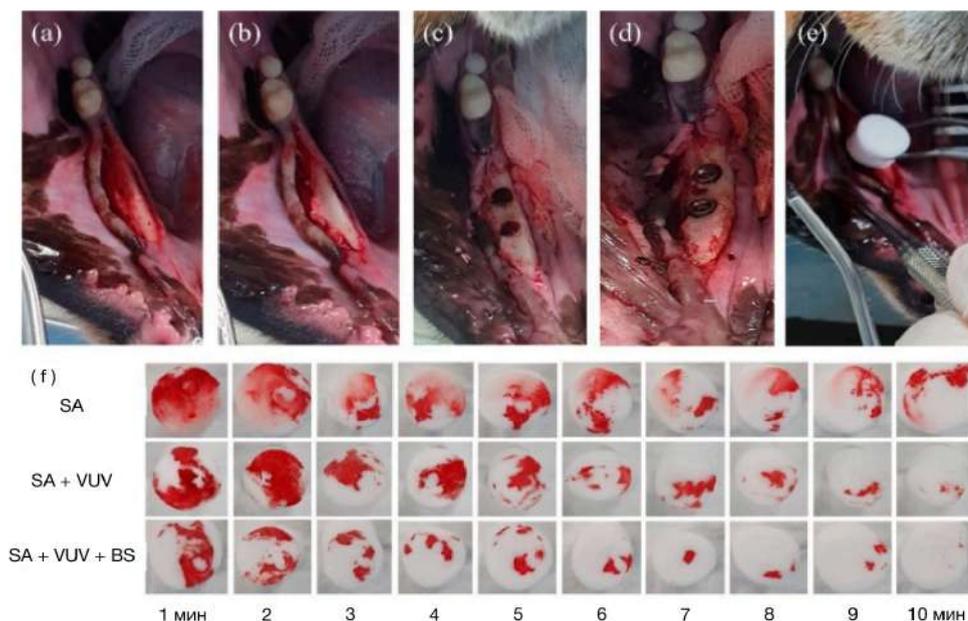
#### • Динамическое свертывание крови

Тест на активное свертывание крови был разработан для имитации непрерывного поступления крови по капиллярам. Имплантаты SA + VUV и SA + VUV + BS (10 мм x 4 мм; n = 5) фиксировали в модифицированной пробирке Эппендорфа с усилием 5 Нсм. Пробирка была подключена к шприцевому насосу, подающему овечью кровь, смешанную с 1 МЕ/мл гепарина при температуре 37 °C. Через 30 минут подачи крови со скоростью 0,05 мл/мин измеряли время (мин) до образования кровяного сгустка вокруг имплантата и объем (мл) крови, которая собиралась в пробирке объемом 15 мл, расположенной под пробиркой Эппендорфа.

#### • Исследование *in vivo*

Эксперимент проводили на собаках породы бигль. Протокол эксперимента был одобрен Комитетом по этике институционального комитета по защите животных и их использованию в экспериментах (CRONEX-IACUC 20191002; Cronex, Хвасон, Южная Корея) в соответствии с принципами “ARRIVE” (исследования на животных: эксперименты *in vivo*).

Четырем самкам собак породы бигль (возраст 18 месяцев) удалили премоляры и первые моляры с обеих сторон нижней челюсти в условиях общей анестезии. Протокол анестезии включал внутримышечную инъекцию 15 мг/кг тилетамина/золазепам (Zoletil 50, Virbac, Сеул, Южная Корея) и 5 мг/кг ксилазина (Rompun, Bayer Korea, Сеул, Южная Корея). После выполнения местной анестезии отслоили полнослойный лоскут в проекции премоляров и моляров нижней челюсти (рис. 3). Зубы разделили на фрагменты, используя обильное водяное охлаждение, с помощью малого фиссурного бора. Зубы удалили с помощью элеваторов и щипцов. Края раны ушили простыми узловыми швами. В послеоперационном периоде назначили антибиотики и обезболивающее; собак кормили мягкой пищей и



**Рис. 3.** Тест на свертываемость крови *in vivo*: (a) выполнение разреза и отслаивание лоскута; (b) сглаживание края альвеолярного гребня; (c) формирование остеотомических отверстий для имплантатов; (d) установка имплантатов; (e) размещение ватного тампона в зазор между имплантатом и остеотомическим отверстием; (f) внешний вид ватных тампонов в зависимости от времени. SA: стандартная поверхность SA; SA + VUV: поверхность SA, облученная вакуумным ультрафиолетовым излучением; SA + VUV + BS: поверхность SA, покрытая буферным агентом pH после облучения вакуумным УФ

Через три месяца после удаления зубов собакам установили дентальные имплантаты в стерильных условиях. После выполнения местной анестезии отслаивали полнослойный лоскут для обнажения альвеолярного гребня. Неровный альвеолярный гребень выравняли. Остеотомические отверстия формировали, используя следующую последовательность сверл: направляющее сверло, спиральное сверло 2,2 мм, коническое сверло 3 мм, коническое сверло 4 мм, коническое сверло 6 мм. Диаметр остеотомического отверстия был больше диаметра имплантата. В общей сложности установили 12 имплантатов SA, SA + VUV и SA + VUV + BS (8,5 мм x 3,5 мм) с усилием 35 Нсм. В зазор между имплантатом и ложем помещали ватный тампон, который пропитывался кровью в течение не более 10 минут. Для оценки процесса образования кровяного сгустка в области имплантата вес (г) ватного тампона измеряли каждую минуту. После хирургического вмешательства животных усыпили с помощью внутривенной инъекции хлорида калия.

#### • Статистический анализ

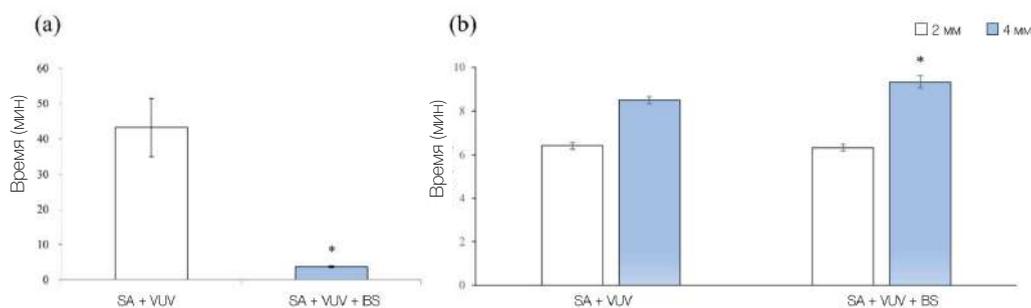
Из-за небольшого размера выборки для выявления разницы между группами SA + VUV и SA + VUV + BS *in vitro*, а также между группами SA, SA + VUV и SA + VUV + BS *in vivo* использовали критерий Краскелла-Уоллиса (непараметрический критерий). Разницу считали статистически значимой, если  $p < 0,05$  при  $\alpha = 0,05$ . Статистический анализ проводили в программном обеспечении SAS, версия 9.4 (SAS Inc., Кэри, США).

## Результаты

#### • Тесты *in vitro*

Статическая смачиваемость поверхности

Кровь достигала шейки имплантата за  $43,3 \pm 8,3$  минуты и  $3,8 \pm 0,3$  минуты в группах SA + VUV и SA + VUV + BS соответственно. Статистически значимая разница ( $p < 0,05$ ) между группами была очевидна (рис. 4а).



**Рис. 4.** Тест на статическую и динамическую смачиваемость поверхности *in vitro*: (а) время (мин), за которое кровь доходит до шейки имплантата; (б) время (мин), за которое кровь доходит до отметок 2 мм и 4 мм над горизонтальной пластиной соответственно. SA: стандартная поверхность SA; SA + VUV: поверхность SA, облученная вакуумным ультрафиолетовым излучением; SA + VUV + BS: поверхность SA, покрытая буферным агентом рН после облучения вакуумным УФ. Среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение, \*  $p < 0,05$  при использовании критерия Краскелла-Уоллиса.

#### • Динамическая смачиваемость поверхности

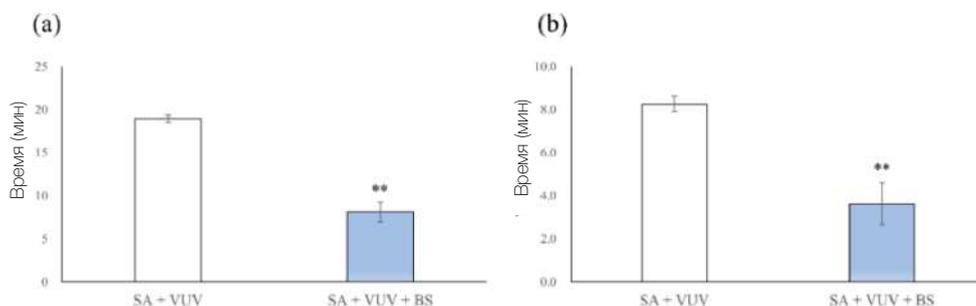
В группе SA + VUV кровь достигала отметки 2 мм и 4 мм над горизонтальной пластиной за  $6,4 \pm 0,1$  мин и  $8,5 \pm 0,2$  мин соответственно. В группе SA + VUV + BS на достижение кровью отметок 2 мм и 4 мм над горизонтальной пластиной уходило  $8,5 \pm 0,2$  мин и  $9,3 \pm 0,3$  мин соответственно. Статистически значимая разница ( $p < 0,05$ ) между группами SA + VUV и SA + VUV + BS была обнаружена только при сравнении времени, в течении которого кровь достигала отметки 4 мм (рис. 4b).

#### • Статическое свертывание крови

В группе SA + VUV вес кровяного сгустка, сформировавшегося в области имплантата через 5, 7,5, 10 и 12,5 минут, составлял  $0,04 \pm 0,01$  г,  $0,09 \pm 0,03$  г,  $0,23 \pm 0,06$  г и  $0,39 \pm 0,16$  г соответственно. В группе SA + VUV + BS вес кровяного сгустка через аналогичные промежутки времени достигал  $0,07 \pm 0,03$  г,  $0,12 \pm 0,02$  г,  $0,39 \pm 0,20$  г и  $0,61 \pm 0,18$  г соответственно. Статистически значимая разница между группами SA + VUV и SA + VUV + BS отсутствовала ( $p > 0,05$ ).

#### • Динамическое свертывание крови

Для достижения полного гемостаза требовалось  $19 \pm 0,4$  мин и  $8,1 \pm 1,2$  мин в группах SA + VUV и SA + VUV + BS соответственно. Разница между группами была статистически значимой ( $p < 0,01$ , рис. 5a). Объем крови, скопившейся в пробирке, достигал  $8,27 \pm 0,36$  мл и  $3,64 \pm 0,99$  мл в группах SA + VUV и SA + VUV + BS соответственно: разница между группами была статистически значимой ( $p < 0,01$ , рис. 5b).



**Рис. 5.** Тест на динамическое свертывание крови *in vitro*: (а) время (мин) до полного гемостаза; (б) объем (мл) крови, собранной в пробирке. SA: стандартная поверхность SA; SA + VUV: поверхность SA, облученная вакуумным ультрафиолетовым излучением; SA + VUV + BS: поверхность SA, покрытая буферным агентом рН после облучения вакуумным УФ. Среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение, \*  $p < 0,01$  при использовании критерия

### • Эксперимент in vivo

При оценке веса крови, впитавшейся в ватный тампон за 5, 6 и 7 минут, выявили статистически значимую разницу между группами SA, SA + VUV и SA + VUV + BS ( $p < 0,01$ , рис. 6). Сводные данные представлены в табл. 1.

Таблица 1. Краткий обзор результатов исследования

Тип испытания	Категория	Группы	N	$\chi^2$	CC	P-значение	
In vitro	Статическая смачиваемость поверхности	SA + VUV против SA + VUV + BS	5	3.8571	1	0.0495*	
		SA + VUV против SA + VUV + BS	5	—	—	—	
	Динамическая смачиваемость поверхности	—	—	—	0.4839	1	0.4867
		—	—	—	4.5000	1	0.0339*
	Статическое свертывание крови	SA + VUV против SA + VUV + BS	5	—	—	—	
		—	—	—	2.3333	1	0.1266
	Динамическое свертывание крови	—	—	—	1.1905	1	0.2752
		—	—	—	2.3333	1	0.1266
	Динамическое свертывание крови	—	—	—	1.1905	—	0.2752
		—	—	—	12.9630	2	0.0015**
	Динамическое свертывание крови	—	—	—	12.5448	2	0.0019**
		—	—	—	—	—	—
	In vivo	Свертывание крови	SA против SA + VUV против SA + VUV + BS	4	9.8462	2	0.0073**

CC: степени свободы; N: число образцов; SA: стандартная поверхность SA; SA + VUV: поверхность SA, облученная вакуумным ультрафиолетовым излучением; SA + VUV + BS: поверхность SA, покрытая буферным агентом pH после облучения вакуумным УФ. \* $p < 0,05$  и \*\* $p < 0,01$  при использовании критерия Краскелла-Уоллиса.

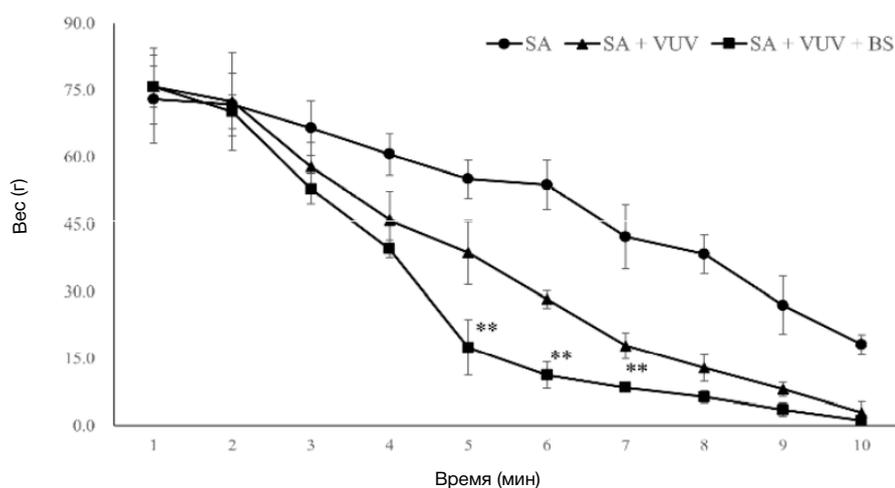


Рис. 6. Тест на свертываемость крови in vivo. Вес (г) цельной крови, впитавшейся в ватный тампон в области каждого имплантата, в зависимости от времени впитывания. SA: стандартная поверхность SA; SA + VUV: поверхность SA, облученная вакуумным ультрафиолетовым излучением; SA + VUV + BS: поверхность SA, покрытая буферным агентом pH после облучения вакуумным УФ. Среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение, \* $p < 0,01$  при использовании критерия Краскелла-Уоллиса.

## Обсуждение

По данным исследований, имплантаты с поверхностью SA способствуют прогнозируемому достижению благоприятных клинических результатов, а поверхность SA является стандартной поверхностью в дентальной имплантологии. Проведенный авторами настоящего исследования статический тест на смачиваемость свидетельствует о супергидрофильных свойствах поверхности после ВУФ-обработки и нанесения буферного агента pH (группа SA + VUV + BS), что подтверждает результаты, полученные в ходе анализа плоских дисков. Поскольку в клинических условиях наиболее важной является способность имплантата притягивать кровь в области шейки (примерно на 4 мм выше горизонтальной пластины в рамках настоящего исследования) был проведен новый тест на динамическую смачиваемость поверхности для более детального сравнения скорости смачивания поверхностей SA + VUV и SA + VUV + BS. Значительно более высокая скорость смачивания поверхности SA + VUV + BS может быть обусловлена только эффектом буферного агента pH, поскольку поверхность SA поставляется сухой. Однако, учитывая, что в реальной клинической ситуации имплантаты устанавливаются с сухой поверхностью или без дополнительного увлажнения, в качестве контроля мы использовали «наивную» поверхность SA, а не поверхность SA, увлажненную раствором. Ранее было установлено, что более гидрофильные ассоциируются с более быстрой и качественной остеоинтеграцией имплантата. Кроме того, известно, что смачиваемость поверхности влияет на адгезию белков и других молекул к поверхности, а также взаимодействия клеток.

Образование кровяного сгустка сигнализирует о начале процесса заживления, поэтому взаимодействие между поверхностью имплантата и кровью является важным фактором, влияющим на остеоинтеграцию титановых имплантатов. Формирование кровяного сгустка на шероховатой титановой поверхности способствует рекрутированию клеток и стимулирует заживление раны. По данным исследований, преостеобласты и остеобласты прикрепляются к поверхности имплантата, покрытой тромбоцитами и фибрином, и дифференцируются под действием остеогенных факторов и цитокинов, выделяемых из кровяного сгустка в области имплантата. Считается, что образование кровяного сгустка на поверхности имплантата является ключевым фактором, от которого зависит эффективная ретенция фибрина. Кровяной сгусток может оказывать существенное влияние на заживление костной ткани и остеоинтеграцию имплантата за счет воздействия на транспорт макромолекул, поведение клеток и контактный/дистанционный остеогенез. Согласно результатам теста на статическое свертывание крови, поверхность SA + VUV + BS ассоциировалась с более выраженной абсорбцией крови по сравнению с поверхностью SA + VUV, однако разница между группами не была статистически значимой. Полученные данные указывают на то, что поверхность SA, прошедшая только фотофункционализацию ВУФ, оказывает сопоставимое воздействие на свертывание крови. Авторы разработали ряд новых экспериментов для подтверждения гемостаза при капиллярных кровотечениях для максимально точного моделирования реальной клинической ситуаций.

В динамическом тесте на свертывания крови образование кровяных сгустков в условиях *in vitro* происходило значительно быстрее, а общий объем крови, скапливающейся в зазоре между остеоотомическим отверстием и поверхностью имплантата до наступления гемостаза, был значительно меньше в группе SA + VUV + BS по сравнению с группой SA + VUV. Результаты теста *in vivo* также свидетельствуют о существенной разнице в объеме крови, скапливающейся в зазоре между остеоотомическим отверстием и поверхностью имплантата, между группами SA, SA + VUV и SA + VUV + BS. Это говорит о том, что поверхность SA + VUV + BS ускоряет образование кровяного сгустка в области имплантата, способствуя более эффективному взаимодействию между костью и имплантатом в процессе остеоинтеграции. С клинической точки зрения, вышеописанные свойства поверхности SA + VUV + BS улучшают визуализацию хирургического поля и способствуют проведению успешной сопутствующей направленной регенерации кости, направленной на увеличение объема и качества костной ткани для достижения благоприятного эстетического и функционального результата, поскольку быстрое свертывание крови улучшает стабилизацию костного материала и барьерной мембраны. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что обработка поверхности SA вакуумным ультрафиолетовым излучением может быть эффективной альтернативой ВУФ в сочетании с нанесением буферного агента pH, с точки зрения процесса образования кровяного сгустка.

Формирование остеоотомического отверстия приводит к образованию слабокислой среды, в то же время применение буферного агента pH позволяет поддерживать постоянный pH. Покрытие на основе pH-буфера контролирует высвобождение медиаторов воспаления и создает оптимальные условия для активности остеобластов за счет поддержания постоянного уровня кислотности или, по крайней мере, предотвращения его значительных колебания. Внеклеточный ацидоз ингибирует активность тромбоцитов и остеобластов и снижает выработку щелочной фосфатазы, замедляя формирование костной ткани. Обработка ВУФ и нанесение буферного агента pH на поверхность SA максимизируют активность тромбоцитов, ускоряют тромбогенез, увеличивают активность остеобластов и уровень ЩФ на границе кость-имплантат за счет буферного эффекта pH. Для оценки безопасности и эффективности применения имплантатов с поверхностью SA + VUV + BS требуются дальнейшие исследования. Следует также провести рандомизированные контролируемые исследования, чтобы подтвердить целесообразность применения данного типа поверхности в различных клинических ситуациях, например, при немедленной имплантации или установке имплантата в сочетании с костной пластикой.

## Сравнение эффективности раннего протезирования с опорой на имплантаты с поверхностью, прошедшей пескоструйную обработку и травление кислотой (поверхность SA), и поверхностью SA, модифицированной буферным агентом pH (поверхность SOI): 4-месячные результаты многоцентрового рандомизированного контролируемого исследования по принципу разделенного рта

Лукаш Задрозный (Łukasz Zadrozny)<sup>1</sup>, Эрта Джанари (Erta Xhanari)<sup>2</sup>, Мирча Георгита (Mircea Gheorgita)<sup>3</sup>, Андре де Вааль (Andre de Waal)<sup>4</sup>, Николас Видмер (Nicolas Widmer)<sup>5</sup>, Леонардо Муцци (Leonardo Muzzi)<sup>6</sup>, Элица Деливерска (Elitsa Deliverska)<sup>7</sup>, Фулвио Гатти (Fulvio Gatti)<sup>8</sup>, Марта Чайковска (Marta Czajkowska)<sup>9</sup>, Якопо Бути (Jacopo Buti)<sup>10</sup>, Адела Алуши (Adela Alushi)<sup>2</sup>, Марко Талларико (Marco Tallarico)<sup>11</sup>

### Цель

Целью настоящего исследования является сравнение коэффициента стабильности (ISQ), а также показателей выживаемости и успешности имплантатов с двумя типами поверхности: поверхностью, прошедшей пескоструйную обработку и травление кислотой (SA, контрольная группа), и поверхностью SA, модифицированной буферным агентом pH (SOI, тестовая группа), при проведении раннего протезирования для устранения одиночных дефектов зубного ряда.

### Материалы и методы

Настоящее многоцентровое рандомизированное контролируемое исследование по принципу разделенного рта было направлено на оценку выживаемости имплантатов и протезов, вероятности осложнений и коэффициента стабильности имплантатов (ISQ) у пациентов с частичной адентией, нуждающихся в установке не менее двух одиночных коронок с опорой на имплантаты. Каждому пациенту установили по одному имплантату каждого типа по одноэтапному протоколу. ISQ каждого имплантата измеряли непосредственно после установки имплантатов, еженедельно на протяжении 8 недель, а затем – в день фиксации окончательных реставраций (через 12 недель после имплантации).

### Результаты

В исследование включили в общей сложности 62 пациента из 9 клинических центров. Один пациент выбыл из исследования через 8 недель наблюдения. В течение 12 недель после операции были утрачены два имплантата с поверхностью SA, однако разница между группами не была статистически значимой ( $p = 0,5$ ). Ни один протез не был утрачен в течение 4 месяцев с момента фиксации. Было зарегистрировано пять осложнений: три в группе SA и два в группе SOI. Разница между группами не была статистически значимой (ОШ = 0,66, 95% ДИ: 0,11– 4,07;  $p = 0,650$ ).

<sup>1</sup> Стоматологический факультет Варшавского медицинского университета (Варшава, Польша)

<sup>2</sup> Университет Алдент (Тирана, Албания)

<sup>3</sup> Частная клиническая практика (Крайова, Румыния)

<sup>4</sup> Частная клиническая практика (Стелленбос, ЮАР)

<sup>5</sup> Частная клиническая практика (Берн, Швейцария)

<sup>6</sup> Частная клиническая практика (Сиена, Италия)

<sup>7</sup> Медицинский университет (София, Болгария)

<sup>8</sup> Миланский университет (Милан, Италия)

<sup>9</sup> Силезский медицинский университет (Катовице, Польша)

<sup>10</sup> Стоматологический институт им. Истмана при Лондонском университетском колледже (Лондон, Великобритания)

<sup>11</sup> Стоматологический факультет Сассарского университета (Сассари, Италия)

Выявили выраженное снижение стабильности двух имплантатов из группы SOI и двух имплантатов из группы SA без их прокручивания через 3–4 недели после установки. Имплантаты перекрывали мягкими тканями: через 12 недель они успешно остеоинтегрировались. В еще одном случае выявили ослабление ортопедического винта в области имплантата SA: винт затянули повторно. Исходные средние значения ISQ составляли  $76,57 \pm 7,54$  (95% ДИ: 74,69–78,44) в группе SA и  $75,92 \pm 7,69$  (95% ДИ: 73,89–77,73) в группе SOI. Средние значения ISQ через 12 недель возросли до  $79,17 \pm 7,83$  (95% ДИ: 77,03–81,29) и  $78,82 \pm 8,80$  (95% ДИ: 76,42–81,21) в группах SA и SOI соответственно. При использовании модели со смешанными эффектами обнаружили статистически значимую разницу между группами с течением времени; при этом зарегистрированные значения ISQ были несколько ниже в группе SOI (-0,65; 95% ДИ -1,14– -0,15). В ходе исследования также анализировали различия между клиническими центрами ( $p < 0,001$ ).

## Выводы

С учетом ограничений настоящего исследования полученные данные позволяют сделать вывод о том, что оба типа имплантатов можно успешно нагружать по раннему протоколу.

## Введение

Протезирование с опорой на дентальные имплантаты является эффективным методом стоматологической реабилитации. Долговечность и стабильность имплантатов подтверждаются результатами целого ряда недавних исследований. Было предпринято несколько попыток сделать протезирование с опорой на имплантаты более приемлемым и доступным методом лечения для пациентов. Одной из ключевых тем исследований в дентальной имплантологии стало сокращение периода заживления. Были разработаны различные хирургические методики для проведения немедленной эстетической и функциональной реабилитации. По данным Кокрановских систематических обзоров, между протоколами протезирования отсутствует клинически значимая разница с точки зрения неудачных исходов имплантации и протезирования, однако немедленная имплантация характеризуется более высоким риском утраты имплантата по сравнению с традиционным протоколом. За несколько десятилетий было испробовано несколько вариантов макро- и микродизайна имплантатов с целью увеличения контакта имплантата с костью и ускорения его остеоинтеграции. В последние годы наиболее бурно развиваются методы модифицирования имплантата, направленные на изменение шероховатости его поверхности с целью создания благоприятных условий для остеоинтеграции. Методы обработки поверхности можно разделить на три категории: физические, химические или сочетанные. Наиболее распространенным физическим методом является крупнозернистая пескоструйная обработка. К химическим методам относят травление кислотой, нанесение на поверхность резорбируемого нанослоя гидроксиапатита или буферного агента pH. Сочетание физических и химических методов (пескоструйной обработки оксидом алюминия и травления кислотой) позволяют получить одну из наиболее тщательно документированных поверхностей имплантатов в стоматологии, эффективность которой подтверждается результатами длительных исследований. В то же время данные Кокрановского обзора свидетельствуют об отсутствии существенных клинических различий между разными типами имплантатов.

Tallarico и соавторы обнаружили менее выраженное снижение коэффициента стабильности имплантата (ISQ) во время ремоделирования кости при использовании имплантатов с поверхностью, прошедшей пескоструйную обработку и травление кислотой, с нанопокрытием на основе биоадсорбируемого гидроксиапатита, по сравнению с имплантатами, прошедшими только пескоструйную обработку и травление кислотой.

Недавно компания Osstem (Osstem Implant, Osstem Global, Сеул, Южная Корея) представила новую поверхность, модифицированную буферным агентом pH, для более быстрой остеоинтеграции имплантата. Несмотря на многообещающие результаты доклинических исследований и положительные предварительные результаты, полученные в одном независимом рандомизированном контролируемом исследовании (РКИ), систематический обзор не выявил существенной разницы между поверхностью, прошедшей пескоструйную обработку и травление кислотой, и поверхностью, покрытой буферным агентом pH.

Целью настоящего многоцентрового рандомизированного контролируемого исследования по принципу разделенного рта является сравнения выживаемости, успеха и коэффициента стабильности имплантатов TSIII (Osstem Implant) с поверхностью SA (пескоструйная обработка и травление кислотой) и SOI (поверхность SA, модифицированная буферным агентом pH) при использовании протокола раннего протезирования для устранения одиночных дефектов зубного ряда. Имплантаты с поверхностью SOI и SA имели одинаковый дизайн и размеры. Поверхность SOI является гидрофильной, а поверхность SA - гидрофобной (рис. 1). За нулевую гипотезу принимали отсутствие разницы между группами. Для повышения качества представления результатов рандомизированного контролируемого исследования использовали единые стандарты CONSORT (Consolidated Standards Of Reporting Trials – Единые стандарты представления результатов испытаний).

## Выводы

Настоящее рандомизированное контролируемое исследование проводили по принципу разделенного рта на базе 10 частных и государственных клинических центров в Европе и ЮАР с сентября 2019 г. по июнь 2021 г. Результаты оценивали с помощью слепого метода за исключением осложнений и неудачных исходов – о них сообщали лечащие стоматологи. Исследование соответствовало принципам Хельсинкской декларации о проведении биомедицинских исследований с участием человека в редакции 2018 г. и было зарегистрировано в государственном реестре клинических исследований (clinicaltrials.gov) под номером NCT04073654. Протокол исследования был одобрен комитетом по этике координирующего центра в Албании (1/2018). Все пациенты были проинформированы об особенностях лечения и подписали информированное согласие.



**Рис. 1.** Имплантаты с поверхностью SA (справа) и SOI (слева). Поверхность SOI является гидрофильной (более темная), а поверхность SA – гидрофобной

### • Критерии включения/исключения из исследования

В исследование включали пациентов старше 18 лет, страдающих частичной адентией и нуждающихся в изготовлении не менее двух одиночных коронок с опорой на имплантаты. Перед включением в исследование пациенты должны были подписать информированное согласие. Локализация участка адентии, курение и класс кости в участке адентии не являлись критерием включения или исключения из исследования. Объем кости в участке адентии должен был быть достаточным для установки имплантатов длиной не менее 8,5 мм и диаметром не менее 3,5 мм с усилием не менее 30 Нсм. С момента удаления зубов или костной пластики должно было пройти не менее 4 месяцев. Курящих пациентов распределяли на две группы: умеренные курильщики (до 10 сигарет в день) и заядлые курильщики (более 10 сигарет в день) по результатам опроса.

### • Использовали следующие критерии исключения из исследования:

- Общие противопоказания к установке дентальных имплантатов;
- Ширина зоны кератинизированной десны менее 4 мм в области имплантации;
- Иммуносупрессия или ослабленная иммунная система;
- Лучевая терапия опухолей в области головы и шеи в течение 5 лет до имплантации;
- Декомпенсированный сахарный диабет;
- Беременность или грудное вскармливание;
- Невылеченный гингивит или пародонтит;
- Неудовлетворительный уровень самостоятельной гигиены полости рта/неготовность пациента соблюдать рекомендации стоматолога (общий индекс кровоточивости и общий индекс микробного налета более 25 %);
- Злоупотребление алкоголем или наркотиками;
- Психические расстройства и нереалистичные ожидания от лечения;
- Острая инфекция и гноетечение в области планируемой имплантации;
- Необходимость проведения пластики кости или мягких тканей одновременно с имплантацией;
- Немедленная имплантация (имплантаты устанавливали не ранее чем через 4 месяца после удаления зубов);
- Внутривенный прием бисфосфонатов в анамнезе;
- Пациент направлен в клинику только по поводу установки имплантатов, что исключает наблюдение за пациентом;
- Участие в других исследованиях, при условии, что они не позволяют строго придерживаться протокола настоящего исследования.

Для оценки доступного объема кости в области планируемой имплантации всем потенциальным участникам исследования выполнили прицельные снимки и/или направили их на конусно-лучевую компьютерную томографию. Пациентов с достаточным объемом кости для установки двух имплантатов и последующего изготовления одиночных коронок допустили до участия в исследовании. Пациентов информировали о клинических этапах лечения, потенциальных рисках и осложнениях, а также графике контрольных осмотров. Перед включением в исследование пациенты должны были подписать информированное согласие. Если у пациента было более двух участков адентии, подходящих для имплантации, стоматолог мог выбрать два из них с наиболее схожими характеристиками во время скринингового визита. Желательно, чтобы участки адентии не находились в области соседних зубов. Выбранные участки обозначали номерами 1 (наименьший, согласно нотации Международной федерации стоматологов FDI) и 2 (наибольший).

#### • Хирургический и ортопедический этапы

Примерно за 10 дней до хирургического вмешательства всем пациентам проводили профессиональную гигиену. За 1 час до операции пациентам назначали антибиотики (2 г амоксициллина или 600 мг клиндамицина в случае аллергии на пенициллин). Пациенты полоскали рот 0,2% раствором хлоргексидина в течение 1 минуты перед любыми хирургическими манипуляциями. Операцию проводили в условиях местной анестезии раствором артикаина с 1:100000 эпинефрина. В зависимости от анатомии участка адентии и предпочтений стоматолога имплантаты устанавливали с формированием небольшого лоскута (без вертикальных послабляющих разрезов) или без его отслаивания (у каждого пациента использовали один и тот же хирургический протокол в области обоих участков адентии). Ложе для нескольких имплантатов препарировали одновременно коническими сверлами (800–1200 об/мин) с обильным водяным охлаждением в соответствии с рекомендованным производителем протоколом (хирургический набор 122 Taper Kit, Osstem Implant) и плотностью костной ткани. Плотность костной ткани оценивали во время формирования остео-томических отверстий и классифицировали как «твердую», «нормальную» или «мягкую». Длину имплантата выбирали в соответствии с требованиями клинической ситуации и предпочтениями стоматолога. По возможности, каждому пациенту старались устанавливать два имплантата с одинаковым диаметром и длиной. Конические имплантаты TSIII с поверхностью SA, прошедшей пескоструйную обработку и травление кислотой (группа SA), и поверхностью SA, модифицированной буферным агентом pH (группа SOI), устанавливали по одноэтапному протоколу на одном уровне с краем кости или слегка субкостально с усилием не менее 30 Нсм. Если торк при установке имплантата была ниже 30 Нсм, повторное измерение ISQ не проводили: на имплантате фиксировали одиночную коронку через 4 месяца заживления. Последовательность этапов лечения приводится на рис. 2а–2h.

Коэффициент стабильности имплантатов (ISQ) измеряли с помощью частотно-резонансного анализа, используя штифт multipleg (Hiossen; Энглвуд Клиффс, США) и аппарат IS3 Monitor (Hiossen). Формирователи десны на имплантатах фиксировали ручной отверткой. Края раны ушивали швами. В послеоперационном периоде пациентам назначали антибиотики (1 г амоксициллина или 600 мг клиндамицина в случае аллергии на пенициллин) дважды в день в течение 5 дней и 600 мг ибупрофена при необходимости. Повторные измерения ISQ выполняли каждую неделю в течение 8 недель после имплантации, а затем – через 12 недель, как и в ранее опубликованном исследовании. Для оценки ISQ удаляли формирователи десны и поочередно фиксировали штифты multipleg в каждом имплантате. ISQ измеряли дважды: вестибулярно-орально и мезиально-дистально. После чистки и дезинфекции в 0,2% растворе хлоргексидина и ультразвуковой ванночке формирователи десны повторно фиксировали на имплантатах с помощью ручной отвертки.

Оттиски для изготовления окончательных реставраций получали через 8 недель после имплантации. Окончательные одиночные коронки фиксировали через 12 недель после установки имплантатов. Стоматологи самостоятельно выбирали материал реставрации: металлокерамическая и цельнокерамическая коронка и тип фиксации: цементная или винтовая. Согласно протоколу исследования, коронки должны были быть изготовлены из одинакового материала и иметь один и тот же тип фиксации в области обоих имплантатов, установленных каждому пациенту. Окончательные коронки/абатменты фиксировали дважды с усилием 20 или 30 Нсм (в соответствии с инструкцией производителя и ортопедической платформой имплантата) с интервалом 10 минут. Проверяли окклюзию, после чего при необходимости проводили инструктаж по гигиене полости рта. Прицельные рентгенограммы и внутривидео снимки делали непосредственно после имплантации и фиксации окончательных реставраций.

Оценивали следующие параметры: неудачные исходы имплантации и протезирования, а также наличие осложнений в течение периода наблюдения.

- Использовали следующие критерии неудачи имплантологического лечения: прокручивание имплантата при фиксации/удалении абатмента, перелом имплантата, инфекция или любые механические осложнения, требующие удаления имплантата или не позволяющие зафиксировать на имплантате протез.
- Протез считали несостоятельным, если требовалась его замена.
- Регистрировали любые биологические (боль, отек, гноетечение и т.д.) и/или механические осложнения (ослабление винта, скол керамической облицовки и т.д.).

В ходе исследования также оценивали коэффициент стабильности имплантата (ISQ) с помощью частотно-резонансного анализа, при этом эксперты, проводившие измерения, не знали к какой группе относится каждый имплантат. ISQ (в баллах от 1 до 100) измеряли вестибулярно-орально и мезиально-дистально; полученные значения усредняли. Значение ISQ измеряли в день имплантации, еженедельно в течение 8 недель после имплантации, а затем – в день фиксации окончательных реставраций через 12 недель.

В ходе контрольного осмотра через 1 год после лечения оценивали следующие параметры: высоту краевой кости (ВКК), глубину зондирования (ГЗ), кровоточивость при зондировании (КЗ), индекс микробного налета (ИМН) и количество баллов по шкале розовой эстетики. В каждом центре за сбор данных отвечал один эксперт. ВКК и количество баллов по шкале розовой эстетики оценивал один эксперт. Во время сбора и интерпретации данных использовали метод ослепления.



**Рис. 2а–2h.** а–d: последовательность этапов лечения в группе SOI: установка имплантата (а), фиксация протеза через 12 недель после имплантации (b), прицельная рентгенограмма после фиксации протеза (с), клинический снимок через 4 месяца (d). Е–h: последовательность этапов лечения в группе SA: установка имплантата (е), фиксация протеза через 12 недель после имплантации (f), прицельная рентгенограмма после фиксации протеза (g), клинический снимок через 4 месяца (h)

#### • Анализ данных

При размере эффекта  $d = 0,6383489$ , шансе ошибки второго рода равном  $0,05$  и мощности ( $1-\beta = 0,95$ ) достаточный размер выборки считали 65 имплантатов в каждой группе в 10 клинических центрах. Размер эффекта определяли на основании результатов ранее проведенного аналогичного исследования, согласно которым ISQ составлял  $71,2 \pm 4,07$  и  $74 \pm 4,68$  для имплантатов со стандартной и модифицированной поверхностью соответственно. Поскольку исследование проводили по принципу разделенного рта, каждому пациенту устанавливались как тестовые (SOI), так и контрольные (SA) имплантаты. Чтобы избежать недостаточной силы результатов ( $< 95\%$ ) в связи с выбыванием участников из исследования, в исследование дополнительно включили 35 пациентов, чтобы общий запланированный размер выборки составил 100 пациентов (200 имплантатов). Таким образом, в каждом центре планировали установить по 10 тестовых (SOI) и контрольных имплантатов (SA) 10 пациентам.

Для проведения рандомизации заранее создали 10 списков из произвольной последовательности чисел с помощью компьютерной программы. Доступ к кодам рандомизации, хранившимся на защищенном паролем компьютере, имел только один независимый консультант, который не принимал участия в проведении исследования. Коды рандомизации вкладывали в пронумерованные идентичные непрозрачные конверты и запечатывали. Конверты вскрывали после создания остеотомических отверстий для двух имплантатов.

Анализ данных проводили по заранее подготовленному плану двое экспертов (MC и JB). Эксперты не знали о результатах рандомизации. Данные пациентов заносили в таблицу Excel (Microsoft; Редмонд, США). Регистрировали неудачные исходы имплантации и протезирования, а также осложнения (дихотомические исходы). Значения ISQ (непрерывные исходы) анализировали во всех временных точках (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 и 12 недель). Для оценки неудачных исходов имплантации использовали критерий Мак-Немара. Использовали модель со смешанными эффектами для анализа непрерывной зависимой переменной (ISQ) и обобщенные смешанные модели для дихотомических зависимых переменных (осложнения); при этом пациентов относили к случайным эффектам, а время и группу – к фиксированным эффектам. Для оценки различий между центрами рассчитали отдельную модель со смешанными эффектами, в рамках которой пациентов считали случайными эффектами, а время и центр – фиксированными эффектами. Провели ретроспективный анализ и построили графики эффектов. Для проведения статистического анализа использовали программное обеспечение Jamovi 1.8.0.0 (Jamovi Project, Сидней, Австралия). Данные представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартного отклонения с 95% доверительным интервалом (ДИ). Статически значимым считали значение  $p < 0,05$ .

## Результаты

Исследование планировали провести на базе 10 клинических центров, в каждом из которых 10 пациентам должны были установить в общей сложности 20 имплантатов. Однако в одном центре не удалось включить в исследование ни одного пациента. Остальные 9 клинических центров были расположены в Италии (MT, FG, LM), Албании (EX), Болгарии (DE), Румынии (MG), Швейцарии (NW), Южной Африке (AdW) и Польше (LZ). Потенциальных участников оценивали на предмет соответствия критериям включения в исследование. В результате только в двух центрах (MT и EX) удалось включить в исследование 10 участников. Число участников, отобранных другими центрами, составляло: 9 пациентов (MG), 8 пациентов (NW и AdW), 6 пациентов (LM и LZ), 3 пациента (DE) и 2 пациента (FG).

Предварительно отобрали 91 пациента, однако в исследование последовательно включили только 62 из них (23 мужчины и 39 женщин). 29 пациентов не были допущены к участию в исследовании из-за частых визитов в клинику (18 пациентов) и необходимости в проведении направленной костной регенерации (11 пациентов). Один пациент выбыл из исследования на восьмой неделе в связи с утратой имплантата. Пациенту провели повторную имплантацию, однако он отказался принимать дальнейшее участие в исследовании. В 6 центрах в 22 случаях отклонились от изначального протокола исследования (см. табл. 1).

Средний возраст пациентов составлял  $52,1 \pm 14,3$  года, из них 66,1% не курили, 27,4% выкуривали до 10 сигарет в день, а 6,5% - более 10 сигарет в день. Пациентам было установлено в общей сложности 124 имплантата, по 62 имплантата с поверхностью SA и SOI. Распределение типоразмеров имплантатов по группам представлено на рис. 3. Во всех центрах у каждого пациента в области имплантатов SA и SOI использовали реставрации одного типа за исключением одного пациента (пациенту 2 в центре 3 установили одну коронку с винтовой фиксацией и одну коронку с цементной фиксацией). В обеих группах реставрации были изготовлены из одного материала. В группах SA и SOI использовали преимущественно реставрации с винтовой фиксацией (69,4% и 68,1%, соответственно), а 56,5% коронок в обеих группах были цельнокерамическими.

Таблица 1. Отклонения от оригинального протокола исследования

Центр	Отклонения от оригинального протокола исследования
Центр 1	Пациент 2: Измерения в области имплантата SA прекратили на 4-ю неделю (до 12-й недели) из-за подвижности имплантата (ISQ менее 55). Пациент 7: Измерения в области имплантата SOI прекратили на 3-ю неделю (до 12-й недели) из-за подвижности имплантата (ISQ менее 55). Пациент 9: Измерения в области имплантатов SA и SOI прекратили на 2-ю неделю на срок 6 недель из-за карантина в связи с пандемией COVID-19.
Центр 2	Отсутствовали
Центр 3	Пациент 2: Пациенту установили одну коронку с винтовой фиксацией и одну коронку с цементной фиксацией. Пациент 5: Измерения в области имплантатов SA и SOI прекратили на 2-ю неделю на срок 6 недель из-за карантина в связи с пандемией COVID-19. Пациент 6: Измерения в области имплантатов SA и SOI прекратили на 2-ю неделю на срок 6 недель из-за карантина в связи с пандемией COVID-19.
Центр 4	Отсутствовали
Центр 5	Не провели отбор пациентов для участия в исследовании.
Центр 6	Отсутствовали
Центр 7	Пациент 6: Измерения в области имплантата SOI прекратили в 1-ю неделю (до 12-й недели) из-за подвижности имплантата (ISQ менее 55). Пациент 1, 2, 3, 7 и 8: Измерение ISQ через 12 недель не проводили, так как на имплантатах уже были зафиксированы реставрации. Пациент 2: Измерения не проводили в период со 2-й по 5-ю неделю, поскольку пациент был в отпуске. Пациент 4 и 6: Измерения в области имплантатов SA и SOI не проводили в период с 1-й по 3-ю из-за карантина в связи с пандемией COVID-19. Пациент 5: Измерения прекратили через 1 неделю из-за выхода из строя аппарата IS3.
Центр 8	Пациент 6: Измерения в группе SOI прекратили на 3-ю неделю (до 12-й недели) из-за подвижности имплантата (ISQ менее 55).
Центр 9	Пациенты 1–7: Пациенты пропустили не менее одного контрольного осмотра по разным причинам, не связанным с исследованием (забыли о приеме, заболели, не смогли прийти в клинику из-за карантина в связи с пандемией COVID-19 и т.д.). Пациенты 5 и 6: Пациентам установили шинированные реставрации вместо одиночных коронок.
Центр 10	Пациент 2: Измерения в области имплантатов SA и SOI прекратили на 4-ю неделю на срок 2 недели из-за карантина в связи с пандемией COVID-19. Пациент 4: Измерения в области имплантатов SA и SOI прекратили на 6-ю неделю из-за карантина в связи с пандемией COVID-19. Реставрации зафиксировали через 9 месяцев после имплантации.

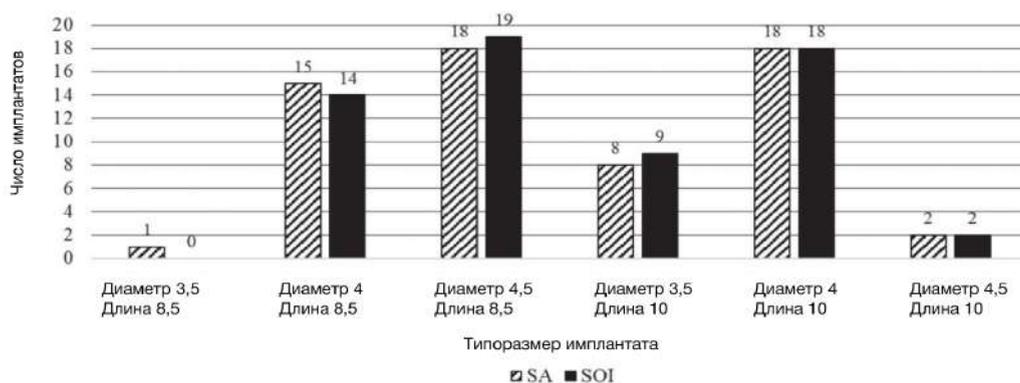


Рис. 3. Распределение типоразмеров имплантатов по группам

В течение периода наблюдения в группе SOI не был утрачен ни один имплантат. В группе SA было утрачено 2 имплантата между 3-й и 4-й неделями после установки (имплантаты были подвижны, жалобы на боль отсутствовали). Имплантаты удалили, после чего сразу же провели повторную имплантацию. Пациента из центра 7 регулярно приглашали на контрольные осмотры для наблюдения за имплантатом SOI. Пациент из центра 10 выбыл из исследования через 8 недель после имплантации. Разница в выживаемости имплантатов между группами не была статистически значимой ( $p = 0,5$ ). Ни один протез не был утрачен в течение 12-недельного периода наблюдения.

В ходе исследования было зарегистрировано пять осложнений: три в группе SA и два в группе SOI. В центрах 1, 7 и 8 в общей сложности четыре имплантата (по 2 имплантата из каждой группы) характеризовались незначительной горизонтальной подвижностью без прокручивания. Подвижные имплантаты перекрывали мягкими тканями. Через 12 недель все имплантаты успешно остеоинтегрировались, и на них зафиксировали реставрации в соответствии с протоколом исследования. Через 8 недель после протезирования выявили ослабление ортопедического винта в группе SA (центр 3). Статистический анализ с применением модели со смешанными эффектами свидетельствует об отсутствии статистически значимой разницы между группами в количестве осложнений: ОШ = 0,66, 95% ДИ: 0,11–4,07;  $p = 0,65$ .

Результаты измерений ISQ представлены в табл. 2. Исходные средние значения ISQ составляли  $76,57 \pm 7,54$  (95% ДИ: 74,69–78,44) в группе SA и  $75,92 \pm 7,69$  (95% ДИ: 73,89–77,73) в группе SOI. Средние значения ISQ через 12 недель возросли до  $79,17 \pm 7,83$  (95% ДИ: 77,03–81,29) и  $78,82 \pm 8,80$  (95% ДИ: 76,42–81,21) в группах SA и SOI соответственно. Модель со смешанными эффектами выявила статистически значимую разницу между группами с течением времени; при этом зарегистрированные значения ISQ были несколько ниже в группе SOI (-0,65; 95% ДИ от -1,14 до -0,15; см. табл. 3). В ходе исследования также анализировали различия между клиническими центрами ( $p < 0,001$ ). График эффектов с течением времени представлен на рис. 4.

Таблица 2. Изменение ISQ с течением времени

		SA	SOI
	N	62	62
УИ	Среднее значение ISQ (CO)	76,57 (7,54)	75,92 (7,69)
	N	60	59
Через 1 неделю	Среднее значение ISQ (CO)	75,63 (8,96)	75,24 (8,52)
	N	57	57
Через 2 недели	Среднее значение ISQ (CO)	75,05 (8,75)	74,22 (9,1)
	N	51	49
Через 3 недели	Среднее значение ISQ (CO)	75,35 (9,63)	74,97 (9,21)
	N	53	52
Через 4 недели	Среднее значение ISQ (CO)	74,78 (9,3)	74,27 (9,21)
	N	48	48
Через 5 недели	Среднее значение ISQ (CO)	76,04 (9,78)	75,59 (8,3)
	N	49	49
Через 6 недели	Среднее значение ISQ (CO)	76,89 (9,34)	76,13 (9,36)
	N	47	48
Через 7 недели	Среднее значение ISQ (CO)	77,47 (9,95)	77,17 (9,97)
	N	53	53
Через 8 недели	Среднее значение ISQ (CO)	78,79 (8,51)	78,4 (9)
	N	52	52
Через 12 недели	Среднее значение ISQ (CO)	79,17 (7,83)	78,82 (8,8)

УИ – установка имплантата; ISQ – коэффициент стабильности имплантата; CO – стандартное отклонение

Таблица 3. Разница в значении ISQ между группами с течением времени (оценка фиксированных эффектов)

Доверительный интервал 95 %								
Название	Эффект	Оценка	Стандартная ошибка	Нижняя граница	Верхняя граница	Степени свободы	T	P
(intercept)	(intercept)	76,37	0,97	74,47	78,27	61,48	78,85	< 0,001
Группа	SOI-SA	-0,65	0,25	-1,14	-0,15	989,84	-2,65	0,011
Временная точка 1	1 - 0	-0,80	0,53	-1,84	0,23	991,51	-1,52	0,002
Временная точка 2	2 - 0	-1,64	0,54	-2,69	-0,59	992,32	-3,07	0,002
Временная точка 3	3 - 0	-1,42	0,56	-2,52	-0,33	992,68	-2,55	0,011
Временная точка 4	4 - 0	-1,57	0,55	-2,64	-0,49	992,61	-2,85	0,004
Временная точка 5	5 - 0	-0,35	0,56	-1,46	0,76	992,65	-0,62	0,535
Временная точка 6	6 - 0	0,27	0,56	-0,83	1,37	992,66	0,48	0,631
Временная точка 7	7 - 0	0,95	0,57	-0,16	2,06	992,56	1,69	0,092
Временная точка 8	8 - 0	2,4	0,55	1,33	3,47	992,37	4,39	< 0,001
Временная точка 9	12 - 0	3,44	0,55	2,37	4,52	992,37	6,26	< 0,001

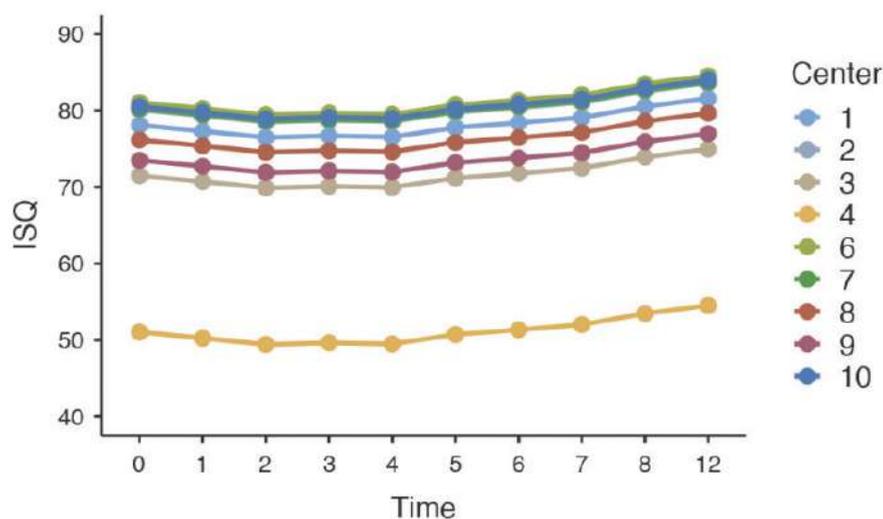


Рис. 5. График эффектов для значений ISQ с течением времени в разных центрах

## Обсуждение

Целью настоящего рандомизированного контролируемого исследования является получение предварительных данных о клинической эффективности и коэффициенте стабильности имплантатов TSIII с поверхностью SA, модифицированной буферным агентом pH (SOI), по сравнению с имплантатами с обычной поверхностью SA при устранении одиночных дефектов зубного ряда с помощью одиночных коронок. Исследование проводили по принципу разделенного рта. Полученные результаты свидетельствуют о наличии статистически значимой разницы в значении ISQ между группами, что позволило отвергнуть нулевую гипотезу. В то же время следует отметить, что разница между группами не превышала 0,65 и не была клинически значимой.

При попарном сравнении результатов (ISQ), полученных в разных центрах, в ряде случаев выявили статистически значимую разницу. Она может быть обусловлена различиями в числе пациентов, проходивших лечение в каждом центре, неодинаковой первичной стабильностью имплантатов и нюансами при выполнении хирургических манипуляций. Помимо типоразмера имплантатов и хирургического протокола (которые были одинаковыми во всех центрах) коэффициент стабильности имплантата зависит от ряда других факторов, включая качество и объем костной ткани. Это вызывает некоторые сомнения в клинической значимости ISQ для быстрой оценки стабильности имплантата.

В ходе периода наблюдения было утрачено только 2 имплантата. Оба имплантата относились к группе SA и были утрачены через 3–4 недели после установки. Все имплантаты в группе SOI успешно остеоинтегрировались. Разница между группами не была статистически значимой, что указывает на то, что оба типа имплантатов совместимы с протоколом раннего протезирования. В то же время через 3–4 недели после имплантации выявили подвижность еще 4 имплантатов (по 2 в каждой группе): их перекрыли мягкотканым лоскутом, после чего они успешно остеоинтегрировались. Двухэтапный протокол установки не является обязательным условием успешной остеоинтеграции, однако, по мнению авторов, следует избегать повторного отвинчивания формирователя десны на раннем этапе заживления. В данном случае повторная фиксация абатмента была обусловлена исключительно исследовательскими целями.

Одним из основных ограничений данного исследования является небольшой размер выборки; запланированный размер выборки не был достигнут, поэтому мощность исследования может быть недостаточной для проверки гипотезы.

Ряд измерений не был проведен из-за карантина в связи с пандемией COVID-19. Следует отметить, что аналогичные измерения не были выполнены в обеих группах, поскольку исследование проводили по принципу разделенного рта. Другим ограничением настоящего исследования является короткий период наблюдения. Тем не менее, основной целью данной публикации было описание тенденции в изменении стабильности имплантатов обоих типов в течение периода остеоинтеграции.

В настоящее время свойства биоактивных поверхностей являются одной из популярных исследовательских тем в дентальной имплантологии, однако число клинических исследований ограничено – большая часть научной литературы представлена экспериментами на животных. Этические ограничения не позволяют проводить гистологический анализ в рамках клинических исследований, однако результаты исследований *in-vitro* и экспериментов на животных свидетельствуют о том, что модифицирование поверхности имплантата может ускорить остеоинтеграцию на раннем этапе заживления. Тем не менее, результаты настоящего предварительного исследования согласуются с выводами ранее опубликованного систематического обзора и рандомизированного контролируемого исследования, согласно которым между обычной и модифицированной поверхностями имплантатов отсутствует статистически значимая разница.

Целью модифицирования поверхности имплантата является стимулирование контактного остеогенеза в области имплантата для ускорения остеоинтеграции на раннем этапе заживления. В ходе настоящего исследования имплантаты устанавливали в зажившую кость: все имплантаты были по периметру окружены костной тканью и характеризовались высокой первичной стабильностью. Поскольку выполнение гистологического анализа не представляется возможным по этическим причинам, необходимы дальнейшие рандомизированные контролируемые исследования для оценки эффективности имплантатов с модифицированной поверхностью при наличии зазора между поверхностью имплантата и стенками ложа или низком качестве костной ткани.

---

## Обсуждение

Несмотря на ограничения настоящего исследования, было установлено, что имплантаты с поверхностью, модифицированной буферным агентом pH (SOI), позволяют проводить эффективное раннее протезирование при устранении одиночных дефектов зубного ряда. В то же время они не имеют существенных преимуществ перед имплантатами с обычной поверхностью, прошедшей пескоструйную обработку и травление кислотой (SA). Чтобы подтвердить или опровергнуть предварительные результаты необходимы дальнейшие исследования.



**OSSTEM<sup>®</sup>**  
**IMPLANT**

ООО "Осстем" Россия, г. Москва, пр. Андропова 18/7  
Тел.: 8-495-739-99-25 | E-mail: [info@osstem.ru](mailto:info@osstem.ru) | [www.osstem.ru](http://www.osstem.ru)