

Давыдова Татьяна Рифовна

**Применение наkostных титановых конструкций с
наноструктурированным покрытием в комплексном лечении пациентов с
переломами нижней челюсти
(экспериментально-клиническое исследование)**

14.01.14 – Стоматология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва - 2021

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

член-корреспондент РАН,
доктор медицинских наук, профессор

Иванов Сергей Юрьевич

Официальные оппоненты:

Лепилин Александр Викторович – заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, заведующий кафедрой

Мураев Александр Александрович – доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, кафедра челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии, профессор кафедры

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского»

Защита диссертации состоится «16» сентября 2021 года в 13:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.07 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр.2

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Zubovskiy bulvar, d.37/1 и на сайте организации: <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2021г.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент



Дикопова Наталья Жоржевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Одной из актуальных проблем в челюстно-лицевой хирургии остаются травматические повреждения костей лицевого скелета (Самуткина М.Г., 2013; Байриков И.М., 2013). В мирное время переломы костей лицевого скелета встречаются достаточно часто и составляют 3%-8% от общего количества переломов костей скелета. Такие особенности, как отсутствие защиты нижней челюсти другими костями лицевого скелета, ее выдвинутое положение, дугообразная форма и подвижность являются причиной того, что более 50% переломов костей лицевого скелета приходится на нижнюю челюсть. У взрослых пациентов среди переломов костей лицевого скелета переломы нижней челюсти составляют 70-85% (Петров Ю.В., 2012; Байриков И.М., 2013; Sawatari Y., 2010; Kokemueller H., 2012).

Согласно аналитическому обзору Воробьева А.А. и коллег, в РФ переломы нижней челюсти чаще возникают вследствие межличностного насилия (13-63,03%), дорожно-транспортных происшествий (2,72-56%), несчастных случаев (24%), бытовой травмы (26,21%). Вследствие большей физической активности среди травмированных отмечается преобладание мужчин (81.2%), по сравнению с женщинами (18,7%). Переломы нижней челюсти чаще встречаются у мужчин (59,4-90,5 %) трудоспособного возраста (от 16 до 59 лет). Пациенты с переломами нижней челюсти в 40,4% случаев нуждаются в хирургическом лечении. Продолжительность стационарного лечения и временной нетрудоспособности при переломах челюстей зависит от возраста пациента, характера и локализации перелома, сроков обращения, правильно выбранного способа фиксации отломков и других факторов. Ориентировочные сроки временной нетрудоспособности при переломах нижней челюсти без смещения составляют 28-30 дней, при переломах со смещением – 30-45 дней (Салеев Р.А., Горячев Н.А., Горячев Д.Н., 2017). Все вышеперечисленное указывает на экономическую, социальную и медицинскую значимость решения проблемы комплексного лечения переломов нижней челюсти.

В настоящее время в клинической практике получил достаточное распространение и широко применяется остеосинтез нижней челюсти с использованием различных систем на костных пластин из титана. Пластины, винты и другие фиксаторы из титана обладают сочетанием хороших прочностных характеристик и биоинертности. При обычных условиях на поверхности титана в результате окисления появляется тонкая пленка аморфного диоксида титана, обладающая биоинертными свойствами, но существуют различные кристаллические модификации диоксида титана. Кристаллическая структура диоксида титана анатаз обладает биоактивными свойствами (Алехин А.П. и Маркеев А.М., 2015). В последние десятилетия глубокие фундаментальные исследования в области регенеративных процессов в организме и развитие высокотехнологических производств дают возможность производителям различных

медицинских изделий для ортопедии и челюстно-лицевой хирургии влиять на физико-химические и биомеханические свойства поверхностных слоёв у различных имплантируемых материалов и фиксирующих металлоконструкций. Изменения модификации шероховатости, толщины оксидных покрытий, электретенных процессов на поверхности титановых конструкций, оказывают влияние на процессы остеорегенерации в зоне дефекта (Лясникова А.В., 2006; Иванов С.Ю. с соавт., 2004; Кулаков А.А. с соавт., 2006, 2008).

Степень разработанности темы исследования

По изучению морфологии наноструктурированных материалов на основе диоксида титана, исследованию их свойств, разработке технологии получения проведено несколько исследований. В частности, разработке и оптимизации материалов на основе наноразмерного диоксида титана структуры анатаз и конструкций для ортопедического этапа лечения пациентов с переломами нижней челюсти и приобретенными дефектами челюстных костей посвящено исследование Шулятниковой О.А. (2017). В работе предложен способ получения по оригинальной авторской технологии наноразмерного порошка и функционального наноструктурированного покрытия на основе диоксида титана, получены данные о биологической совместимости, отсутствии общетоксического действия и наличии остеоиндуктивных свойств такого покрытия. Постоянно продолжается поиск новых способов и процессов нанесения наноструктурированных покрытий с заданными свойствами в производственном масштабе. Для решения поставленной проблемы компания «Конмет» совместно с МФТИ провела научно-исследовательскую работу по выбору методов модификации имплантантов. В ходе научных исследований изучено биоактивное покрытие для имплантантов из диоксида титана с кристаллической структурой анатаз, получаемое методом атомно-слоевого осаждения. При помощи этого метода на поверхности имплантата создается покрытие с биоактивностью, низким изoeлектрическим потенциалом, фотокаталитическими свойствами, высокой гидрофильностью, что способствует адгезии фибробластов, синтезу специфических белков и факторов роста, что в итоге позволяет стимулировать процессы остеогенеза и костной регенерации (Алехин А.П., Маркеев А.М., Гудкова С.А., Тетюхин Д.В., Козлов Е.Н., 2015). Работ, посвященных экспериментальному обоснованию и возможности применения наконстных фиксаторов с наноструктурированным покрытием из диоксида титана структуры анатаз полученного методом атомно-слоевого осаждения при проведении остеосинтеза у пациентов с переломами нижней челюсти, нами не встречено.

Цель исследования

Экспериментально-клиническое обоснование применения наконстных титановых конструкций с наноструктурированным покрытием для повышения эффективности лечения пациентов с переломами нижней челюсти.

Задачи исследования

1. В лаборатории провести морфологическое исследование титановых конструкций с различными модифицированными поверхностями.
2. Провести изучение биологических свойств титановых конструкций с различными модифицированными поверхностями *in vitro*.
3. В эксперименте *in vivo* провести сравнительный анализ гистоморфологических изменений костной ткани, возникающих при применении титановых конструкций с различными модифицированными поверхностями.
4. Обосновать клиническое использование на костных титановых конструкций с наноструктурированным покрытием из диоксида титана структуры анатаз для остеосинтеза.
5. Внедрить в клиническую практику и оценить эффективность применения на костных титановых конструкций с наноструктурированным покрытием при проведении остеосинтеза у пациентов с переломами нижней челюсти.

Научная новизна

1. Доказано отсутствие цитотоксического воздействия на костных титановых конструкций с наноструктурированным покрытием из диоксида титана структуры анатаз.
2. Изучены особенности репаративной регенерации костной ткани при использовании титановых конструкций с различными модифицированными поверхностями.
3. Обосновано использование на костных титановых конструкций с наноструктурированным покрытием из диоксида титана структуры анатаз для остеосинтеза в клинике.

Практическая значимость исследования

При изучении титановых конструкций с различными модифицированными поверхностями в лабораторных экспериментах получены данные об отсутствии цитотоксичности, наличии фибро- и остеointegrативных свойств на костных титановых конструкций с наноструктурированным покрытием из диоксида титана структуры анатаз. Выше перечисленные положительные результаты изучения фиброинтегративных и остеointegrативных свойств на костных титановых конструкций с наноструктурированным покрытием из диоксида титана структуры анатаз позволили успешно применить их в клинической практике при лечении пациентов с переломами нижней челюсти. В клиническую практику внедрено применение на костных титановых конструкций с наноструктурированным покрытием при проведении остеосинтеза у пациентов с переломами нижней челюсти.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Экспериментальные исследования показали отсутствие цитотоксического воздействия титановых конструкций с наноструктурированным покрытием из диоксида титана структуры анатаз.

2. Экспериментально-морфологические исследования зоны контакта титановых конструкций с наноструктурированным покрытием из диоксида титана структуры анатаз и костной ткани свидетельствуют о высоком интеграционном потенциале поверхности, превалировании процессов остеоиндукции и остеорегенерации.

3. Применение пластин из титана с наноструктурированным биологически активным покрытием как средство фиксации костных отломков способствует первичному сращению перелома с возможностью ранней функциональной нагрузки.

Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации

Автор непосредственно участвовала в выборе направления исследования, отборе и группировке пациентов в исследовании, самостоятельно проводила обследование и лечение пациентов. Провела анализ материалов лабораторно-экспериментального, морфологического исследования. Вклад автора заключается в личном участии на всех этапах исследования – от планирования работы, проведения поиска и анализа литературы по теме диссертации, постановки цели и задач, их теоретической и практической реализации, анализа и интерпретации полученных данных до обсуждения результатов в научных публикациях и докладах.

Внедрение в практику

Разработанные методы комплексного лечения больных с переломами нижней челюсти с использованием при проведении остеосинтеза титановых пластин с наноструктурированным покрытием из диоксида титана структуры анатаз внедрены в лечебный процесс отделения челюстно-лицевой хирургии УКБ №4 ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Научно-практические положения диссертации используются в лекционном курсе, практических и семинарских занятиях со студентами, клиническими ординаторами на кафедре челюстно-лицевой хирургии имени академика Н.Н.Бажанова Института стоматологии имени Е.В.Боровского ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Апробация диссертации

Материалы диссертации доложены на: VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Остеосинтез лицевого черепа». Москва - 20-21 октября 2016; XXXV Всероссийской научно-практической конференции СТАР «Актуальные проблемы стоматологии». Москва - 18-19 апреля 2016; симпозиуме «Современные подходы, тенденции и достижения при лечении пациентов с травматическими повреждениями лица и шеи»

в рамках XLI Всероссийской научно-практической конференции СТАР «Актуальные проблемы стоматологии». Москва - 22 апреля 2019; VII Международном междисциплинарном конгрессе по заболеваниям органов головы и шеи. Москва - 28-31 мая 2020.

Апробация диссертации проведена 26.02.2020 года на заседании кафедры челюстно-лицевой хирургии имени академика Н.Н.Бажанова Института стоматологии имени Е.В.Боровского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Публикации

По материалам исследования опубликовано 4 печатные работы в 4 журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, из них 3 в международной реферативной базы данных Scopus, получено 2 патента на полезную модель.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует формуле специальности: 14.01.14 - Стоматология. Стоматология - это область науки, занимающаяся изучением этиологии, патогенеза основных стоматологических заболеваний, разработкой методов их профилактики, диагностики и лечения. Одной из областей исследований в стоматологии является изучение проблем хирургической стоматологии с разработкой методов диагностики и лечения заболеваний челюстно-лицевой области.

Структура диссертации

Диссертация написана на 103 страницах компьютерного текста, состоит из четырех глав, введения, обзора литературы, лабораторных экспериментальных и собственных клинических исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы. Иллюстрирована 53 рисунками, фотографиями и рентгеновскими снимками, 4 таблицами. Библиография содержит 107 источников, из них 53 - отечественных, 54 - зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные методы исследования

Исследовались титановые пластины в количестве 5 штук толщиной 0,5 мм. Пластины имели разнообразную форму: прямая, С –образная, Т –образная, Х-образная, L-образная. Диаметр отверстий под винты составлял 1,5 мм. Покрытие пластин представлял послойно нанесенный методом атомно-слоевого осаждения диоксид титана структуры анатаз. Для проведения лабораторно-экспериментального исследования были изготовлены титановые диски (Рисунок 1). Объектом исследований в настоящей работе явились образцы из титанового сплава Ti6Al4V в виде дисков диаметром 5 мм и толщиной 1 мм с различной обработкой поверхности:

1. Титановый медицинский сплав Ti6Al4V (ГОСТ 19807-91) с покрытием TiO₂ -100А, полученный методом атомно-слоевого осаждения (АСО), полированная поверхность;

2. Титановый медицинский сплав Ti6Al4V (ГОСТ 19807-91) с покрытием TiO₂ -100А, полученный методом атомно-слоевого осаждения (АСО) с поверхностью пескоструированной обработки;

3. Титановый медицинский сплав Ti6Al4V (ГОСТ 19807-91) без покрытия, полированная поверхность;

4. Титановый медицинский сплав Ti6Al4V без покрытия, с поверхностью пескоструированной обработки.



Рисунок 1 – Титановые образцы

Атомно-слоевое осаждение (АСО) -это метод нанесения тонких пленок на поверхность детали путем последовательной подачи на поверхность прекурсоров (реагентов). Они, взаимодействуя друг с другом, образуют необходимый для покрытия материал, который закрепляется на поверхности детали. За один цикл на поверхности детали образуется слой пленки толщиной в одну молекулу. Регулирование внешних условий, в которых происходит реакция (температура, давление, магнитное поле), позволяет получать покрытие с различной заданной структурой или кристаллической решеткой.

Металлографические исследования титановых образцов

Металлографические исследования представляют собой комплекс испытаний и аналитических мероприятий, направленных на изучение микроструктуры металлов, механических, электрических и других свойств металлов и их сплавов. Изучение структуры поверхности имплантатов (титановых образцов) проводили на специальном инвертированном металлографическом системном микроскопе OLYMPUS GX-51 (OLYMPUS, Япония), производили фотографирование поверхности изделия с увеличением от 50 до 1000, определяли микроструктуру поверхностного слоя, наличие различных фаз в металле, неметаллических включений, микродефектов.

Исследование микрошероховатостей методом сканирующей зондовой микроскопии

Сканирующая зондовая микроскопия (СЗМ) основана на использовании механического зонда для получения увеличенных изображений поверхности. Этим методом можно получать трехмерное изображение с субнанометровым разрешением и изучать топографию поверхности – шероховатость, размер частиц на поверхности. Структуру поверхностей титановых образцов исследовали сканирующим зондовым микроскопом, обладающим высоким пространственным разрешением: нанометровое разрешение в горизонтальной плоскости (плоскости сканирования) и субнанометровое в вертикальной плоскости. Измерение шероховатостей поверхности изучаемых образцов проводилось на профилометре Alpha-Step IQ Surfaceprofiler ASIQ фирмы KLA-Tencor (США), позволяющем измерять микрошероховатость с разрешением до 0,1 нм как на коротких дистанциях сканирования, так и при сканированиях на длинах до 10 мм. Шероховатость поверхности образца определялась как совокупность неровностей на профиле поверхности.

Исследование культуральных свойств фибробластов кожи на титановых образцах

Перед использованием изучаемые титановые образцы стерилизовали в автоклаве при температуре 120°C в течение 1 часа. Стерильные образцы помещали на дно лунки 48-луночного планшета, сверху раскапывали суспензию кожных фибробластов (по 20 тыс. клеток/лунка). Фибробласты культивировали на изучаемых образцах в течение 72 часов в CO₂ инкубаторе. Морфологию фибробластов изучали при помощи фазово-контрастной микроскопии. Для оценки цитотоксичности изучаемых образцов применяли МТТ-тест. А также препараты изучали при помощи сканирующего электронного микроскопа.

Экспериментальные методы исследования остеointегративных биологических свойств титановых конструкций с различными модифицированными поверхностями *in vivo*

Для исследования были использованы образцы в виде титановых дисков диаметром 5 мм толщиной 1 мм.

- 1) подвергшиеся пескоструйной обработке без покрытия,
- 2) подвергшиеся пескоструйной обработке с покрытием из диоксида титана структуры анатаз,
- 3) полированные без покрытия,
- 4) полированные с покрытием из диоксида титана структуры анатаз,

В качестве контрольного материала подшивался образец с немодифицированной поверхностью.

Эксперимент проводился на лабораторных животных. В исследовании участвовали 30 кроликов породы шиншилла (возраст 8 месяцев, масса $2,5 \pm 250$ г) карантинизированных, содержавшихся в стандартных условиях. Животные были распределены на 5 групп, в соответствии с образцами титановых конструкций, применяемых в эксперименте.

Группа 1 (6 кроликов). Титановые диски с полированной поверхностью.

Группа 2 (6 кроликов). Титановые диски с полированной поверхностью и покрытием из диоксида титана структуры анатаз.

Группа 3 (6 кроликов). Титановые диски с пескоструированной поверхностью.

Группа 4 (6 кроликов). Титановые диски с пескоструированной поверхностью и покрытием из диоксида титана структуры анатаз.

Группа 5 (6 кроликов). Титановые диски со структурой титановой поверхности серийного производства.

Под многокомпонентной общей анестезией (изофлуран в концентрации 2 % с зоветилом в дозе 15 мг/кг) выполняли открытый доступ разрезом до 3 см в области угла нижней челюсти, скелетировали костную ткань. На кости фрезой выполняли круглую насечку диаметром 5 мм глубиной до 2 мм. В нее укладывали металлоконструкцию. Имплантат фиксировали под надкостницу двумя лигатурами кетгут 4/0. Рану послойно ушивали. Через 30 суток все животные были выведены из эксперимента. Материал оценивали макроскопически и микроскопически. Макроскопически оценивали формирование костной мозоли в области насечки на нижнечелюстной кости, а также сращение изучаемого образца с костной и мягкими тканями. Аккуратно отделяли изучаемый образец от сформировавшегося костного ложа, производили три параллельных среза перпендикулярно оси органа в непосредственной близости от костного ложа. Предварительно фиксацию материала производили в 10% растворе формалина. Образцы, предназначенные для исследования с помощью сканирующего электронного микроскопа, после промывания в дистиллированной воде проводили по растворам ацетона восходящей крепости от 50 до 100%. Для исследования эффективности фибро- и остеоинтеграции имплантатов проводили подготовку препаратов по определенной методике: высушивание и катодное напыление в среде аргона в установке BAL-TEC SCD 005, влажные препараты, охлаждались до -30°C на приставке Deben Coolstage. Далее исследование подготовленных препаратов проводили методом сканирующей электронной микроскопии на сканирующем электронном микроскопе LEO-1430VP (Carl Zeiss, Германия) с применением детектора вторичных электронов (SE1) при работе с высушенными образцами и высокочувствительного полупроводникового детектора обратно-рассеянных электронов (4QBSD) при работе с влажными препаратами. В обоих случаях использовалось ускоряющее напряжение в 20 kV и рабочее расстояние до препаратов 9 мм.

Морфометрические измерения для каждого случая проводили в трех полях. Основными тканевыми структурами, претерпевающими эволюцию в процессе адаптации в области контакта, и отражающими своим развитием темпы и качество интеграционных процессов, являются соединительная и костная ткань. В связи с вышесказанным оценку интеграционных процессов в области контакта проводили по ряду изложенных ниже критериев. Образования волокнистых структур по площади и степень зрелости были классифицированы по уровням:

1- коллагеновые волокна фиксированы и занимают спорадически незначительные участки (до 30% поверхности); по стадии зрелости представляют собой лишь преколлагеновые волокна;

2- соединительная ткань, встречается в виде небольших участков вблизи поверхности титановых дисков (31-50% поверхности); появляются отдельные пучки коллагеновых фибрилл; превалируют пучки зрелых коллагеновых волокон;

3- коллагеновые волокна встречаются практически по всей площади экспериментальных дисков (51-100% поверхности), на протяжении всего сечения имплантационного ложа и характерные для данного состояния коллагеновых волокон появляются костные балки.

Клиническое исследование

С 2017 год по 2019 год в отделении челюстно-лицевой хирургии Университетской Клинической больницы №4 Первого МГМУ им. И.М. Сеченова обследовано 96 пациентов с переломами нижней челюсти, из них 74(77,1%) мужчины и 22(22,9%) женщины в возрасте от 17 до 64 лет (средний возраст $32.9 \pm 9,5$ лет). Все пациенты находились в трудоспособном и социально активном состоянии.

В ходе диагностики выявляли жалобы, проводили сбор данных анамнеза травмы, анамнеза жизни, фиксировали наличие сопутствующей патологии, оценивали общий и стоматологический статусы.

Проводились лабораторные методы обследования: общий анализ крови, биохимический анализ крови, коагулограмма, группа крови и резус-фактор, исследование на ВИЧ, гепатиты В и С, сифилис, общий анализ мочи. Для объективной оценки характера перелома, смещения костных фрагментов использовались лучевые методы обследования – ортопантомограмма, рентгенография костей черепа в прямой и боковой проекции, компьютерная томография. Рентгенодиагностика выполнялась всем пациентам при поступлении с целью определения локализации и характера перелома для выбора оптимальной тактики лечения, после репозиции и иммобилизации нижней челюсти, а также для контроля качества проведенного оперативного вмешательства и динамики репаративного процесса после хирургического лечения через 1, 4, 6 и 12 месяцев.

При поступлении всем 96 пациентам было выполнено бимаксиллярное шинирование и межчелюстная фиксация с помощью резиновых тяг. После проведения контрольного рентгенологического обследования при наличии смещения фрагментов нижней челюсти оперативное вмешательство провели 79 пациентам: 49 – металлоостеосинтез нижней челюсти с использованием на костных титановых конструкций (мини-пластин) без покрытия, 30 – металлоостеосинтез нижней челюсти с использованием титановых конструкций (мини - пластин) с покрытием из диоксида титана структуры анатаз.

Методы статистической обработки данных

Статистическая обработка данных выполнена в системе Windows, Microsoft Office 2016, с помощью приложения Excel, программы Medstatistica 6.0 и онлайн калькулятора по медицинской статистике. Выполнена проверка нормальности распределения, применялся коэффициент статистической достоверности p , критерий Стьюдента t для неравных выборок, критерий Хи-квадрат Пирсона с поправкой на непрерывность Йейтса для анализа полученных результатов исследования.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты лабораторного морфологического исследования на костных титановых конструкциях с различными модифицированными поверхностями

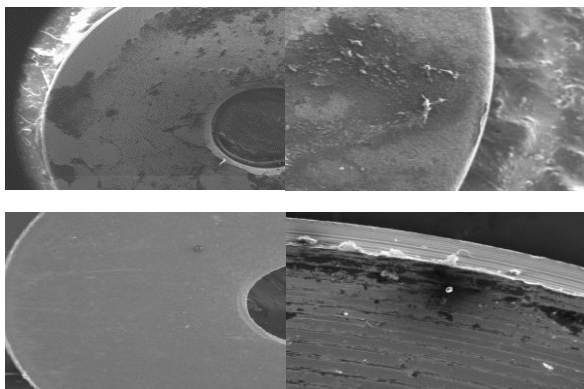


Рисунок 2 – Фотографии поверхностей исследуемых образцов полученные при помощи микроскопа OLYMPUS GX-51 с увеличениями от 50 до 1000

Небольшое увеличение позволяло получить общий вид, реальную геометрию исследуемого образца, места расположения механических и иных повреждений, а при больших увеличениях уточняли вид и характер этих повреждений. На следующем этапе металлографического процесса изучали структуру поверхности, выявляли неметаллические включения, поры, трещины.

Результаты изучения поверхности титановых образцов при помощи сканирующей зондовой микроскопии представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Разброс данных по измерениям на профилометре Alpha-Step IQ Surfacesprouer ASIQ шероховатостей поверхности образцов с различной обработкой

Характеристика поверхности образца*	Средняя шероховатость $W_{a, \text{нм}}$	Средне-квадратичная шероховатость $W_{q, \text{нм}}$	Максимальная высота пиков $W_{p, \text{нм}}$	Максимальная глубина впадин $W_{v, \text{нм}}$	Высота профиля $W_t, \text{нм}$
Пескоструйная обработка	471-537	627-683	2030-2290	1772-2037	4096-4327
Пескоструйная обработка + биоактивное покрытие**	414-823	529-1053	1583-2732	1461-3379	3183-6111
Полировка	22,7-37,8	28,2-49,3	62,3-163,0	79,5-170,0	144,0-289,0
Полировка + биоактивное покрытие**	17,8-36,3	21,6-48,5	56,2-143,0	43,6-145,0	99,8-251,0

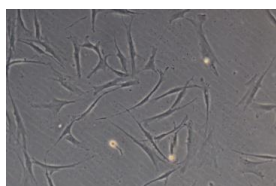
* Измерения шероховатостей поверхности каждого вида проводились на 2 образцах, на каждом образце измерения проводились на 3 участках.

** Применялось биоактивное покрытие из диоксида титана со структурой анатаз.

Из данных, представленных в Таблице 1, следует, что нанесение на поверхность после пескоструйной обработки биоактивного покрытия TiO_2 со структурой анатаз методом атомно-слоевого осаждения приводит к снижению нижней границы и повышению верхней границы разброса всех параметров шероховатости (W_a , W_q , W_p , W_v и W_t), т.е. поверхность становится более шероховатой. Нанесение биоактивного покрытия на полированную поверхность приводит к уменьшению как нижней, так и верхней границы разброса всех параметров шероховатости, т.е. поверхность сглаживается. Полученные результаты измерения шероховатостей поверхности исследуемых образцов свидетельствует о том, что пескоструйная обработка поверхности не обеспечивает высокой однородности и воспроизводимости в нанометровом диапазоне.

Результаты исследования биологических свойств титановых конструкций с различными модифицированными поверхностями *in vitro*

Морфологический анализ фибробластов кожи человека в присутствии титановых образцов не показал каких-либо изменений внешнего вида клеток по сравнению с контрольными клетками (Рисунок 3).



а



б

Рисунок 3 – Фазово-контрастная микроскопия культур кожных фибробластов. а – контрольные клетки. б – клетки, культивируемые в присутствии титанового образца. Объектив 10х

МТТ-тест показал, что ни один из используемых типов титановых образцов не оказывает цитотоксического действия на кожные фибробласты в культуре (Рисунок 4).

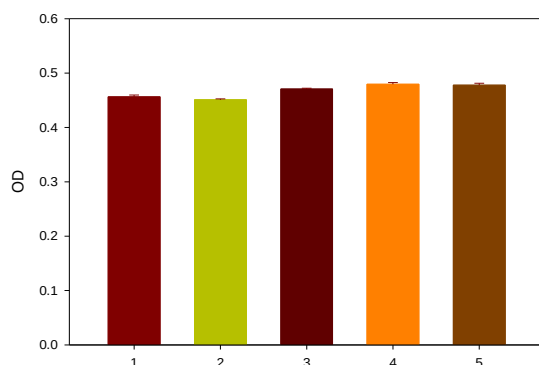


Рисунок 4 – МТТ-тест. Значения оптической плотности (OD) культуры кожных фибробластов после культивирования в присутствии титановых образцов. 1 - образец с пескоструйной обработкой и покрытием из диоксида титана, 2 - образец с пескоструйной обработкой, 3 - образец полированный с покрытием из диоксида титана, 4 - образец полированный, 5 - контрольные клетки, культивируемые без диска

Значения оптической плотности в присутствии образца с пескоструйной обработкой без покрытия несколько ниже по сравнению с другими образцами и контролем. Однако говорить о наличии значимого цитотоксического эффекта в данном случае неправомерно, так как снижение жизнеспособности клеток по сравнению с контролем весьма незначительное (Рисунок 5).

Жизнеспособность клеток рассчитывали по следующей формуле:

$$\frac{(OD + \text{образец} - OD \text{ blank})}{(OD \text{ контрольных клеток} - OD \text{ blank})} \times 100\%$$
, где OD blank – значения оптической плотности в лунках, содержащих раствор МТТ и диметилсульфоксида (ДМСО), но не содержащих клеток. OD контрольных клеток – значения оптической плотности в лунках с клетками без образцов.

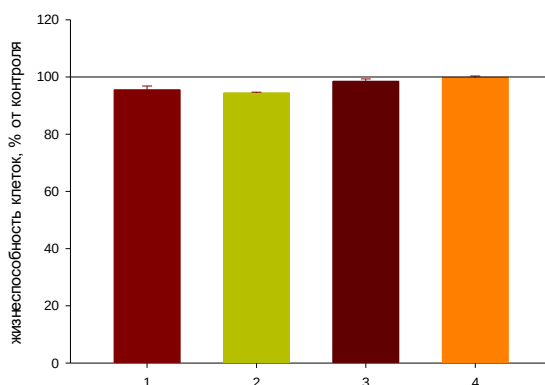


Рисунок 5 – МТТ-тест. Расчет жизнеспособности кожных фибробластов, культивируемых в присутствии четырех типов исследуемых образцов: 1 - образец с пескоструйной обработкой и покрытием из диоксида титана, 2 - образец с пескоструйной обработкой, 3 - образец полированный с покрытием из диоксида титана, 4 - образец полированный.

На Рисунке 5 жизнеспособность кожных фибробластов выражена в % от контроля, т.е. значения OD образцов с интактными клетками приняты за 100%. Жизнеспособность кожных фибробластов, культивируемых в присутствии образца с пескоструйной обработкой без покрытия из диоксида титана самая низкая и составляет $94 \pm 0,5\%$. Жизнеспособность клеток, культивируемых в присутствии образца с пескоструйной обработкой с покрытием из диоксида титана, выше и составляет $95,5 \pm 1,1\%$. Но разница между этими значениями не является статистически значимой. Также, как и разница между значениями для клеток, культивируемых в присутствии полированных образцов: $98,2 \pm 1,2\%$ для полированного образца с покрытием из диоксида титана и $99,7 \pm 0,5\%$ для полированного образца без покрытия.

Результаты исследования культуральных свойств фибробластов на различных модифицированных поверхностях с помощью метода сканирующей электронной микроскопии

Обязательными этапами при интеграции имплантатов в тканевую среду являются адгезия клеточных элементов, их поверхностно-пространственное распластывание и пролиферативный процесс с последующей дифференцировкой.

Изучены электронограммы поверхности образцов. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что чем больше шероховатость поверхности, тем больше степень адгезии клеточных элементов. Также на степень адгезии клеточных элементов влияет покрытие образцов диоксидом титана. Адгезия клеток на образцах с покрытием из диоксида титана выражена лучше, чем адгезия на поверхности образцов без покрытия. Целостность клеток и их функциональная активность также сохранены больше на пластинах с покрытием из диоксида титана. Электронограмма поверхности образца с пескоструйной обработкой и оксидированием представлена на Рисунке 6.

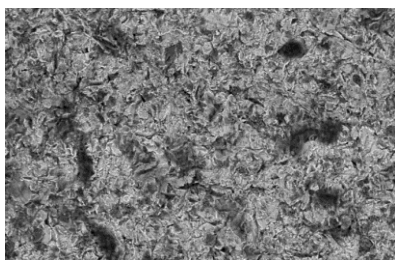


Рисунок 6 – Образец с пескоструйной обработкой с оксидированием. Ув. 300X, масштаб 20 нм

На поверхности образца наблюдается активное прикрепление клеток, многие из клеток распластаны, имеют вытянутую форму. Вокруг некоторых клеток - широкая зона гомогенного, либо мелкозернистого материала, продукта жизнедеятельности клетки (экстрацеллюлярный матрикс).

Результаты изучения особенностей остеointегративных биологических свойств титановых конструкций с различными модифицированными поверхностями в эксперименте *in vivo*

Образцы титановых дисков с полированной поверхностью (Рисунок 7, 8). В этой группе уже на малых увеличениях около поверхности имплантированного образца обнаруживалась прослойка грубоволокнистой соединительной ткани.

СЭМ. Полированные титановые диски, 30 суток.

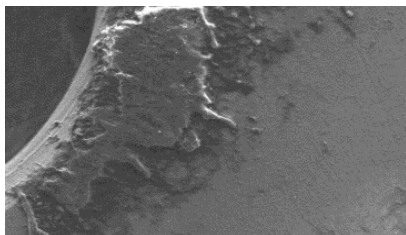


Рисунок 7 – В зоне контакта, наряду с клеточно-волокнуистым матриксом соединительной ткани, появлялись единичные островки новообразованной костной структуры

СЭМ. Полированные титановые диски с покрытием из диоксида титана.

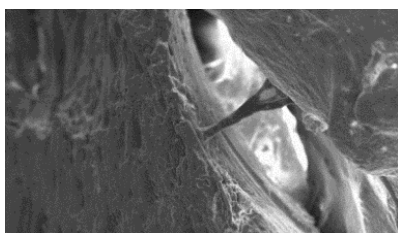


Рисунок 8 – Имплантат частично окружен костной тканью. Между костью и имплантатом нежно волокнистая основа

Образцы титановых дисков с пескоструированной поверхностью. В этой группе на малых увеличениях СЭМ создавалось впечатление о плотном соединении костной ткани с имплантатом (Рисунок 9, 10). На обзорных препаратах видно, что имплантат частично «вмурован» в кость. На больших увеличениях между костью и имплантатом обнаруживалась нежно волокнистая основа.

СЭМ. Пескоструированные титановые диски без покрытия, 30 суток.

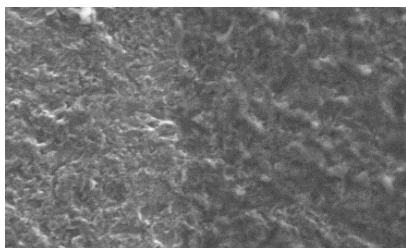


Рисунок 9 – Плотное прилегание и стабильное плотное соединение костной ткани с имплантатом

СЭМ. Пескоструированные титановые диски с покрытием диоксида титана, 30 суток.

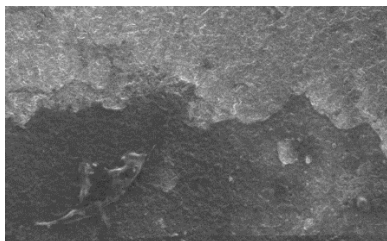


Рисунок 10 – На поверхности формируется нежная волокнистая соединительная ткань, видны островки, формирующихся остеогенных зон

СЭМ. Контрольный диск серийного производства, 30 суток.

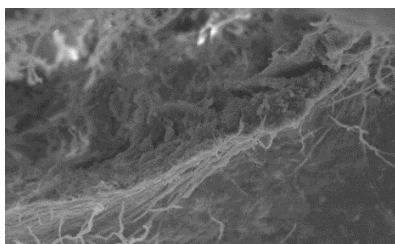


Рисунок 11 – В области контакта формируется слой рыхлой соединительной ткани от материнской кости

Все кролики были разделены на 5 групп по 6 кроликов в каждой, в зависимости от модификации поверхности имплантируемого титанового диска. На 30-ые сутки эксперимента оценивали состояние тканевых структур вокруг титановых дисков в зоне контакта поверхности диска и имплантационного ложа. Морфометрические измерения для каждого случая проводили в трех полях зрения. Результаты измерений представлены в Таблице 2.

Таблица 2 – Зависимость % площади диска, покрытой соединительной тканью, от способа обработки диска

Обработка поверхности диска	Площадь соединительной ткани			Критерий χ^2 по отношению к контролю
	до 30%	31-50%	51-100%	
Полированная	11	6	1	$p=0,935$
Полированная + анатаз	4	13	1	$p=0,023^*$
Пескоструированная	2	4	12	$p=0,00025^*$
Пескоструированная + анатаз	1	2	15	$p=0,000011^*$
Контрольная группа	12	5	1	—

* - различия достоверные

Как показало проведенное исследование, на 30 сутки эксперимента во всех группах наблюдений перимплантарная зона характеризуется наличием массива мелкоглыбчатого матрикса, межучасточного вещества, грубоволокнистой соединительной прослойки, с вплетением тонких волокон и отдельных пучков коллагеновых фибрилл. Следует заметить, при тщательном исследовании титановых образцов встречаются единичные участки плотной фиксации ложа костной ткани с поверхностью титанового диска.

При проведении экспериментального исследования *in vivo*, можно сделать вывод, что остеорегенераторные и интеграционные процессы на титановых конструкциях протекали в области контакта образцов и материнской костной ткани интенсивно. В зоне контакта костной ткани с полированными поверхностями признаки остеоинтеграции наблюдались в меньшей степени. Более выраженная склонность к остеоинтеграции выявлена в зоне контакта костной ткани и конструкции с пескоструированной поверхностью.

Результаты лечения больных с переломами нижней челюсти с использованием накостных титановых пластин без покрытия

Для сравнения результатов исследования проанализированы истории болезни 49 пациентов (42 (85,7%) мужчины и 7 (14,3%) женщин). Возраст пациентов в этой группе от 17 до 54 лет (средний возраст $31,18 \pm 8,36$ лет). У всех пациентов достоверно установлен диагноз: Перелом нижней челюсти. Произведено хирургическое лечение - остеосинтез нижней челюсти с помощью титановых мини-пластин и мини-винтов без покрытия, производства ООО «Конмет». В зависимости от локализации линии перелома, смещения костных фрагментов использовали титановые пластины различной формы. Послеоперационные швы снимали на 7-8 сутки, межчелюстную резиновую тягу на 24-30 сутки. Сроки иммобилизации составили в среднем $17,4 \pm 6,4$ суток. Комплексное лечение в послеоперационном периоде и включало в себя общую (антибактериальная терапия, по показаниям назначались нестероидные противовоспалительные, антигистаминные, анальгезирующие препараты) и местную терапию (обработку полости рта растворами антисептиков, обработку послеоперационной раны). После выписки из стационара контрольные осмотры проводились через 1 месяц, 6 и 12 месяцев, проводилось контрольное рентгенологическое обследование. Был произведен анализ жалоб, механизма и времени получения травмы, сроков обращения и госпитализации в челюстно-лицевой стационар, возникновение осложнений в раннем и позднем послеоперационном периодах, сроки возвращения к обычному режиму и восстановлению трудоспособности. Также проводили сравнение жалоб в дооперационном и послеоперационном периоде (Таблица 3). Стоит отметить, что и в отдаленном периоде пациенты отмечали симптомы, которые влияли на качество жизни: у 7 (14%) и 1 (2%) пациента отмечалось ограничение открывания рта, у 6 (12,3%) пациентов было

нарушение окклюзии, болевой синдром при открывании рта отмечался у 4 (8%) и 2 (4%) пациентов. При изучении контрольных рентгенограмм и данных мультиспиральной компьютерной томографии пациентов этой группы выявлены признаки остеопороза вокруг винтов и в области контакта титановых мини-пластин с поверхностью кости нижней челюсти (6 пациентов (12,2%)).

Таблица 3 – Распределение пациентов 1 группы в зависимости от жалоб и симптомов в до-и послеоперационном периоде через 6 и 12 месяцев после проведения металлоостеосинтеза нижней челюсти

Жалоба	До операции, чел	Через 6 месяцев, чел.		Через 12 месяцев, чел.	
		Жалобы есть	Жалоб нет	Жалобы есть	Жалоб нет
Ограниченное открывание рта	49 (100%)	7 (14%)	42 (86%)	1 (2%)	48 (98%)
Посттравматический отек мягких тканей	49 (100%)	0	0	0	0
Изменение конфигурации лица	49 (100%)	7 (14%)	42 (86%)	0	49 (100%)
Нарушение окклюзии	49 (100%)	6 (12,3%)	43 (87,7%)	0	49 (100%)
Боль при открывании рта	49 (100%)	4 (8%)	45 (92%)	2 (4%)	47 (96%)

**Результаты лечения больных с переломами нижней челюсти с использованием
накостных титановых пластин с покрытием из диоксида титана
структуры анатаз.**

В отделении челюстно-лицевой хирургии УКБ №4 Первого МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) проведено обследование и комплексное лечение 30 пациентов с переломами нижней челюсти с использованием титановых пластин с покрытием из диоксида титана структуры анатаз. Среди пациентов было 26 (86,4%) мужчин и 4 (13,3%) женщины в возрасте от 17 до 50 лет (средний возраст $31,2 \pm 6,78$ лет). Все пациенты вели социально активную жизнь, работали.

Обследование больных осуществлялось по общепринятой схеме: изучались жалобы, анамнез, оценивался общий и стоматологический статусы. Всем больным выполняли

клинические и биохимические исследования крови, мочи. Проводилось клинко-диагностическое обследование: электрокардиография, рентгенография грудной клетки, ортопантомография, рентгенография костей черепа в прямой проекции, МСКТ костей лицевого скелета. При наличии показаний производилась консультация невропатолога, терапевта, эндокринолога. На первом этапе лечения проводилось бимаксиллярное шинирование, назначался курс антибактериальной терапии для профилактики возможных воспалительных осложнений. Показанием к оперативному вмешательству являлось наличие перелома нижней челюсти со смещением костных фрагментов при невозможности устранить смещение консервативными методами. После проведения контрольного рентгенологического обследования после шинирования при наличии сохраняющегося смещения костных фрагментов нижней челюсти, пациентам проводилось оперативное лечение в объеме репозиция, металлоостеосинтез нижней челюсти с фиксацией на костной титановой пластинкой с наноструктурированным покрытием из диоксида титана структуры анатаза.

С момента госпитализации и до 5-7 суток после металлоостеосинтеза проводилась комплексная антибактериальная, гипосенсибилизирующая, обезболивающая терапия. Послеоперационные швы снимали в плановом порядке на 7-ые сутки после проведенного оперативного вмешательства. Резиновые тяги на 10-12 сутки. Затем, под контролем функциональной нагрузки, при отсутствии жалоб и клинических симптомов осложнений, через 2-3 суток снимали назубные бимаксиллярные шины. После проведения металлоостеосинтеза в течение 1-2 суток, в зависимости от общего состояния и самочувствия пациента проводились рентгенологические исследования, для оценки результатов оперативного лечения.

В послеоперационном периоде проводили ежедневный осмотр, перевязки, оценивали течение заживления послеоперационной раны, динамику болевого синдрома и послеоперационного отека мягких тканей, состояние прикуса. В течение первых 2-3 суток все 30 (100%) пациентов предъявляли жалобы на умеренные боли в области оперативного вмешательства, отмечали наличие послеоперационного отека мягких тканей лица. В течение последующих 5 суток 17 (56,7%) пациентов отмечали уменьшение интенсивности боли, оценивали их как незначительные, послеоперационный отек мягких тканей регрессировал. Боли незначительной интенсивности сохранялись у 3 (10%) больных до 7 суток, что мы связали с большим объемом оперативного вмешательства. Осложнений воспалительного характера и замедленной консолидации в этой группе наблюдений не было. Пациенты наблюдались после окончания стационарного этапа лечения в течение 1 месяца, через 6 и 12 месяцев (Таблица 4).

Таблица 4 – Распределение пациентов 2 группы в зависимости от жалоб в до- и послеоперационном периоде, через 6 и 12 месяцев после проведения металлоостеосинтеза нижней челюсти

Жалоба	До операции, чел.	Через 6 месяцев, чел.		Через 12 месяцев, чел.	
		Жалобы есть	Жалоб нет	Жалобы есть	Жалоб нет
Ограниченное открывание рта	30 (100%)	2 (6,6%)	28 (93,4%)	0	30 (100%)
Посттравматический отек мягких тканей	30 (100%)	0	30 (100%)	0	30 (100%)
Изменение конфигурации лица	30 (100%)	3 (10%)	27 (90%)	0	30 (100%)
Нарушение окклюзии	30 (100%)	0	30 (100%)	0	30 (100%)
Боль при открывании рта	30 (100%)	0	30 (100%)	0	30 (100%)

В позднем послеоперационном периоде у 2 (6,6%) пациентов отмечалось ограничение открывания рта, 3 (10%) пациента отмечали нарушение конфигурации лица. В течение последующих 6 месяцев эти симптомы прошли самостоятельно. Сроки иммобилизации нижней челюсти во 2 группе исследования составили в среднем $10,7 \pm 4,5$ суток. Применение при металлоостеосинтезе титановых пластин с наноструктурированным покрытием из диоксида титана позволило сократить сроки иммобилизации в среднем на 7 суток, и как следствие уменьшить продолжительность послеоперационной реабилитации. При комплексном лечении пациентов с переломами нижней челюсти с использованием при проведении металлоостеосинтеза на костных титановых пластин с наноструктурированным покрытием анатаз достигнуты удовлетворительные результаты.

При статистическом анализе данных, представленных в Таблице 3 и Таблице 4 получены результаты: через 6 месяцев значение критерия Хи-квадрат с поправкой Йейтса составило 7,029. Критическое значение Хи-квадрат при уровне значимости $p < 0,05$ составило 3,841. Связь между факторным и результативными признаками статистически значима. Через 1 год значение точного критерия Фишера составило $0,28432 > 0,05$, что свидетельствует об отсутствии статистически значимых различий.

ВЫВОДЫ

1. При морфологическом исследовании титановых конструкций с различными модифицированными поверхностями установлено, что наибольшую управляемость физическими и биологическими свойствами диоксида титана можно достичь при нанесении покрытия методом атомно-слоевого осаждения (АСО). Поверхность имплантата покрывается равномерным слоем толщиной 10-60 нм, повторяющим всю геометрию изделия. Данное покрытие препятствует диффузии металлов в организм и формирует на поверхности титановых конструкций биоактивный слой, положительно влияющий на процессы регенерации.

2. При изучении биологических свойств титановых конструкции с различными модифицированными поверхностями *in vitro* установлено, что рост клеточной культуры, адгезия и тенденция к активным пролиферативным процессам более выражены на титановых конструкциях с покрытием из диоксида титана структуры анатаз.

3. Полученные в лабораторных экспериментах данные (отсутствие цитотоксичности, наличие фибро- и остеointегративных свойств) обосновывают клиническое использование на костных титановых конструкций с наноструктурированным покрытием из диоксида титана структуры анатаз для остеосинтеза.

4. Экспериментально-лабораторными исследованиями доказана возможность применения пластин из титана с наноструктурированным покрытием из диоксида титана структуры анатаз при лечении пациентов с переломами нижней челюсти.

5. При применении в клинической практике на костных титановых конструкций с наноструктурированным покрытием из диоксида титана структуры анатаз при проведении остеосинтеза у пациентов с переломами нижней челюсти в позднем послеоперационном периоде у 2 (6,6%) пациентов отмечалось ограничение открывания рта, 3 (10%) пациента отмечали нарушение конфигурации лица. Сроки иммобилизации нижней челюсти составили $10,7 \pm 4,5$ суток. Применение при металлоостеосинтезе титановых пластин с наноструктурированным покрытием из диоксида титана позволило сократить сроки иммобилизации в среднем на 7 суток, и как следствие уменьшить продолжительность послеоперационной реабилитации. При комплексном лечении пациентов с переломами нижней челюсти с использованием при проведении металлоостеосинтеза на костных титановых пластин с наноструктурированным покрытием анатаз достигнуты удовлетворительные результаты.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Титановые на костные конструкции с наноструктурированным покрытием из диоксида титана структуры анатаз могут быть использованы при лечении пациентов с переломами нижней челюсти различной локализации.

2. Применение титановых пластин с наноструктурированным покрытием из диоксида титана структуры анатаз позволяет воздействовать на репаративный процесс в зоне перелома и формирование интермедиарной костной мозоли, что в практическом отношении даёт возможность ранней функциональной нагрузки.

3. На основе данных экспериментального исследования рекомендуется дальнейшая разработка, получение и эффективное внедрение в клиническую практику хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии новых на костных фиксирующих конструкций с более усовершенствованными в технологическом отношении модифицированными покрытиями.

4. В целях изучения показателей биосовместимости на костных фиксаторов с нанотехнологичным покрытием рекомендуется тестирование их в клеточной культуре фибробластов с изучением воздействия на пролиферативную активность клеток.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1.Краснов М.С., Шайхалиев А.И., Коршаков Е.В., Ефименко М.В., Солошенко П.П., **Давыдова Т.Р.**, Звукова Н.Д., Синицкая Е.С. Индукция остеогенеза костной ткани крысы с использованием крио-структурированных пористых 3D-материалов с содержанием биорегулятора // **Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.** – 2019. – Т.168 – №7 – С. 113-117. [Scopus].

2. Шайхалиев А.И., Петрук П.С., Поляков К.А., Аразашвили Л.Д., Усатов Д.А., **Давыдова Т.Р.**, Швейнфорт А.М. Способ замещения дефекта нижней челюсти с применением индивидуального комбинированного эндопротеза // **Стоматология.** – 2019. – Т.98 – №6 – С. 44-50. [Scopus].

3. **Давыдова Т.Р.**, Шайхалиев А.И., Гасбанов Г.А., Корголов Р.С., Усатов Д.А. Влияние поверхности медицинских титановых эндопротезов на эффективность интеграционных процессов. // **Стоматология для всех.** – 2020. – Т.2 – №91 – С. 50-55.

4. Шайхалиев А.И., Петрук П.С., Шпицер И.М., Мигачев А.С., Аразашвили Л.Д., **Давыдова Т.Р.**, Гасбанов Г.А., Корголов Р.С. Эндопротез нижней челюсти с опорными зонами как искусственный орган. Клинический случай // **Вестник трансплантологии и искусственных органов.** – 2020. – Т. XXII – №3 – С. 115-122. [Scopus].

5. Патент на полезную модель №146000, Российская Федерация, А61В 17/58; А61С 8/00. Устройство для устранения дефектов и деформаций кости нижней челюсти на основе использования модели лицевой части черепа с включенными в нее дентальными имплантантами для устранения функционального и косметического дефектов / Шайхалиев А.И., Асиятилов А.Х., Шахбанов А.К., **Давыдова Т.Р.**, Цветаев И.А., Аразашвили Л.Д., Ибрагимов Р.В., Исаев Ш.Р., Тазин Д.Н., Родионов А.Д., Егоренкова Ю.И.; патентообладатели Шайхалиев Астемир Икрамович, Общество с ограниченной ответственностью «КОНМЕТ» – 2014108487/14, заявл. 05.03.2014, **опубл. 27.09.2014, Бюллетень №27.**

6. Патент на полезную модель №178749, Российская Федерация, А61F2/2803. Комбинированный эндопротез нижней челюсти, состоящий из ригидного компонента и вспомогательного устройства (спейсера) из титанового металл�трикотажа / Шайхалиев А.И., Образцова Т.А., **Давыдова Т.Р.**, Иванов С.Ю., Черкесов И.В., Аразашвили Л.Д., Геворков Г.Л., Петрук П.С., Поляков К.А., Казанцев А.А., Заваруев В.А. – 2017132328, заявл. 15.09.2015, **опубл. 18.04.2018, Бюллетень №11.**